

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

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

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

(підпис) Наталія ГРЕГІРЧАК
(прізвище та ініціали)

« ____ » _____ 202__ р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

(підпис) Віктор СТАБНИКОВ
(прізвище та ініціали)

« ____ » _____ 202__ р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

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

освітньо-професійної програми «Промислова біотехнологія»

на тему: «Біогенні наночастинки благородних металів для знешкодження харчових патогенів»

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 01

Росик Оксана Олександрівна
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) _____ (підпис)

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

Консультанти _____
(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

_____ (підпис)
(прізвище та ініціали)

_____ (підпис)
(прізвище та ініціали)

Рецензент _____
(прізвище та ініціали) _____ (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) недозволеної 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 біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

“ ” 202 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Росик Оксани Олександрівни
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біогенні наночастинки благородних металів для знешкодження харчових патогенів

керівник роботи Скροцька Оксана Ігорівна, к. б. н., доц.
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від 06 жовтня 2023 року № 914-кс

2. Строк подання здобувачем роботи _____

3. Вихідні дані до роботи джерела наукової літератури, наночастки благородних металів, харчові патогени

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Розділ 1. Біосинтез наночастинок благородних металів; Розділ 2. Ефективність використання наночастинок благородних металів проти харчових патогенів та методи їх детекції з використанням наночастинок; Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва продукту мікробного синтезу; Розділ 4. Обґрунтування етапів виділення та очистки цільового мікробного синтезу; Розділ 5. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях; Розділ 6. Специфікація обладнання; Розділ 7. Опис технологічної схеми; Розділ 8. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу; Список використаної літератури

5. Перелік графічного матеріалу

Апаратурна схема – 1 креслення формату А1; технологічна схема – 1 креслення формату А3

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 30 жовтня 2023

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	Розділ 1. Біосинтез наночастинок благородних металів	30.10.2023-12.11.2023	
2.	Розділ 2. Ефективність використання наночастинок благородних металів проти харчових патогенів та методи їх детекції з використанням наночастинок	13.11.2023-26.11.2023	
3.	Розділ 3. Техніко-економічне обґрунтування виробництва продукту мікробного синтезу	27.11.2023-03.12.2023	
4.	Розділ 4. Обґрунтування етапів виділення та очистки цільового мікробного синтезу	04.12.2023-10.12.2023	
5.	Розділ 5. Підбір технологічного обладнання з врахуванням матеріальних потоків по стадіях	11.12.2023-17.12.2023	
6.	Розділ 6. Специфікація обладнання	18.12.2023-24.12.2023	
7.	Розділ 7. Опис технологічної схеми	25.12.2023-03.01.2024	
8.	Розділ 8. Контроль виробництва продукту мікробного синтезу	04.01.2024-09.01.2024	
9.	Оформлення технологічної схеми	10.01.2024-15.01.2024	
10.	Оформлення апаратурної схеми	16.01.2024-18.01.2024	

Здобувач _____
(підпис)

Керівник роботи _____
(підпис)

Оксана РОСИК _____
(ім'я та прізвище)

Оксана СКРОЦЬКА _____
(ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна магістерська робота присвячена аналізу наукової літератури щодо особливостей біосинтезу наночастинок благородних металів, ефективності використання наночастинок благородних металів проти харчових патогенів та методи їх детекції з використанням наночастинок, а також розробленню технологічної та апаратурної схем виробництва наночастинок золота культивуванням штамму *Bacillus subtilis*, що синтезує 2-100 нм наночастинок золота за 48 год на середовищі з пептоном у якості джерела вуглецю.

Розрахована потужність виробництва наночастинок золота – 10,2 г/рік. Наночастинки золота використовується для виробництва антимікробного препарату для післязбиральної обробки винограду.

Технологічний процес біосинтезу наночастинок золота включає допоміжні роботи (приготування та стерилізацію допоміжних розчинів; приготування та стерилізацію поживних середовищ) та технологічний процес (виращування посівного матеріалу в колбах на качалці, виробничий біосинтез у ферментері об'ємом 10 л та відділення біомаси центрифугуванням).

Особливості процесу культивування: температура 34⁰С, тривалість – 24 год для накопичення біомаси та кімнатна температура, тривалість – 24 год для синтезу наночастинок золота.

Робота викладена на 95 сторінках друкованого тексту, містить 17 таблиць, 5 рисунків і складається зі вступу, розділів, списку використаної літератури (120 джерел) та графічної частини (1 креслення формату А1, 1 креслення формату А3).

Ключові слова: *Bacillus subtilis*, наночастинки золота, пептон, біосинтез, антимікробний препарат.

ABSTRACT

The qualifying master's thesis is devoted to the analysis of scientific literature on the peculiarities of the biosynthesis of noble metal nanoparticles, the effectiveness of the use of noble metal nanoparticles against foodborne pathogens and methods of their detection using nanoparticles, as well as the development of technological and hardware schemes for the production of gold nanoparticles by culturing a strain of *Bacillus subtilis* that synthesizes 2-100 nm gold nanoparticles in 48 hours in a medium with peptone as a carbon source.

The calculated production capacity of gold nanoparticles is 10.2 g/year. The gold nanoparticles are used to produce an antimicrobial preparation for post-harvest treatment of grapes.

The technological process for the biosynthesis of gold nanoparticles includes auxiliary work (preparation and sterilization of auxiliary solutions; preparation and sterilization of culture media) and the technological process (cultivation of inoculum in rocking flasks, production biosynthesis in a 10-liter fermenter, and separation of biomass by centrifugation).

Features of the cultivation process: temperature 34⁰С, duration - 24 hours for the accumulation of biomass and room temperature, duration - 24 hours for the synthesis of gold nanoparticles.

The work is set out on 95 pages of printed text, contains 17 tables, 5 figures and consists of an introduction, chapters, a list of references (120 sources) and a graphic part (1 drawing of A1 format, 1 drawing of A3 format).

Key words: *Bacillus subtilis*, gold nanoparticles, peptone, biosynthesis, antimicrobial agent.

ЗМІСТ:

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ	9
1.1 Використання бактерій та їх метаболітів.....	9
1.2 Можливості застосування грибів.....	17
1.3 Роль дріжджів у біосинтезі наночастинок.....	19
1.4 Водорості, як об'єкти для біосинтезу.....	23
1.5 Рослинні екстракти у якості компонентів для біогенного синтезу.....	26
РОЗДІЛ 2. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ ПРОТИ ХАРЧОВИХ ПАТОГЕНІВ ТА МЕТОДИ ЇХ ДЕТЕКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯМ НАНОЧАСТИНОК.....	32
РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ.....	45
3.1. Потреба у цільовому продукті.....	45
3.2. Обґрунтування вибору біологічного агенту.....	51
3.3. Розрахунок річної потужності виробництва.....	56
3.3.1. Розрахунок річної потужності виробництва субстанції, об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.....	58
3.3.2. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу.....	59
3.4. Обґрунтування вибору товарної форми випуску цільового продукту мікробного синтезу.....	60
РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ ЦІЛЬОВОГО МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ.....	63
4.1. Обґрунтування способу відокремлення наночастинок золота.....	63
РОЗДІЛ 5. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ.....	68
5.1. Обґрунтування вибору способу культивування і типу ферментера.....	68
5.2. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища.....	70

5.2.1 Приготування та стерилізація поживного середовища.....	70
5.2.2 Приготування розчину тетрахлороаурату (III) водню.....	71
РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ.....	72
РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ.....	73
РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ.....	78
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	81

ВСТУП

Нині в усьому світі спостерігається інтенсивне поширення нанотехнологій, тобто технологій, спрямованих на отримання та ефективне практичне використання нанооб'єктів і наносистем із заданими властивостями, які знаходять застосування у мікроелектроніці та енергетиці, в хімічній та харчовій і парфумерно-косметологічній промисловості, у сільському господарстві, біології, фармакології, медицині тощо. Інновації в галузі пакування продуктів харчування — це найбільш обіцяючий прорив нанотехнологій в повсякденне життя в найближчому майбутньому (Проданчук, Слободкін, & Левицька, 2010).

Аналіз публікацій показує, що в даний час проводяться інтенсивні дослідження в галузі харчових виробництв за такими основними напрямками:

- розробка технологій виробництва наночасток, нанониток і нанокapsул;
- розробка нанокомпозицій для харчових продуктів заданого складу з необхідними органолептичними показниками;
- розробка нових пакувальних матеріалів з використанням нанотехнологій, що забезпечують тривале зберігання і безпеку готового продукту (Проданчук, Слободкін, & Левицька, 2010).

Одним з пріоритетних напрямків харчових технологій ХХІ століття є збереження якості та забезпечення біологічної безпеки продуктів харчування на всіх стадіях виробництва і зберігання (Іванов, Пасічний, & Олішевський, 2014).

Псування продуктів харчування неминуче — це лише питання часу, яке підсилюється зовнішніми факторами. Основна причина — розвиток патогенної мікрофлори, яка може потрапити у харчовий продукт на будь-якій стадії технологічного процесу — у ході виробництва, на стадіях упаковки, зберігання або реалізації (Іванов, Пасічний, & Олішевський, 2014). При попаданні у продукт патогенних культур їх ріст і розвиток залежать від багатьох чинників: виду і кількості; самого продукту і сировини, з якої він вироблений; наявності сприятливого середовища (води, температури, рівня рН, присутності кисню і т.д.) і ін.

Розвиток мікроорганізмів можна запобігти або сповільнити шляхом контролю умов виробництва і зберігання, застосування антибіотиків, консервантів, бактеріоцинів рослинного походження, а також використання захисних властивостей самої упаковки.

Однак варто зазначити, що і в сучасних умовах сама упаковка стає фактором мікробіологічного псування. На поверхні виробу або всередині упаковки можуть розвиватися аеробні та анаеробні мікроорганізми, плісняві гриби – це найбільш серйозна проблема сучасних пакувальних матеріалів. Рішення даної проблеми – розробка і створення активного нанопокриття, що володіє комплексом антимікробних властивостей (Іванов, Пасічний, & Олішевський, 2014).

Завдяки своїм винятковим властивостям, включаючи антибактеріальну активність, високу стійкість до окислення та високу теплопровідність, наночастинки привернули значну увагу в останні роки (Saba Hasan, 2015).

Як альтернативу у боротьбі з харчовими патогенами пропонується використовувати активне нанопокриття з біогенними наночастками дорогоцінних металів – золота і срібла; металів платинової групи – платини, паладію, родію, іридію, рутенію, осмію.

Таким чином, ефективнішим є використання наночастинок у харчовій промисловості. Введення наночастинок у пакувальні матеріали підвищує їх стійкість до дії світла й тепла, посилює механічні й теплові характеристики, зменшує газопоглинання, що дає змогу створювати легкі, міцні і термічно стійкі пакувальні матеріали з антимікробними властивостями (Габ, Калакура, Кущевська, & Малишев, 2018).

Новизною роботи є аналіз розрізнених літературних даних стосовно особливостей культивування мікроорганізмів з подальшим синтезом наночастинок благородних металів і підбір на основі даних опрацьованої науково-технічної літератури найперспективнішого штаму *Bacillus subtilis*, за допомогою якого утворюються наночастинки золота розміром 2-100 нм.

РОЗДІЛ 1. БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ

Металеві наночастинки – новий напрямок розвитку в сфері нанотехнологій. Для їх синтезу використовуються такі благородні метали, як золото, срібло та платинова група (Jamkhande, Ghule, Bamer, & Kalaskar, 2019). Ці наночастинки набули широкого спектру використання у харчовій, фармацевтичній, косметичній, медичній промисловостях, діагностиці захворювань (Shah, Fawcett, Sharma, Tripathy, & Poinern, 2015).

У зв'язку зі збільшенням попиту протягом останніх двох десятиліть було розроблено широкий спектр фізичних та хімічних методів для отримання наночастинок різних розмірів, форм і складу. Але запропоновані методики передбачають ряд недоліків: дороговартісність процесу, використання токсичних матеріалів, і, як наслідок, токсичність отриманих наночастинок.

Як альтернативу традиційним методам було розроблено «зелений» біологічний синтез. Він передбачає екологічно чистий, нетоксичний та нешкідливий для навколишнього середовища підхід з використанням одноклітинних та багатоклітинних біологічних об'єктів. За допомогою біологічного синтезу можна одержати наночастинки з широким і контрольованим діапазоном розмірів, форм, складів та фізико-хімічних властивостей (Shah, Fawcett, Sharma, Tripathy, & Poinern, 2015).

1.1 Використання бактерій та їх метаболітів

Бактерії як засіб синтезу наночастинок почали досліджувати завдяки їх великій кількості у навколишньому середовищі та здатності рости і розмножуватись в екстремальних умовах (Jamkhande, Ghule, Bamer, & Kalaskar, 2019). Бактерії здатні відновлювати іони металів у металеві наночастки за участю ферментів та інших сполук, які ними продукуються. При використанні прокаріотів можливий як внутрішньо-, так і позаклітинний синтез наночастинок.

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 1. БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Росик О.О.					9	93
Перевір.		Скроцька О.І.						
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.				Кафедра БТМ		9

При цьому внутрішньоклітинний синтез наночасток вимагає додаткових етапів виділення, зокрема руйнування клітин фізичними чи хімічними методами для вивільнення синтезованих наночасток (Харченко, & Скроцька, 2020).

Індійські вчені дослідили одержання наночасток золота з використанням грамнегативної бактерії *Klebsiella pneumoniae* MTCC-4030. Автори спостерігали синтез опосередкований ферментом нітратредуктазою, який приймає участь у біовідновленні іонів металів та синтезу наночастинок. Були сформовані сферичні кристалічні AuNPs з розмірами від 10 до 15 нм. Отримані AuNPs володіли антибактеріальною активністю проти *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* (Prema, Iniya, & Immanuel, 2016). Srivastava зі співавторами показали можливість позаклітинног біосинтезу AuNPs бактеріями *Escherichia coli* K12 протягом 26 год. Під час проведення експерименту спостерігалось виразне рожеве забарвлення через явище поверхневого плазмонного резонансу. Отримані наночастки досягали розміру ≈ 50 нм (Srivastava, Yamada, Ogino, & Kondo, 2013).

У літературі наявна велика кількість повідомлень про синтез бактеріями наночасток срібла. Перші дослідження про бактеріально-опосередкований синтез наночасток срібла датується 1999 роком, коли Klaus і його колеги повідомили про накопичення AgNPs всередині клітин *Pseudomonas stutzeri* AG259 (виділеної зі срібної копальні). Бактерії продемонстрували властивість виживати в надзвичайно багатому сріблом середовищі, що може бути можливим поясненням накопичення наносрібла (Singh, Shedbalkar, Wadhwani, & Chopade, 2015).

Бактерії роду *Bacillus cereus*, що виділені із вічнозеленої трави Юстиції судинної, здатні синтезувати AgNPs шляхом біовідновлення іонів нітрату срібла. Білки функціонують як блокуючі агенти, оскільки карбонільна група із залишків амінокислот демонструє сильнішу здатність зв'язуватися з металами. Синтезовані AgNPs виявилися сферичними та рівномірно розподіленими із розміром у діапазоні 11-16 нм і володіли антибактеріальною активністю проти кількох патогенних бактерій, таких як *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus* (Sunkar, & Nachiyar, 2012). А виділений із гальванічних виробництв *Bacillus cereus* PGN1

здатний до синтезу кристалічних наночасток срібла сферичної форми та розміром від 4 до 5 нм (Ganesh Babu, & Gunasekaran, 2009).

Gowramm із колегами з нативного ґрунту виділили грампозитивні бактерії *Corynebacterium glutamicum* і показали їхню здатність до синтезу наночасток срібла. Вихід наночастинок срібла з нативного штаму *C. glutamicum* був визнаний добрим, а концентрація AgNPs в надосадовій рідині оцінювалася як 280 мг/г висушеної біомаси. Синтезовані частки ≈ 15 нм показали найвищу антимікробну активність проти *K. pneumonia* (Gowgamma, Keerthi, Rafi, & Muralidhara Rao, 2014). Показано можливість позаклітинного механізму біосинтезу високодисперсних наночасток срібла упродовж 24 години без доступу світла бактеріями *Ureibacillus thermosphaericus*, які були виділені із гарячих джерел (47°C). Утворювалися чисті сферичні AgNPs в діапазоні 10–100 нм, а максимальний синтез було досягнуто за допомогою 0,01 М AgNO₃ при 80°C (Juibari, Abbasalizadeh, Jouzani, & Noruzi, 2011).

Також було досліджено здатність до синтезу наночасток срібла бактеріями групи кишкової палички. Так грамнегативна бактерія *Escherichia coli* DH5 здатна до позаклітинного біосинтезу (контролювали шляхом візуального огляду пробірок на предмет зміни кольору культурального середовища з прозорого до світло-жовтого і коричневого) AgNPs із середнім розміром 50 нм (Gurunathan та ін., 2009). Korbekandi зі співавторами довели можливість синтезу наночасток срібла молочнокислими бактеріями - *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. Автори виявили двоетапний процес формування AgNPs. На першому етапі іони срібла накопичуються у клітинній стінці шляхом біосорбції, а потім відбувається їх подальше відновлення з утворенням металевих наночасток (Korbekandi, Iravani, & Abbasi, 2012).

Можливість позаклітинного синтезу, тривалістю 24 години, з використанням патогенних грампозитивних бактерій *Staphylococcus aureus* довели Nanda із колегами. Вони спостерігали синтез агломерованих наноструктур AgNPs розміром від 160 до 180 нм з антимікробною активністю проти MRSA, MRSE та *S. pyogenes* (Nanda, & Saravanan, 2009).

Srinath з колегами дослідили можливість синтезу наночасток золота AuNPs за допомогою грампозитивних бактерій *Brevibacillus formosus*. Синтезовані наночастки мають сферичну форму із середнім розміром частинок 5-12 нм. Наночастки золота показали хорошу антибактеріальну активність проти *Staphylococcus aureus* і менш активні проти *E. coli* (Srinath, Namratha, & Вугарра, 2017). Вивчено позаклітинний синтез синтез наночасток золота за допомогою екстермофільних бактерій *Deinococcus radiodurans*. Ожержані AuNPs виявили значну антибактеріальну активність як проти грамнегативних (*Escherichia coli*), так і грампозитивних (*Staphylococcus aureus*) бактерій, пошкоджуючи їх цитоплазматичну мембрану (Li, та ін., 2016). Група вчених дослідила можливість бактеріального синтезу наночасток золота за допомогою виділених із ґрунту грампозитивних *Bacillus subtilis*. Утворення наночастинок було підтверджено появою фіолетового кольору розчину з блідо-жовтого. В ході експерименту було встановлено, що *Bacillus subtilis* виділяє кофактор НАДН⁺ і НАДН⁺-залежні ферменти, які можуть відповідати за біовідновлення іонів Au³⁺ до іонів Au⁰, що сприяє подальшому утворенню наночастинок золота (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

Також досліджено внутрішньоклітинний синтез наночасток платини бактеріями. Так, Gaidhani зі співавторами дослідили синтез PtNPs *Acinetobacter calcoaceticus* PUCM 101, який був виділений із ризосфери *Pennisetum glaucum* (Gaidhani, Yeshvekar, Shedbalkar, Bellare, & Chopade, 2014). Baskaran з колегами дослідили синтез наночасток платини розміром 20 – 50 нм клітинами грампозитивних бактерій *Streptomyces sp.*, які було виділено із морського сегменту. Гіпотетичний механізм позаклітинного синтезу полягає в тому, що фермент хлоридредуктаза бере участь у циклі азоту та відповідає за відновлення хлориду до хлору (процес електронно-човникового ферментативного відновлення металу) (Baskaran та ін., 2017).

Було проведено складний позаклітинний синтез наночасток платинової групи (платина, паладій, родій, рутеній) використовуючи клітини бацил *Pseudomonas aeruginosa* SM1. Синтез тривав 24 години на основі клітин бактерії. За своєю природою отримані частинки були аморфні (Ru, Rh) і кристалічними (Pd і Pt). Отримані PtNPs були найбільшого розміру, бо солі платини, як правило, помірно

розчинні/нерозчинні у воді. Таким чином, вони мають сильну тенденцію до накопичення/скупчення разом під час реакції, що призводить до збільшення розміру частинок (Srivastava, & Constanti, 2012).

У табл. 1.1 наведена узагальнена інформація щодо параметрів біосинтезу різних наночасток металів за допомогою бактерій.

Таблиця 1.1.

Застосування бактерій для біосинтезу наночасток

Бактерії	Температура та тривалість біосинтезу	Характеристика наночасток	Біологічні властивості	Джерело
AuNPs				
<i>K. pneumoniae</i> MTCC-4030	37°C, 24 год	Кристалічні, сферичні, добре агреговані, 10-15 нм	Показана антибактеріальна активність AuNPs проти <i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i> . Досліджено синергічний ефект антибіотиків та AuNPs	Prema, Iniya, & Immanuel, 2016
<i>E. coli</i> K12	**	≈ 50 нм*	***	Srivastava, Yamada, Ogino, & Kondo, 2013
<i>Brevibacillus formosus</i>	37°C, 24 год	Монодисперсні, сферичні, 5-12 нм	Показана антибактеріальна активність проти <i>S. aureus</i> , менш активні проти <i>E. coli</i>	Srinath, Namratha, & Byrappa, 2017
<i>Deinococcus radiodurans</i>	32°C, 8 год	Полідисперсні, сферичні, трикутні та неправильної форми, середній розмір 43,75 нм та індекс полідисперсності 0,23	Виявлена антибактеріальна активність як проти грамнегативних (<i>Escherichia coli</i>), так і грампозитивних (<i>Staphylococcus aureus</i>) бактерій	Li, та ін., 2016
<i>Bacillus subtilis</i>	Кімнатна температура, 24 год	≈ 2-100 нм*	Виявлена антибактеріальна активність проти харчових патогенів	Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013
AgNPs				
<i>B. cereus</i> PGN1	37 °C, 120 год	Кристалічна структура та сферична форма, від 4 до 5 нм	***	Ganesh Babu, & Gunasekaran, 2009
<i>B. cereus</i>	72-120 год	Сферичні, рівномірно розподілені, від 1 до 16 нм	Виявлена антибактеріальна активність проти кількох патогенних бактерій, таких як <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Staphylococcus aureus</i> .	Sunkar, & Nachiyar, 2012

Продовження таблиці 1.1.

<i>C. glutamicum</i>	**	Сферичні ≈15 нм	Антимікробну активність синтезованих наночастинок срібла вивчали проти <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Bacillus flexus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> . з середніх значень найвищу спостерігали проти <i>K. pneumonia</i>	Gowramma, Keerthi, Rafi, & Muralidhara Rao, 2014
<i>E. coli</i> DH5	**	≈ 50 нм*	***	Gurunathan та ін., 2009
<i>U. thermosphaericus</i>	24 год, 60°C	Сферичні 10–100 нм	***	Juibari, Abbasalizadeh, Jouzani, & Noruzi, 2011
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	**	Сферичні, поодинокі (25–50 нм) або в агрегатах (≈100 нм), прикріплені до поверхні біомассора	***	Korbekandi, Iravani, & Abbasi, 2012
<i>S. aureus</i>	5 хв	Агломеовані наноструктури 160-180 нм	Антибіотичну активність AgNPs досліджували проти різних патогенних організмів, таких як MRSA, MRSE, <i>S. pyogenes</i> , <i>S. typhi</i> , <i>K. pneumoniae</i> та <i>V. cholerae</i> за допомогою дифузійного методу. Найвищу антимікробну активність спостерігали проти MRSA, потім MRSE та <i>S. pyogenes</i> . Меншу активність виявлено щодо <i>S. typhi</i> та <i>K. pneumoniae</i> , але у <i>V. cholerae</i> зони пригнічення не зафіксовано.	Nanda, & Saravanan, 2009
PtNPs				
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> PUCM 101	30°C, 72 год	Кубоподібні 2-3,5 нм	***	Gaidhani, Yeshvekar, Shedbalkar, Bellare, & Chopade, 2014

Завершення таблиці 1.1.

<i>Streptomyces sp.</i>	30°C , 24 год	гранецентрована кубічна система з кристалами сферичної форми без монодисперсності 20-50 нм	***	Baskaran та ін., 2017
PtNPs, PdNPs, RhNPs, RuNPs				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SM1	24 год	<u>PdNPs</u> Щільні багатокутники кристалічні 22,1 ± 6,2 нм <u>RuNPs</u> маленькі щільні частинки аморфні 2,1 ± 0,9 нм. <u>RhNPs</u> наносфери (і іноді диски) добре дисперговані з ідеальною круглістю (сфери) для будь-якого розміру частинок відсутність агрегації аморфні 8,3 ± 5,4 нм <u>PtNPs</u> одиночні круглі диски кристалічні 450 нм	***	Srivastava, & Constanti, 2012

Примітка: * - дані щодо форми не вказані.

** - дані щодо температури та тривалості біосинтезу не вказані.

*** - дані щодо дослідження біологічної активності наночасток не вказані.

1.2 Можливості застосування грибів

На сьогодні досліджуються механізми синтезу наночасток з використанням різних видів грибів. Загальні ж принципи зводяться до того, що солі металів у розчині дисоціюють на відповідні іони, які навіть при відносно низьких концентраціях є токсичними для грибкових клітин. Тому клітини виділяють NADH-залежний фермент, який окислюється до NAD^+ і нейтралізує іони шляхом відновлення. Потім відбувається формування наночасток і їх стабілізація.

Міцеліальні гриби здатні до внутрішньо- та позаклітинного синтезу широкого спектра металевих наночасток (Харченко, & Скроцька, 2020). Так, Binupriya з колегами здійснили позаклітинний синтез наночасток срібла з використанням живих та мертвих клітин *Aspergillus oryzae* var. *viridis* (KCCM 11372). При цьому час експозиції становив 10 хвилин, а синтезовані частки були однокової форми, добре відокремлені один від одного від 5 до 50 нм і володіли бактерицидною активністю проти *S. aureus* KCCM 12256 (Binupriya, Sathishkumar, & Yun, 2010). Крім того, підтверджено здатність виділеного із багатих на метали ґрунтів *Aspergillus flavus* NJP08 до позаклітинної продукції диспергованих, не агрегованих AgNPs з розміром від 10 до 35 нм (Jain, Bhargava, Majumdar, Tarafdar, & Panwar, 2011). Виявлено, що гриби *Pleurotus sajor caju* можуть здійснювати позаклітинний синтез наночасток срібла. Процес проводили без доступу освітлення. Отримані AgNPs показали антимікробну активність проти грампозитивних і грамнегативних бактерій (Nithya, & Ragunathan, 2009). Birla з колегами здійснювали позаклітинний синтез AgNPs з використанням міцелію *Fusarium oxysporum*, який був виділений з гнилих плодів банану. Синтезовані наночастки були сферичної форми (Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013).

Перші дослідження про позаклітинний синтез наночастинок золота еукаріотичною системою, такою як гриби, датується 2002 роком. Для синтезу використовували *Fusarium oxysporum*. Біомасу занурювали у воду на 72 години. Після занурення розчин фільтрували та піддавали впливу 10^{-3} М розчину AuCl_4^- у темряві. *Fusarium oxysporum* виділяє в розчин відновники, які відповідають за утворення наночастинок золота. Синтезовані наночастки були монодисперсні з розміром 8 ± 40 нм (Mukherjee та ін., 2002). Показано здатність *Penicillium rugulosum* (KCCM 11686) до синтезу наночасток золота. Авторами виділено 2 варіації синтезу: використовуючи живу та мертву біомасу. Отримані результати були такі: при синтезі на фільтраті живих клітин AuNPs мали сферичну, трикутну, часткового гексагональну форму 30-70 нм, а синтезовані на супернатантному бульйоні AuNPs мали феричну форму 20-40 нм (Mishra, Tripathy, & Yun, 2012).

Індійським вченим Vala був досліджений синтез AuNPs як внутрішньо- так і позаклітинно. Все залежало від концентрації іонів золота в культуральній рідині. В якості продуцента використовували *Aspergillus sydowii*, який був виділений із вод західного узбережжя Індії. Виявлено, що при нижчих концентраціях іонів золота отримували частинки більшого розміру, тоді як більш високі концентрації підтримували синтез менших частинок (Vala, 2014).

Нещодавно вийшла публікація про синтез *Aspergillus terreus* AREF023 наночастинок золота розміром 10 ± 1 нм. Антибактеріальну активність синтезованих AuNPs оцінювали за допомогою методу дифузії з одним диском. Максимальна зона інгібування спостерігалася для *S. aureus* і *V. cholera* при 400 мкг/мл. Антифунгальну активність виявляли за допомогою впливу різних концентрацій AuNPs на ріст міцелію двох фітопатогенних штамів грибів *Fusarium oxysporum* і *Rhizoctonia solani*. Максимальне інгібування 52,5% і 65,46% спостерігалось проти *Rhizoctonia solani* і *Fusarium oxysporum* при концентрації 200 мкг/мл відповідно (Mishra, Kalra, Dilawari, Goel, & Barrow, 2022).

Castro-Longoria з колегами виявили здатність аскоміцетних грибів *Neurospora crassa* до синтезу наночастинок платини. При внутрішньоклітинному синтезі спостерігали формування окремих PtNPs з розмірами 4—35 нм і сферичних наноагрегатів діаметром 20—110 нм; при позаклітинному результати аналогічні, але розміри наночастинок були у діапазоні 17-76 нм (Castro-Longoria, Moreno-Velásquez, Vilchis-Nestor, Arenas-Berumen, & Avalos-Borja, 2012). Позаклітинний синтез наночастинок платини виявили також і у *Fusarium oxysporum*. Розмір синтезованих PtNPs коливався від 5 до 30 нм (середній розмір 15 нм), сферичної форми. Без флокуляції частинок (Syed, & Ahmad, 2012).

Нижче наведена узагальнена інформація про біосинтез наночастинок з використанням грибів (табл. 1.2).

Таблиця 1.2.

Біосинтез наночасток міцеліальними грибами

Гриби	Температура та тривалість біосинтезу	Характеристика наночасток	Біологічні властивості	Джерело
AgNPs				
<i>A.oryzae</i> var. <i>viridis</i> (KCCM 11372)	25°C	Однакові за формою, добре відокремлені одна від одної від 5 до 50 нм	Бактерицидну активність перевіряли за допомогою досліджень пригнічення росту грампозитивних бактерій <i>S. aureus</i> KCCM 12256. Встановлено, що мінімальна інгібуюча концентрація (МІК), яка визначається як найнижча концентрація речовини, яка пригнічує ріст організму, становить 40 мг/л.	Binupriya, Sathishkumar, & Yun, 2010
<i>A. flavus</i> NJP08	28°C	Добре дисперговані, не агреговані від 10 до 35 нм	***	Jain, Bhargava, Majumdar, Tarafdar, & Panwar, 2011
<i>P. sajor caju</i>	25°C, 72 год	Монодисперсні, сферичної форми, без агрегації від 5 до 50 нм	Отримані AgNPs показали антимікробну активність проти грампозитивних і грамнегативних бактерій	Nithya, & Ragunathan, 2009
<i>F. oxysporum</i>	**	Сферичні*	***	Birla, Gaikwad, Gade, & Rai, 2013
AuNPs				
<i>P. rugulosum</i> (KCCM 11686)	30°C	Фільтр живих клітин: сферична, трикутна, частково гексагональна форма 30-70 нм Фільтр мертвих клітин: сферична форма 20-40 нм	***	Mishra, Tripathy, & Yun, 2012
<i>A. sydowii</i>	27°C, 72 год	При нижчих концентраціях іонів золота - частинки більшого розміру, тоді як більш високі концентрації підтримували синтез менших частинок	***	Vala, 2014

Завершення таблиці 1.2.

<i>A.terreus</i> AREF023	40°C, 24 год	Кристалічна природа, Сферична форма 10±1 нм	Антибактеріальну активність оцінювали за допомогою методу дифузії з одним диском. Максимальна зона інгібування спостерігалася для <i>S. aureus</i> і <i>V. cholera</i> при 400 мкг/мл. Антифунгальну активність виявляли за допомогою впливу різних концентрацій AuNPs на ріст міцелію двох фітопатогенних штамів грибів <i>Fusarium oxysporum</i> і <i>Rhizoctoniasolani</i> . Максимальне інгібування 52,5% і 65,46% спостерігалася проти <i>Rhizoctonia solani</i> і <i>Fusariumoxysporum</i> при концентрації 200 мкг/мл відповідно.	Mishra, Kalra, Dilawari, Goel, & Barrow, 2022
PtNPs				
<i>F.oxysporum</i>	25-27°C, 96 год	Без флокуляції, сферична форма, від 5 до 30 нм	***	Syed, & Ahmad, 2012
<i>N. crassa</i>	28°C, 24 год	Одиничні діаметром 4-35 нм і сферичних наноагрегатів діаметром 20-110 нм утворення агломератів	***	Castro-Longoria, Moreno-Velásquez, Vilchis-Nestor, Arenas-Berumen, & Avalos-Borja, 2012

Примітка: * - дані щодо розміру не вказані.

** - дані щодо температури та тривалості біосинтезу не вказані.

*** - дані щодо дослідження біологічної активності наночастинок не вказані.

1.3 Роль дріжджів у біосинтезі наночастинок

Крім таких мікроорганізмів, як бактерії і гриби, для біосинтезу наночастинок використовують і дріжджі. Вони містять мембранозв'язані оксидоредуктази і хінони, що відіграють ключову роль у синтезі наночастинок металів. При збільшенні рН всередині дріжджової клітини відбувається активація редуктаз, які відновлюють іони металів при одночасному синтезі наночастинок. Хінони дріжджової клітини характеризуються нуклеофільними та окисно-відновними властивостями і також

беруть участь у відновленні іонів металів і перетворенні їх у наночастки (Харченко, & Скроцька, 2020).

Використовуючи дріжджові культури групи вчених на чолі з Mourato (Mourato, Gadanho, Lino, & Tenreiro, 2011) та Mishra (Mishra, Tripathy, & Yun, 2011) проводили синтез наночастинок золота та срібла одночасно.

В першому дослідженні були використані екстермофільні штами дріжджів, які були виділені з дренажу кислотних шахт. Автори показують окремі сферичні частинки Ag^+ , розподілені в/на дріжджах, і утворення позаклітинних наночастинок. Незважаючи на це, не можна нехтувати можливістю внутрішньоклітинного синтезу наночастинок. Добре відокремлені AuNPs зі сферичною морфологією видно поблизу дріжджової клітини та на/в клітині. Синтезовані AgNPs розміром менше 20 нм, агрегати AuNPs неправильної форми, розмір коливався від 30 до 100 нм (Mourato, Gadanho, Lino, & Tenreiro, 2011).

В другому дослідженні були використані *Candida guilliermondii* з чітко вираженим позаклітинним методом синтезу. Синтезовані AuNPs та AgNPs з гранецентрованою кубічною структурою, майже сферичні, добре дисперговані із розміром 50–70 нм та 10–20 нм відповідно. Обидва види наночастинок володіють антимікробною дією проти *Staphylococcus aureus* (Mishra, Tripathy, & Yun, 2011).

Виділені із морського мулу промислової зони Китаю *Magnusiomyces ingens* LH-F1 виявили здатність до синтезу наночастинок золота середній розмір яких становив $80,1 \pm 9,8$ нм (Zhang та ін., 2016).

Було досліджено можливість синтезу наночастинок різних груп металів при використанні психотрофних дріжджів *Yarrowia lipolytica*. Так, індійські вчені встановили, що штам *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 здатний до синтезу AuNPs з розміром 15 нм (Agnihotri, Joshi, Kumar, Zinjarde, & Kulkarni, 2009), а штам *Yarrowia lipolytica* NCYC 789 здатний до позаклітинного синтезу AgNPs, де іони срібла відновлювалися до Ag^0 на поверхні клітин (Apte та ін., 2013).

Позаклітинний синтез наночастинок срібла виділеними із зразка ґрунту дріжджами *Aureobasidium pullulans* виявили Rahi з колегами. Вони встановили, що діапазон синтезованих наночастинок був приблизно від 2,43 нм до 53,5 нм, форма також була

змінною, але в основному була сферичною та полідисперсною, деякі частки були агреговані. Крім того, антибактеріальний ефект AgNPs проти мультирезистентних патогенів *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp.* і *Moraxella* були підтверджені методом дискової дифузії (Rahi, Manhas, Kaur, Malik, & Rahi, 2018).

Групою вчених на чолі з Roy було вивчено позаклітинний синтез наночасток срібла хлібопекарськими дріжджами *Saccharomyces cerevisiae*. AgNPs мають кристалічну та гранецентровану кубічну природу. Частинки мають майже сферичну форму із середнім діаметром 10 нм. Смуги решітки позначають високу кристалічність із міжплощинним інтервалом 0,28 нм, що можна віднести до площин (122) FCC-фази біосинтезованих AgNPs (Roy, Sarkar, & Ghosh, 2014).

Виділені з ґрунту *Rhodotorula glutinis* і *Rhodotorula mucilaginosa* проявили здатність до позаклітинного синтезу наночасток срібла. Колоїдна стабільність наночастинок Ag^+ , отриманих роботі вчених, зумовлена біологічними молекулами, адсорбованими на поверхні наночастинок. AgNPs, що продукуються *R. glutinis* і *R. mucilaginosa* мають монодисперсну структуру з розмірами $15,45 \pm 7,94$ нм і $13,70 \pm 8,21$ нм (середнє $\pm$ стандартне відхилення). AgNPs показали високу протигрибкову активність проти *Candida parapsilosis* і підвищили активність флуконазолу (42,2% для *R. glutinis* і 29,7% для *R. mucilaginosa*), тоді як цитотоксичність AgNPs спостерігалася лише при високих концентраціях (Cunha та ін., 2018). Також, виділений штам із соляних маршів біля Середземного моря, *Rhodotorula sp.* ATL72 проявляє активність до синтезу AgNPs з сильною антимікробною активністю, викликаючи повне пригнічення росту широкого спектру грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також грибів з низьким значенням МІК (Soliman, Elsayed, & Dyaa, 2018).

Для внутрішньоклітинного синтезу наночасток платини були використані *Saccharomyces boulardii*. PtNPs мали розміри 80-150 нм та були сферичної форми (Vivek, Borse, Abhishek, Kaler, Uttam Chand, & Banerjee, 2014).

Узагальнена інформація щодо параметрів біосинтезу наночасток вказаними вище дріжджами наведена у табл. 1.3.

Таблиця 1.3.

Використання дріжджів для біосинтезу наночастинок

Дріжджі	Температура та тривалість біосинтезу	Характеристика наночастинок	Біологічні властивості	Джерело
AuNPs та AgNPs				
Екстермофільний штам дріжджів*	22°C, 24 год	AgNPs розміром менше 20 нм, агрегати неправильної форми AuNPs розміром від 30 до 100 нм	*****	Mourato, Gadanho, Lino, & Tenreiro, 2011
<i>C.guilliermondii</i>	30°C	Гранецентрована кубічна структура майже сферичні, добре дисперговані AuNPs та AgNPs розмір 50–70 нм та 10–20 нм відповідно	Перевіряли на антимікробну дію проти п'яти патогенних штамів бактерій. Найвищу ефективність як для наночастинок золота, так і для срібла спостерігали проти <i>Staphylococcus aureus</i>	Mishra, Tripathy, & Yun, 2011
AuNPs				
<i>M.ingens</i> LH-F1	30°C, 24 год	Суміш сфер, пластин (трикутник, шестикутник, п'ятикутник) та наночастинок неправильної форми, 10–80 нм	*****	Zhang та ін., 2016
<i>Y. lipolytica</i> NCIM 3589	30°C, 72 год	15 нм**	*****	Agnihotri, Joshi, Kumar, Zinjarde, & Kulkarni, 2009
AgNPs				
<i>Y. lipolytica</i> NCYC 789	20°C, 120 год	***	*****	Apte та ін., 2013
<i>A. pullulans</i>	27°C, 72 год	Сферичні, полідисперсні, деякі агреговані від 2,43 до 53,5 нм	Виявлено антибактеріальний ефект AgNPs проти мультирезистентних патогенів <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas sp. i Moraxella</i>	Rahi, Manhas, Kaur, Malik, & Rahi, 2018
<i>S.cerevisiae</i>	*****	Кристалічні та гранецентрована кубічна природа, сферичні 10 нм	*****	Roy, Sarkar, & Ghosh, 2014

Завершення таблиці 1.3.

<i>Rh.glutinis</i> i <i>Rh. mucilaginosa</i>	25°C, 168 год	Монодисперсні <i>R. glutinis</i> i <i>R. mucilaginosa</i> , мають $15,45 \pm 7,94$ нм i $13,70 \pm 8,21$ нм (середнє $\pm$ стандартне відхилення) відповідно	AgNPs показали високу протигрибкову активність проти <i>Candida parapsilosis</i> i підвищили активність флуконазолу (42,2% для <i>R. glutinis</i> i 29,7% для <i>R. mucilaginosa</i>), тоді як цитотоксичність AgNPs спостерігалася лише при високих концентраціях.	Cunha та ін., 2018
<i>Rh. sp. ATL72</i>	24 год	Сферичні та овальні, від 8,8 до 21,4 нм	Біосинтезовані AgNPs показали сильну антимікробну активність, викликаючи повне пригнічення росту широкого спектру грампозитивних i грамнегативних бактерій, а також грибів з низьким значенням МІК.	Soliman, Elsayed, & Dyaa, 2018
PtNPs				
<i>S. bouldardii</i>	35°C, 36 год	Сферичні, 80-150 нм	*****	Vivek, Borse, Abhishek, Kaler, Uttam Chand, & Banerjee, 2014

Примітка: * - рід i вид дріжджів не вказані.

** - дані щодо форми не вказані.

*** - дані щодо форми i розмірів не вказані.

**** - дані щодо температури та тривалості біосинтезу не вказані.

***** - дані щодо дослідження біологічної активності наночастинок не вказані.

1.4 Водорості, як об'єкти для біосинтезу

Багато дослідників використовують «зелений» процес синтезу для отримання наночастинок металів/окисів металів за допомогою рослинних екстрактів, листя рослин в подальших дослідженнях. Рослини здатні накопичувати певну кількість важких металів у своїх частинах та мають у своєму складі біомолекули (такі як вуглеводи, білки та коферменти) зі зразковим потенціалом для відновлення солі металів у наночастинок (Singh та ін., 2018).

Вчені з Індії вивчили здатність до синтезу наночастинок золота водорості *Stoechospermum marginatum*, зібраної на узбережжі Тутікоріна. Отримані полідисперсовані AuNPs, розміром від 40 до 85 нм є ефективними проти бактеріальних збудників. Максимальна зона затримки росту була виявлена проти *E.*

Faecalis (11 мм), не було виявлено зони затримки росту проти *E.coli* (0 мм) (Arockiya Aarthi Rajathi, Parthiban, Ganesh Kumar, & Anantharaman, 2012).

Досліджено біогенний синтез високодисперсних наночасток золота упродовж 48 годин водоростями *Tetraselmis kochinensis* та охарактеризовано плинність внутрішньоклітинного синтезу - частинки більш концентровані на клітинній стінці, ніж на цитоплазматичній мембрані, можливо, через відновлення іонів металів ферментами, присутнім у клітинній стінці та цитоплазматичній мембрані (Senapati, Syed, Moez, Kumar, & Ahmad, 2012).

Kannan зі співавторами довели можливість синтезу наночасток срібла з використанням *Codium capitatum*. Отримані AgNPs були розміром від 3 до 44 нм (Kannan, Stirk, & Van Staden, 2013). Також було досліджено можливість синтезу наночасток срібла *Ulva lactuca*. Процес біосинтезу тривав 48 годин. AgNPs мали сферичну форму з розміром $\approx 48,59$ нм (Umar, Govindaraju, Senthamilselvi, & Premkumar, 2013).

Зібрані в районі Перської затоки *Sargassum bovinum* здатні до синтезу монодисперсних та октаедричних наночасток паладію у діапазоні розмірів від 5 до 10 нм (Momeni, & Nabipour, 2015). Arsiya зі співавтор. для біосинтезу наночасток паладію було запропоновано використовувати *Chlorella vulgaris*. При цьому тривалість синтезу PdNPs скоротилась до 10 хв. Отримані частки сферичної форми з хорошою монодисперсністю, кристалічної природи, розміром 5-20 нм (Arsiya, Sayadi, & Sobhani, 2017).

Для синтезу наночасток платини було запропоновано використання *Padina gymnospora*. Дана водорість була зібрана у прибережному районі Пудумадам (9.27 пн.ш., 78.99 с.д.), Маннарська затока, Пд-Сх узбережжя Індії. Тривалість експозиції – 10 хв. Синтезовані PtNPs кристалічної природи, мають форму зрізаного октаедра в діапазоні 5-50 нм. Вчені дослідили та довели каталітичну поведінку синтезованих PtNPs як полімерно-металічнананоккомпозиту (PVP/ PtNPs) щодо антибактеріальної активності семи хвороботворних патогенних бактеріальних штамів з максимальною активністю щодо *Escherichia coli* (15,6 мМ), *Lactococcus lactis* (14,8 мМ) та *Klebsiella pneumoniae* (14,4 мМ) (Ramkumar та ін., 2017).

Узагальнена інформація щодо параметрів біосинтезу наночастинок вказаними вище водоростями наведена у табл. 1.4.

Таблиця 1.4.

Використання водоростей для біосинтезу наночастинок

Водорості	Температура та тривалість біосинтезу	Характеристика наночастинок	Біологічні властивості	Джерело
AuNPs				
<i>Stoechospermum marginatum</i>	**	Сферичні, шестикутні та трикутні, полідисперсні від 40 до 85 нм	AuNPs є ефективними проти бактеріальних збудників. Максимальна зона затримки росту була виявлена проти <i>E. faecalis</i> (11 мм), не було виявлено зони затримки росту проти <i>E.coli</i> (0 мм)	Arockiya Aarthi Rajathi, Parthiban, Ganesh Kumar, & Anantharaman, 2012
<i>Tetraselmis kochinensis</i>	28–29°C, 48 год	≈ 15 нм*	***	Senapati, Syed, Moez, Kumar, & Ahmad, 2012
AgNPs				
<i>Codium capitatum</i>	Кімнатна температура	Від 3 до 44 нм*	***	Kannan, Stirk, & Van Staden, 2013
<i>Ulva lactuca</i>	Кімнатна температура 48 год	Сферичні ≈ 48,59 нм	***	Umar, Govindaraju, Senthamilselvi, & Premkumar, 2013
PdNPs				
<i>Chlorella vulgaris</i>	60°C, 10 хв	Сферичні, монодисперсні, кристалічні від 5 до 20 нм	***	Arsiya, Sayadi, & Sobhani, 2017
<i>Sargassum bovinum</i>	60 °C, 24 год	Монодисперсні октаедричні від 5 до 10 нм	***	Momeni, & Nabipour, 2015
PtNPs				
<i>Padina gymnospora</i>	**	Кристалічна природа, форма зрізаного октаедра 5-50 нм	Виявлена каталітична поведінка PtNPs як полімерно-металічна наноконструкції (PVP/ PtNPs) щодо антибактеріальної активності семи хвороботворних патогенних бактеріальних штамів з максимальною активністю щодо <i>Escherichia coli</i> (15,6 мМ), <i>Lactococcus lactis</i> (14,8 мМ) та <i>Klebsiella pneumoniae</i> (14,4 мМ).	Ramkumar та ін., 2017

Примітка: * - дані щодо форми не вказані

** - дані щодо температури та тривалості біосинтезу не вказані.

*** - дані щодо дослідження біологічної активності наночасток не вказані.

1.5 Рослинні екстракти у якості компонентів для біогенного синтезу

Останнім часом широку увагу в усьому світі привертає синтез різних груп наночастинок за участю рослин. Неочищені рослинні екстракти багаті вторинними метаболітами - фенольна кислота, флавоноїди, терпеноїди та алкалоїди, які вибірково відновлюють іони металів і призводять до утворення об'ємних металевих наночастинок. Первинні та вторинні метаболіти рослин послідовно беруть участь в окисно-відновних реакціях метаболічних шляхів рослин та призводять до синтезу екологічно чистих наночасток. Перевагами використання рослинних екстрактів як над синтетиків є відсутність патогенності (як у грибів та бактерій) та можливість одержання однорідних за розміром часток. До недоліків можна віднести постійне підтримання зазначеного температурного режиму, що збільшує вартість виробництва (Jamkhande, Ghule, Bamer, & Kalaskar, 2019).

Індійські вчені дослідили синтез наночасток срібла з використанням водного екстракту буряку. Автори встановили, що пік поверхневого плазмонного резонансу синтезованих AgNPs спостерігався при 438 нм. Зі збільшенням концентрації екстракту буряка спектри поглинання показують синій зсув із зменшенням розміру частинок. AgNPs були добре дисперговані, сферичної форми із середнім розміром частинок 15 нм. Отримані AgNPs ефективно пригнічують ріст як грампозитивних (*Staphylococcus* і *Streptococcus*), так і грамнегативних (*E. coli* і *Pseudomonas aeruginosa*) бактерій та виявляють швидку каталітичну активність (Bindhu, & Umadevi, 2015). Iravani зі співавтор. показали можливість синтезу наночасток срібла за допомогою екстракту кори *Pinus eldarica* (Сосна ельдарська). Синтезовані AgNPs мають переважно сферичну форму та розмір в діапазоні 10–40 нм (Iravani, & Zolfaghari, 2013). Позаклітинний синтез високодисперсних наночасток срібла спостерігали на екстракті бананової шкірки (*Musa paradisiaca*). Тривалість процесу становила 72 години. Синтезовані AgNPs показали синергічний ефект з антибіотиком левофлоксацином. Більші зони інгібування було проявлено

грамнегативних бактерій (*E. coli* та *P. aeruginosa*) порівняно з грампозитивними бактеріями (*B. subtilis* та *S. aureus*) (Ibrahim, 2015). Показано можливість без доступу світла синтезу AgNPs з використанням водного екстракту листя *Urtica dioica* (Linn.). Проте тривалість інкубації становила 60 хв. (Jyoti, Baunthiyal, & Singh, 2016).

У літературі наявні повідомлення про парний синтез наночасток срібла та золота використовуючи рослинні екстракти. Вчені встановили, що за допомогою екстракту листя *Rosa rugosa* синтезовані наночастинки були переважно сферичними (у випадку AgNPs) з деякими трикутними та гексагональними (особливо у випадку AuNPs) форм із середнім розміром 12 та 11 нм для AgNPs та AuNPs, відповідно. І було встановлено, що зі збільшенням кількості екстракту листя AgNPs мають більш рівномірну форму (сферичну), а розмір частинок обох синтезованих металевих наночастинок зменшується. Збільшення розмірів AgNP та AuNP було виявлено при вищій концентрації іонів металу, коли вона змінювалася від 0,1 до 5 мМ (Dubey, Lahtinen, & Sillanpää, 2010). Також з екстракту кореня женьшеню *Panax ginseng* дослідникам вдалось провести синтез наночасток срібла і золота та отримати наступні результати. AgNPs та AuNPs були однорідними та монодисперсними за своєю природою, сферичної форми в діапазоні 10–40 нм, проте лише AgNPs показали максимальну антимікробну активність проти *S. aureus*, *B. anthracis*, *B. cereus*, *E. coli* та *V. parahaemolyticus*. AuNPs при тій самій концентрації активності не спостерігалось (Singh, Kim, Wang, Mathiyalagan, & Yang, 2015).

Також досліджено біогенний синтез наночасток золота водним екстрактом плодів *Couroupita guianensis* Aubl. Було одержано частки анізотропних однорідних розмірів, тобто сферичних, трикутних і гексагональних AuNPs із середнім розміром 25 ± 6 нм. Було також помічено, що AuNPs, що мають тонкий шар біомолекулярного покриття на своїй поверхні, частинки були добре дисперговані та стабільні протягом тривалого періоду часу. Проте в деяких місцях спостерігалось кілька агрегованих AuNPs, вони не були задіяні в прямому контакті через присутність кепуючих агентів (G. та ін., 2016). Використовуючи водний екстракт кореня *Morinda citrifolia* L.

позаклітинно синтезовано сферичні AuNPs з розмірами 12,17-38,26 нм (Suman, Radhika Rajasree, Ramkumar, Rajthilak, & Perumal, 2014).

В літературі наявні напрацювання щодо синтезу наночасток платинової групи за допомогою рослинних екстрактів. Так, Anand з колегами встановили, що екстракт квітки *Moringa oleifera* здатний до синтезу наночасток паладію розміри в діапазоні 2-18 нм і деякі великі розміри PdNPs з пов'язаними монометалевими формами (Anand та ін., 2016). Групі дослідників з Індії вдалось синтезувати наночастки паладію з екстракту *Anogeissus latifolia* (камідь гхатті). Проте одержані PdNPs не виявили антибактеріальної активності (Kora, & Rastogi, 2015). Екстракт *Pulicaria glutinosa* проявив можливість позаклітинного синтезу наночасток паладію протягом 2 годин (Khan та ін., 2014).

Отримати наночастки платини вдалось з екстракту листя вічнозеленої рослини *Azadirachta indica*. Інкубація тривала 30 хвилин і проходила в 2 етапи, які оцінювали візуально. Якісні зміни кольору від світло-жовтого до коричневого, вказують на утворення платини (II) і від коричневого до чорного, вказують на утворення PtNPs (Thirumurugan, Aswitha, Kiruthika, Nagarajan, & Christy, 2016).

Є дані про парний синтез наночасток платини та паладію використовуючи екстракт листя *Barleria prionitis*. Синтез наночасток був досягнутий проведенням інкубації при 100°C протягом 5 годин. PtNPs та PdNPs були протестовані на протипухлинну активність проти клітинних ліній аденокарциноми молочної залози людини (MCF-7), які показали зниження життєздатності до $60,08 \pm 2,4 \%$ і $57,22 \pm 1,68 \%$ відповідно (Shalaka та ін., 2017).

Узагальнена інформація щодо параметрів біосинтезу наночасток вказаними вище рослинними екстрактами наведена у табл. 1.5.

Таблиця 1.5.

Використання рослинних екстрактів для біосинтезу наночасток

Рослинні екстракти	Температура та тривалість біосинтезу	Характеристика наночасток	Біологічні властивості	Джерело
AgNPs				
Водний екстракт буряку	кімнатна температура, 7 хв	Добре дисперговані сферичні 15 нм	Ефективно пригнічують ріст як грампозитивних (<i>Staphylococcus i Streptococcus</i>), так і грамнегативних (<i>E. coli i Pseudomonas aeruginosa</i>) бактерій. <i>Staphylococcus</i> має максимальну зону інгібування 19 мм, а <i>E. coli</i> має мінімальну зону інгібування 7 мм. Виявляють більш швидку каталітичну активність.	Bindhu, & Umadevi, 2015
Екстракт кори <i>Pinus eldarica</i> (сосна ельдарська)	*	Сферичні в діапазоні 10–40 нм	**	Iravani, & Zolfaghari, 2013
Водний екстракт листя <i>Urtica dioica</i> (Linn.).	40°C, 60 хв	Гранецентрована кубічна структура полідисперсні сферичні в діапазоні 30–40 нм	Продемонстрували антибактеріальну активність проти грампозитивних (<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus i Staphylococcus epidermidis</i>) і грамнегативних (<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens i Salmonella typhimurium</i>) бактеріальних патогенів.	Jyoti, Baunthiyal, & Singh, 2016
Екстракт бананової шкірки (<i>Musa paradisiaca</i>)	30°C, 72 год	Кристалічна природа сферичні та монодисперсні 23,7 нм	Показали ефективну антибактеріальну активність грамнегативні бактерії (<i>E. coli ma P. aeruginosa</i>) продемонстрували більші зони інгібування порівняно з грампозитивними бактеріями (<i>B. subtilis ma S. aureus</i>). Показали синергічний ефект з антибіотиком левофлоксацином.	Ibrahim, 2015
AgNPs та AuNPs				
Екстракт листя <i>Rosa rugosa</i>	кімнатна температура, 10 хв	Сферичні, трикутні гексагональні 12 нм AgNPs 11 нм AuNPs	**	Dubey, Lahtinen, & Sillanpää, 2010

Продовження таблиці 1.5.

Екстракт кореня женьшеню <i>Panax ginseng</i>	80°C, 2 год (для AgNPs) 80°C, 5 хв (AuNPs)	Кристалічні одноріні, монодисперсні сферичні в діапазоні 10-40 нм	AgNPs показали максимальну антимікробну активність проти <i>S. aureus</i> , <i>B. anthracis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> та <i>V. parahaemolyticus</i> . Активності AuNPs при тій самій концентрації не спостерігалось	Singh, Kim, Wang, Mathiyalagan, & Yang, 2015
AuNPs				
Водний екстракт плодів <i>Couroupita guianensis</i> Aubl.	70 °C, 60 хв	Знижена полідисперсність анізотропні однорідні розміри (сферичні, гексагональні, трикутні) добре дисперговані та стабільні дещо агреговані мають тонкий шар біомолекулярного покриву на своїй поверхні 25±6 нм	**	G. та ін., 2016
Водний екстракт кореня <i>Morinda citrifolia</i> L	кімнатна температура, 720 хв	Трикутна та сферична форма 12,17-38,26 нм	**	Suman, Radhika Rajasree, Ramkumar, Rajthilak, & Perumal, 2014
PdNPs				
Екстракт квітки <i>Moringa oleifera</i>	*	Монометалеві форми добре дисперговані без агрегації сферичні 2-18 нм	**	Anand та ін., 2016
Екстракт <i>Pulicaria glutinosa</i>	90 °C, 120 хв	Гранецентрована кубічна структура сферичні середній розмір кристалітів ~20 нм	**	Khan та ін., 2014
<i>Anogeissus latifolia</i> (камідь <i>ghammi</i>)	21°C, 30 хв	Гранецентрована кубічна кристалічна структура сферичні, полідисперсні від 2,3 до 7,5 нм	Антибактеріальна активність часток відсутня	Kora & Rastogi, 2015
PtNPs				
Екстракт листя вічнозеленої рослини <i>Azadirachta indica</i>	100°C, 60 хв	Від полідисперсної малої сфери до великих сфер 5–50 нм	**	Thirumurugan, Aswitha, Kiruthika, Nagarajan, & Christy, 2016

Завершення таблиці 1.5.

PtNPs та PdNPs				
Екстракт листя <i>Barleria prionitis</i>	100°C, 5 год	PtNPs: монодисперсні рівномірно розподілені стабільні, не агреговані від 1 до 2 нм PdNPs: від сферичної до неправильної форми, добре дисперговані від 5 до 7 нм	Були протестовані на протипухлинну активність проти клітинних ліній аденокарциноми молочної залози людини (MCF-7), які показали зниження життєздатності до $60,08 \pm 2,4$ % і $57,22 \pm 1,68$ % відповідно для PtNPs та PdNPs.	Shalaka та ін., 2017

Примітка: * - дані щодо температури та тривалості біосинтезу не вказані.
 ** - дані щодо дослідження біологічної активності наночасток не вказані.

РОЗДІЛ 2. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ ПРОТИ ХАРЧОВИХ ПАТОГЕНІВ ТА МЕТОДИ ЇХ ДЕТЕКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯМ НАНОЧАСТИНОК

Нині зростає інтерес дослідників до наночастинок різних елементів, оскільки вони виявляють властивості, які суттєво відрізняються від властивостей самої сполуки у формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій. Це дає змогу використовувати їх у різних галузях — медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості, хімічній та нафтохімічній промисловості, електроніці. Наночастки використовують для створення електрохімічних сенсорів і біосенсорів, розробки ефективних сорбентів, антикорозійних покриттів, провідників, полімерних матеріалів, антимікробних засобів, дезінфікуючих розчинів тощо (Харченко, & Скроцька, 2020).

Харчові патогени є найбільшим фактором загрози здоров'ю споживачів. Пошук ефективних протимікробних препаратів для використання в харчовій промисловості призвів до появи нанотехнологій у цій галузі. Наночастинки є універсальним наноматеріалом з найкращою антимікробною активністю та великим потенціалом застосування саме у харчовій промисловості (Zorraquín-Reña, Cueva, & Moreno-Arribas, 2020).

Досліджено можливість використання наночастинок золота (AuNPs) в якості антибактеріальних агентів харчових патогенів. Серед різних досліджених концентрацій AuNPs було доведено, що 400 мкг/мл є МІК для *Escherichia coli* та *Listeria monocytogens*, а 800 лг/мл – для *Salmonella typhi*, *Salmonella enterica*, *Bacillus cereus* та *Staphylococcus aureus*. Максимальна зона інгібування спостерігалася щодо грамнегативних бактерій, ніж грампозитивних, завдяки товстому шару пептидоглікану в стінці грампозитивних клітин. Встановлено руйнування мембран бактеріальних клітин (Chandran, Song, & Yun, 2014).

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 2. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК БЛАГОРОДНИХ МЕТАЛІВ ПРОТИ ХАРЧОВИХ ПАТОГЕНІВ ТА МЕТОДИ ЇХ ДЕТЕКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯМ НАНОЧАСТИНОК	Літ.		Арк.	Аркушів		
Розроб.	Росик О.О.							32	93		
Перевір.	Скроцька О.І.					Кафедра БТМ					
Консультант											
Н. Контр.											
Затверд.	Стабніков В.П										
						32					

Chen з колегами розробили флуоресцентний біосенсор з використанням наночасток золота (AuNPs) для виявлення *Salmonella typhimurium* в харчових продуктах. За оптимальних умов спостерігалось, що кореляція між концентрацією *S. typhimurium* та інтенсивністю сигналів флуоресцентного біосенсора є лінійною в діапазоні $1,16 \times 10^2$ - $1,16 \times 10^7$ КУО/мл ($R_2 = 0,9912$), а виявлення межа розробленого біосенсора була на рівні 36 КУО/мл (Chen, Pan, & Tu, 2021). Вченими розроблено простий, швидкий, селективний і чутливий біосенсор для виявлення *Salmonella typhimurium* на основі підвищеної інтенсивності комбінаційного розсіювання за допомогою колючих AuNPs. Ефективність становить в діапазоні від 10^1 КУО/мл до 10^5 КУО/мл з межею виявлення 4 КУО/мл. Метод був успішно використаний для виявлення *S. typhimurium*, інокульованого в зразки свинини. Коефіцієнт відновлення становив від 96,55% до 105,45%, що вказує на хорошу точність (Ma, Xu, Xia, & Wang, 2018). А група інших вчених спроектувала немічений портативний пристрій на основі плазмонного біосенсора для надчутливого та вибіркового виявлення *Salmonella typhimurium* у зразках м'яса свинини. Розроблені аптамери, кон'юговані з сенсорними чіпами LSPR, показали ультрачутливу верхню межу виявлення (LOD) приблизно 10^4 КУО/мл для *S. typhimurium* у чистій культурі за оптимальних умов із загальним часом аналізу 30–35 хв. Коли сенсорні чіпи LSPR застосували до штучно заражених зразків м'яса свинини *S. typhimurium* було виявлено при $LOD 1,0 \times 10^4$ КУО/мл. Розроблений метод дозволяє виявити *S. typhimurium* у зразках м'яса свинини без етапу попереднього збагачення. Крім того, сенсорні чіпи LSPR, розроблені проти *S. typhimurium*, не були сприйнятливі до будь-якого впливу харчової матриці або мікрофлори фонового забруднення (Oh та ін., 2017).

Є повідомлення про можливість кон'югації AuNPs з галовою кислотою (GA) з подальшим оцінюванням антибактеріальної активності проти *Plesiomonas shigelloides* та *Shigella flexneri*. Значення мінімальної інгібуючої концентрації AuNP–GA було значно знижено ($P=0,0001$) порівняно з GA. Встановлено, що AuNP–GA призводить до змін ліпідів, білків і нуклеїнових кислот на мембрані бактеріальної клітини (Daduang та ін., 2016).

Вченими було розроблено колориметричний аптасенсора на основі аптамеру та наночастинок золота (AuNPs) для виявлення *Shigella flexneri*. У цій системі аптамери використовуються як специфічні елементи розпізнавання, а AuNPs діють як елементи перетворювача сигналу. В оптимальних умовах було отримано лінійну калібрувальну залежність між співвідношенням A700/A520 та концентраціями *Sh. flexneri* в діапазоні від 10^2 до 10^6 КУО/мл. Межа виявлення становила 80 КУО/мл, а час виявлення становив 20 хв або менше. Випробування на специфічність та аналіз реальних зразків показали, що колориметричний аптасенсор був ефективним з точки зору надійності та часу виявлення порівняно зі звичайними культуральними експертизами (Feng, Shen, Wu, Dai, & Wang, 2018).

Китайські вчені на чолі з Fu провели дослідження колориметричного аналізу AuNPs для виявлення *Listeria monocytogenes* та *Salmonella enterica*. Метод заснований на полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) із використанням мічених тіолом праймерів (рис. 2.1). Межа виявлення при аналізі геномної ДНК генів *L. monocyto* та *S. enterica* становить 0,015 нг/мл та 0,013 нг/мл відповідно. Специфічність оцінювали відрізняючи цільові патогенні бактерії з інших бактерій (Fu, Zhou, & Xing, 2013).

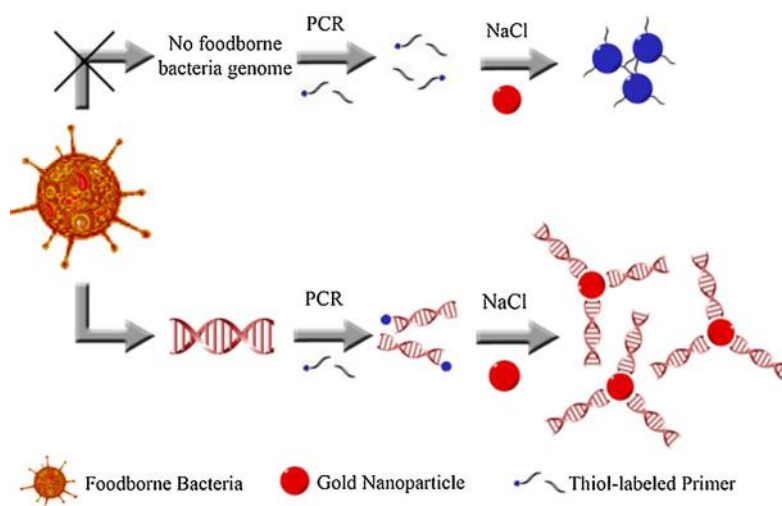


Рисунок 2.1. Принцип дії колориметричного аналізу наночастинок золота на основі ПЦР для виявлення харчових патогенних бактерій

Є напрацювання щодо використання наночасток золота (AuNPs) для виявлення *Listeria monocytogenes* у зразках харчових продуктів. Так, вчені розробили швидкий колориметричний аналіз для виявлення *L. monocytogenes* у зразках харчових продуктів із використанням LAMP-утворення конкатемерів ДНК і комплексу GNP/DNA –зонд. Межі виявлення *L. monocytogenes* у формі очищеної геномної ДНК і чистої культури становили 800 фг і 2,82 КУО мл⁻¹ відповідно. Перехресних реакцій від близькоспоріднених видів бактерій не спостерігалось. Аналіз із зондом LAMP-GNP/DNA було застосовано для виявлення 200 зразків сирого курячого м'яса та порівняно зі звичайними стандартними методами. Дані показали, що специфічність, чутливість і точність становили 100, 90,20 і 97,50% відповідно. Даний аналіз на 100% відповідав аналізу електрофорезу в агарозному гелі LAMP. У п'яти зразках, які були негативними за результатами обох аналізів, рівень збудника був нижчим від рівня виявлення (Wachiralurpan та ін., 2018).

Вченими здійснено аналітичний аналіз для виявлення *Vibrio parahaemolyticus*. Спочатку було одержано специфічні антитіла до яєчного жовтка (IgY), шляхом екстрагування яєчних жовтків імунізованих курей інактивованими бактеріями *V. parahaemolyticus*. За допомогою іммобілізації IgY на поверхні наночастинок золота (AuNPs) шляхом електростатичної самозбірки було розроблено систему виявлення на основі флуоресценції, що гасить перенесення заряду, яка містить квантові точки ядра/оболонки CdSe/ZnS (QD), IgY-AuNP та вільні AuNPs. У цій стратегії IgY-AuNP викликали швидку агрегацію в присутності мішені *V. parahaemolyticus*, що призводило до швидкої флуоресцентної відповіді. Дана система виявлення продемонструвала чудову вибірковість порівняно з іншими бактеріями. Крім того, цей легкий одноетапний метод може виявити *V. parahaemolyticus* у низьких концентраціях 10 КУО/мл без попереднього збагачення (Liu та ін., 2019).

На основі моноклональних антитіл мишей (Mab) проти *P. aeruginosa* (CICC 10419) і спарених моноклональних антитіл мишей (Mab) розроблено імунохроматографічний аналіз (ICA) для виявлення *Pseudomonas aeruginosa*. ICA показав межу виявлення $2,41 \times 10^4$ КУО/мл, а лінійний діапазон виявлення становив $3,13 \times 10^4$ - $1,0 \times 10^6$ КУО/мл. Перехресної реактивності не спостерігалось при

використанні інших грамнегативних і грампозитивних бактерій. Аналітична продуктивність показала, що розроблений ІСА мав хорошу специфічність і стабільність. Доцільність використання була підтверджена шляхом виявлення *P. aeruginosa* (CICC 10419) у пробах води та харчових продуктах (апельсиновий сік, молоко, яловичина). ІСА міг виявити зразки, забруднені низьким рівнем *P. aeruginosa* (CICC 10419) після 8 годин збагачення (Zeng та ін., 2021).

Було досліджено вплив наночасток золота (AuNPs) на накопичення H_2O_2 і антагонізацію патогенів *Lactobacillus gasseri* в аеробних культуральних умовах. Встановлено, що AuNPs (0,65 мкг/мл) знижують більш ніж на 50% накопичення H_2O_2 *L. gasseri* та значно пригнічують антагоністичну дію *L. gasseri* на ріст чотирьох харчових кишкових патогенів (*Salmonella enterica* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* та *Staphylococcus aureus*) але не мали істотного впливу на ріст *L. gasseri* pH (4,34±0,02) культур, що свідчить про те, що каталазо-міметична активність AuNPs повинна пояснювати зниження H_2O_2 у культурах (Zhu, Zeng, Guo, Feng, & Wu, 2019).

Універсальний олігонуклеотидний мікрочіп на основі AuNPs для мультиплексного виявлення харчових патогенів було розроблено групою вчених на чолі з Wang. У результаті виявлення чутливості межі становили 25, 73, 57, 3,3, 62, 5,1, 18 і 85 КУО/мл для *Shigella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* і *Vibrio parahaemolyticus* відповідно. Цей аналіз може однозначно розрізнити всі вісім патогенів при одиничній і множинній інфекції з чутливістю виявлення 3,3 ~ 85 КУО/мл для чистих культур. З 80 фактично протестованих зразків їжі (18 зрізків свинини, 18 зразків курятини, 18 зразків риби, 6 зразків яєць, 5 зразків молока, 15 зразків готових сніданків) 10 були позитивними на *Staphylococcus aureus*, 7 на *Vibrio parahaemolyticus*, 6 на *Listeria monocytogenes*, 3 на *Bacillus cereus*, 2 на *Salmonella enterica* та 2 на *Campylobacter jejuni*; 6 зразків були коінфіковані 2-3 цільовими патогенами, включаючи 3 *Listeria monocytogenes* і *Staphylococcus aureus*, 1 *Listeria monocytogenes* і *Salmonella enterica*, 1 *Salmonella enterica* та *Vibrio parahaemolyticus*, а також 1 з *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* та *Staphylococcus aureus*.

Позитивних сигналів щодо *Shigella spp.* та *Escherichia coli* O157:H7 не було виявлено (Wang, Ying, & Yuan, 2017).

Yahaya з колегами розробили мультиплексний тест LFA для виявлення багатьох харчових патогенів. AuNPs були синтезовані та кон'юговані з мишачим анти-грамнегативним ендотоксиновим антитілом. Нітроцелюлозну мембрану HF135 іммобілізували з антитілом IgG миші як контроль та двома окремими тестовими лініями з антитілом проти *Shigella* або антитілом проти *Salmonella* відповідно. Розроблений мультиплекс LFA зміг виявити *Salmonella Typhi* та *Shigella flexneri* одночасно в одній тест-смужці з показником LOD $3,0 \times 10^6$ КУО/мл у зразках молока. Мультиплекс LFA також може диференціювати види *Salmonella*, такі як *Salmonella typhi* та *Salmonella enteritidis*, з видами *Shigella flexneri* та *Shigella boydii*. З точки зору селективності, цей мультиплекс LFA не міг виявити інші перехресно споріднені *Enterobacteriaceae*, такі як *E. coli* O157:H7 і *Listeria monocytogenes*. Для позитивних зразків спостерігали інтенсивність забарвлення тестових ліній. Зразок молока використовувався як доказ концепції для імітації фактичного забруднення. Межа виявлення LFA становила $3,0 \times 10^6$ КУО/мл для багаторазового виявлення *Shigella flexneri* та *Salmonella Typhi*, а також для обох одноразових виявлень (Yahaya, Zakaria, Noordin, & Abdul Razak, 2020).

Вчені з Ірану розробили селективний імуносенсор на основі подвійних аптамерів для виявлення *Staphylococcus aureus*. Біотинільований первинний аптамер проти *Staphylococcus aureus* іммобілізований на покритих стрептавідином магнітних кульках, які служать як зонд захоплення. Вторинний анти-*Staphylococcus aureus* аптамер був кон'югований з наночастками срібла (Apt-AgNP), які чутливо повідомляють про виявлення мішені. В наявність цільової бактерії, комплекс Apt/*Staphylococcus aureus*/apt-AgNPs утворюється на поверхні магнітних кульок, і слідує електрохімічний сигнал AgNPs через анодну вольтамперометрію. За оптимальних умов запропонований біосенсор демонструє лінійну реакцію на концентрацію *Staphylococcus aureus* у розширеному динамічному діапазоні від 10 до 10^6 КУО/мл із низьким рівнем виявлення межі 1,0 КУО/мл (S/N=3) (Abbaspour, Norouz-Sarvestani, Noori, & Soltani, 2015).

Є інформація ефективність компонентів рослини *Juniperus procera* в поєднанні з наночастками срібла (AgNPs) проти *Aspergillus fumigatus* та *Fusarium chlamydosporum*. Згідно з протигрибковими результатами, екстракт листя *Juniperus procera* при 100 мг/мл показав 35,83 і 44,09% пригнічення росту, але збільшився до 50,55 і 59,06% після додавання 50 ppm AgNPs проти *Aspergillus fumigatus* і *Fusarium chlamydosporum* відповідно (Bakri, El-Naggar, Helmy, Ashoor, & Abdel Ghany, 2020).

Було досліджено антибактеріальний потенціал синтезованих наночасток срібла (AgNPs) *Jatropha curcas*. Загальні результати показали, що *Escherichia coli* (затримка зони розвитку (ЗЗР): 23 мм, мінімальна бактерицидна концентрація (МБК): 0,010 мг/мл) був найбільш чутливим організмом, тоді як *Staphylococcus aureus* (ЗЗР: 14,66 мм, МБК: 0,041 мг/мл) і *Salmonella enterica* (ЗЗР: 16,66 мм, МБК: 0,041 мг/мл) були найменш чутливими до Jc-AgNps (Chauhan, Tyagi, Kumar, & Malik, 2016). Також було визначено антибактеріальний потенціал синтезованих AgNPs *Forsythia suspensa*. Синтезовані AgNPs показали антибактеріальну активність проти всіх протестованих харчових патогенів, включаючи *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Salmonella typhimurium*. Антибактеріальна активність підвищувалася залежно від дози. Крім того, *Staphylococcus aureus* і *Vibrio parahaemolyticus* були представлені як грампозитивні та грамнегативні модельні штами для вивчення антибактеріального механізму AgNPs. Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) *Vibrio parahaemolyticus* і *Staphylococcus aureus* становили 6,25 мкг/мл і 50 мкг/мл відповідно, а мінімальні бактерицидні концентрації (МБК) *Vibrio parahaemolyticus* і *Staphylococcus aureus* становили 12,5 мкг/мл і 100 мкг/мл. мл, відповідно. Результати показали, що AgNPs викликають морфологічні зміни та пошкоджують цілісність мембрани штамів *Staphylococcus aureus* і *Vibrio parahaemolyticus*. Крім того, AgNPs індукували вивільнення нуклеїнових кислот з клітин *Vibrio parahaemolyticus*, що призводило до порушення репродукції клітин (Du та ін., 2019).

Вченими досліджено механізм пригнічення росту бактерій за допомогою функціонізованих наночасток срібла бензоатом настрию. Встановлено наступне:

1. AgNPs вивільняють іони срібла при контакті з бактеріальними клітинами та впливають на системи реплікації бактеріальної ДНК, припиняючи виробництво клітинних білків і ферментів, необхідних для аденозинтрифосфату;

2. іони срібла порушують дихальний ланцюг функціонуванням мембранно-зв'язаних ферментів;

3. AgNPs мають тенденцію проникати через бактеріальну мембрану, і це може сприяти їх інтерналізації всередині клітини та спричиняти інактивацію кількома шляхами (Kumar та ін., 2017).

Вченими вивчено можливості синтезу наночасток срібла на екстракті листя чаю пуер. Синтезовані AgNPs володіють антибактеріальною властивістю. MIC і МБК AgNPs проти *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* і *Salmonella enteritidis* становили 7,8, 3,9; 3,9, 3,9; 7,8, 3,9; 7,8, 3,9 мкг/мл відповідно. Встановлено прямий вплив на руйнування клітинної стінки (Loo та ін., 2018).

Вченими розроблена мікрофлюїдна платформа для виявлення патогенних бактерій за допомогою наночасток срібла (AgNPs). Розроблений аналіз може виявити низький рівень 169 і 92 КУО/мл для MRSA 35 і *Salmonella enteritidis* відповідно, тоді як до 6 КУО/мл для *Listeria monocytogenes* і *Listeria innocua*, і близько 2 КУО/ мл для *Escherachia coli* і *Pseudomonas aeruginosa*. Межа виявлення становить 28 і 7 КУО/ мл для MRSA 86 і *Salmonella typhimurium* відповідно (Mungroo, Oliveira, & Neethirajan, 2015).

Показано позаклітинний синтез наночасток срібла *Planantomicrobium* sp. Синтезовані бактеріями AgNPs брали активну участь в антибактеріальній активності щодо *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* та *Serratia nematodiphila*, мали мінімальну зону інгібування через максимальну резистентність бактеріальних ізолятів. Середній діапазон інгібування спостерігався щодо *Klebsiella planticola* і *Klebsiella pneumonia*, що мають найнижче інгібування з бактеріально-опосередкованими AgNPs. Швидкість росту *Bacillus subtilis*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia nematodiphila* та *Escherichia coli* знижувалася при підвищеній концентрації AgNPs (Rajeshkumar, & Malarkodi, 2014). Також досліджено біогенний синтез наночасток срібла за допомогою *Penicillium oxalicum* GRS-1. Біосинтезовані AgNPs показали

сильну антимікробну активність проти звичайних харчових патогенів, включаючи *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Salmonella typhimurium*, з відповідними мінімальними бактерицидними концентраціями 32, 16 та 32 мкг/мл. AgNPs у концентрації 100 мкг/мл показали дуже сильний інгібуючий ефект проти звичайних харчових патогенів, включаючи *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Salmonella typhimurium*, виявляючи 14, 15 і 14 мм зони інгібування відповідно (Rose, Soni, Rishi, & Soni, 2018).

Вченими розроблено колориметричний нанобіосенсор з використанням пероксидазоподібної каталітичної активності біметалевих нанокластерів ДНК-Au/Pt для визначення *Staphylococcus aureus*. Лінійний динамічний діапазон колориметричного оптичного датчика на основі Au/PtNPs охоплював великі варіації концентрацій *Staphylococcus aureus* від 10^8 до 10^2 КУО/мл і було отримано межу виявлення 80 КУО/мл. Взаємодія між аптамером та функціональними групами на бактеріальній поверхні підтверджено через прямий зв'язок між зниженням пероксидазної активності нанокластерів через прикріплення аптамеру до бактерій (Bagheri pebdeni, & Hosseini, 2020).

Наноферментний сенсор на основі полімерної наносфери з платиновим покриттям для швидкого та чутливого виявлення *Salmonella typhimurium* розробили вчені з Китаю. Межа виявлення була визначена як $3,0 \times 10^2$ КУО/мл. Розрахована межа кількісного виявлення становила $5,6 \times 10^3$ КУО/мл (Hu та ін., 2021).

Група вчених розробила ДНК-кодований біметалічний Au-Pt нанофермент для високоефективного виявлення *Escherichia coli* O157:H7. Під світловим опроміненням наночастинки Au-Pt демонструють високу фототермічну ефективність перетворення та підвищену каталітичну активність, що може бути застосовано для знищення та виявлення *Escherichia coli* O157:H7 із високою ефективністю (95%) за 5 хвилин і забезпечує чудову лінійну виявлення (10 – 10^7 КУО/мл), з межею виявлення 2 КУО/мл. Також було досліджено прямий вплив на клітинну стінку харчових патогенів (Lu та ін., 2021). Було запропоновано колориметричний метод виявлення *Escherichia coli* O157:H7 з використанням функціоналізованих наночастинок Au/Pt. Принцип заснований на каталітичному

окисленні пероксидазного субстрату 3,3,5,5-тетраметилбензидину перекисом водню з використанням Au/PtNPs із функцією 4-меркаптофенілборонової кислоти, адсорбованих на поверхні *E. coli* O157:H7. Поглинання при 652 нм було пропорційним концентрації *Escherichia coli* O157:H7 в діапазоні від 7 до 6×10^6 КУО мл^{-1} з межею виявлення 7 КУО мл^{-1} . Загальний час виявлення становив менше 40 хв. Завдяки електростатичній адсорбції та взаємодії боронат-діол Au/PtNPs були міцно адсорбовані на поверхні *Escherichia coli* O157:H7 (Su та ін., 2013).

Проведені дослідження спрямовані на виявлення *Listeria monocytogenes* за допомогою електрохімічного біосенсору на основі одночасного соноелектроосадження платини та хітозану (CHI/Pt). Ці аптасенсиори працювали при концентраціях до 10^6 КУО/мл без попереднього концентрування або додавання сторонніх реагентів. Вибірковість оцінювали за наявності інших грампозитивних бактерій (*Staphylococcus aureus*) та харчового продукту (курячий бульйон). Активація призвела до покращеного виявлення *Listeria monocytogenes* з низькою межею виявлення (33 КУО/10 мл у курячому бульйоні). LOD датчика CHI/Pt-аптамера для *Listeria monocytogenes* у PBS становив 2,5 КУО/мл (чутливість $21,1 \pm 4,4$ Ом/ $\log(\text{КУО/мл})$), а для моделювання реального комплексного зразка було використано курячий бульйон, що призвело до LOD 3,3 КУО/мл (чутливість $27,8 \pm 3,5$ Ом/ $\log(\text{КУО/мл})$). Відносно високу чутливість розробленого сенсора можна пояснити поєднанням хітозану, який має сильну спорідненість до бактерій завдяки присутності групи фанамінів ($-\text{NH}_2$), і аптамерів, розроблених для специфічного зв'язування з цільовим білком мембрани в *Listeria monocytogenes* (Oliveira, Althawab, McLamore, & Gomes, 2021).

Вчені розробили електрохімічний імуносенсор для виявлення *Staphylococcal enterotoxin B* (SEB) з модифікованими на поверхні електрода PtNPs. Потенціал для виділення водню негативно зміщується зі збільшенням концентрації SEB в діапазоні від 1,0 нг/мл до 1,0 мг/мл, а виявлено, що межа виявлення становить 1,0 нг/мл (Sharma, Kameswara Rao, Vrat Kamboj, & Jain, 2014).

Імунотест на патогенні бактерії (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7) заснований на імітації активності каталази гібридних PtNPs та

конканаваліну А. Гібридні PtNPs та конканавалін А каталізують розкладання перекису водню (H_2O_2) з утворенням O_2 . При використанні міток в імунологічних аналізах вони поєднують функції біологічного розпізнавання та посилення сигналу. Зчитування тиску за допомогою одноразового шприца було поєднано з перетворенням сигналу Pt-nanoflower і успішно застосовано до схеми візуального виявлення бактерій. *Escherichia coli* O157:H7, і *Salmonella typhimurium* можна кількісно визначити з межами виявлення 15 і 7 КУО/мл⁻¹ відповідно (Wang та ін., 2019).

Вчені розробили чутливий оптичний біосенсор на основі нанокаталізаторів Au/PtNPs для швидкого виявлення *Salmonella typhimurium*. Цільові клітини *Salmonella* спочатку були розділені за допомогою імуномагнітних наночастинок і пасивного 3D мікроміксер. Потім імунні Au/PtNPs були мічені на клітинах-мішенях як вихідний сигнал для каталізації перекису водню - 3,3',5,5'-тетраметилбензидину. Поглинання вимірювали при 652 нм для розрахунку кількості бактерій. Цей оптичний біосенсор міг виявляти *Salmonella* в концентраціях від $1,8 \times 10^1$ до $1,8 \times 10^7$ КУО/мл за 1 год. Його межа виявлення була розрахована як 17 КУО/мл (Zheng та ін., 2019). Біосенсор для швидкого та чутливого виявлення *Salmonella* з використанням магнітних нанокульок (MNB) завантажених наночастинок діоксиду марганцю (Pt/MnO₂NPs) розробили вчені з Китаю. Магнітні нанокульки, модифіковані антитілами захоплення (CAbs), були використані для спеціального відділення *Salmonella* від зразка з утворенням комплексів MNB-CAb*Salmonella*. Потім антитіла для виявлення (DAbs), модифіковані Pt/MnO₂NPs, були використані для мічення магнітних бактерій з утворенням комплексів MNB-CAb-*Salmonella*-DAb-Pt@MnO₂NPs. Після того, як ці комплекси ресуспендували з H_2O_2 в герметичній центрифужній пробірці, H_2O_2 каталізували Pt/MnO₂NPs для отримання O_2 , що призвело до підвищення тиску і зчитування інформації. Цей біосенсор може кількісно виявляти *Salmonella* від $1,5 \times 10^1$ до $1,5 \times 10^5$ КУО/мл за 1,5 години з низькою межею виявлення 13 КУО/мл (Wang та ін., 2020).

Багато вчених спрямовують напрямки своїх досліджень на визначення антибактеріального потенціалу наночастинок благородних металів. Проявляючи свої

антибактеріальні властивості, наночастки прикріплюються до поверхні клітини. Ця взаємодія викликає структурні зміни та пошкодження, порушення життєво важливих функції клітин, пригнічення активності ферментів дихального ланцюга, які в подальшому призводять до загибелі клітин (Prema, Iniya, & Immanuel, 2016). Даний потенціал наночасток благородних металів реалізують у виначенні харчових патогенів продуктів харчування. Найбільш розповсюджені бактеріальні збудники харчових хвороб включають: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* та у меншій мірі, *Bacillus cereus*, *Shigella*, *Campylobacter* і *Clostridium botulinum*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, гриби роду *Aspergillus* та ін. (Jagtiani, 2021). В літературі наявні описи виченого антибактеріального ефекту наночасточок благородних металів, синтезованих за допомогою бактерій (Prema, 2016; Sunkar, 2012; Gowramma, 2014; Nanda, 2009), грибів (Binupriya, 2010; Nithya, 2009; Mishra, 2022), дріжджів (Mishra, 2011; Rahi, 2018; Soliman, 2018), водоростей (Ramkumar, 2017) та рослинних екстрактів (Bindhu, 2015; Jyoti, 2016; Ibrahim, 2015; Singh, 2015). Узагальнена інформація наведена у табл. 2.1.

Таблиця 2.1.

Антимікробна дія наночасток благородних металів

Продуцент	Тест-культура	Зона затримки росту (мм)	Мінімальна інгібуюча концентрація (мкг/мл)	Джерело
Наночастки срібла (AgNPs)				
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	15	*	Sunkar, & Nachiyar, 2012
	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	*	
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Escherichia coli</i>	16	*	Gowramma, Keerthi, Rafi, & Muralidhara Rao, 2014
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	18	*	
	<i>Salmonella enterica</i>	15	*	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	*	
<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA	17,5	*	Nanda, & Saravanan, 2009
	<i>Salmonella typhi</i>	11	*	
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	0,8	*	
<i>Aspergillus oryzae</i> var. <i>viridis</i> (KCCM 11372)	<i>Staphylococcus aureus</i> KCCM 12256	*	$40 \cdot 10^{-3}$	Binupriya, Sathishkumar, & Yun, 2010

Завершення таблиці 2.1.

<i>Pleurotus sajor caju</i>	<i>Escherichia coli</i>	12	*	Nithya, & Ragunathan, 2009
	<i>Staphylococcus aureus</i>	11	*	
<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Escherichia coli</i>	14	*	Mishra, Tripathy, & Yun, 2011
	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	*	
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	10	*	
Водний екстракт буряку	<i>Escherichia coli</i>	7	*	Bindhu, & Umadevi, 2015
	<i>Staphylococcus aureus</i>	19	*	
Водний екстракт листя <i>Urtica dioica</i> (Linn.)	<i>Escherichia coli</i>	19	*	Jyoti, Baunthiyal, & Singh, 2016
	<i>Staphylococcus aureus</i>	21	*	
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	18	*	
Екстракт бананової шкірки (<i>Musa paradisiaca</i>)	<i>Escherichia coli</i>	17	*	Ibrahim, 2015
	<i>Staphylococcus aureus</i>	16	*	
Наночастки золота (AuNPs)				
<i>Aspergillus terreus</i> AREF023	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,58 ± 0.28	400	Mishra, Kalra, Dilawari, Goel, & Barrow, 2022
	<i>Escherichia coli</i>	13	*	
<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	*	Mishra, Tripath, & Yun, 2011
<i>Stoechospermum marginatum</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	13	*	Arockiya Aarthi Rajathi, Parthiban, Ganesh Kumar, & Anantharaman, 2012
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	6	*	
Наночастки платинової групи				
<i>Padina gymnospora</i>	<i>Escherichia coli</i>	3 ± 0.05	7,5	Ramkumar та ін., 2017
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	2,53 ± 0.15	7,5	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,2 ± 0.05	10	

Примітка: * - дані щодо дослідження відсутні.

РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ

3.1. Потреба у цільовому продукті

Мікробіологічні ризики та захворювання харчового походження на сьогодні є нагальною проблемою системи охорони здоров'я будь-якої країни, адже протягом останніх десятиріч кількість захворювань, викликаних мікроорганізмами, які передаються через їжу, значно збільшилася. Крім цього, дані захворювання тягнуть за собою цілу низку економічних витрат як на індивідуальному, так і на державному рівні (Snigir, Velychko, & Siryk, 2015).

Основною причиною псування харчових продуктів і більшості випадків харчових отруєнь – це діяльність мікроорганізмів. Такі мікроорганізми називаються «харчові патогени». Особливістю патогенних мікроорганізмів є їх здатність до виділення токсинів – отруйних речовин, які провокують ураження внутрішніх органів і систем, що проявляється виникненням хворобливого стану (Снігир, Величко, & Сірик, 2015).

До них відносять: *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Cronobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp. та *Yersinia enterocolitica* та інші (Bintsis, 2017). Після вживання зараженої їжі вище згаданими мікробами, починається їх активне розмноження в організмі людини, що викликає виникнення захворювання (Снігир, Величко, & Сірик, 2015). У табл. 3.1 наведена узагальнена інформація симптоматики дії харчових патогенів на організм людини.

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 3. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ	Літ.	Арк.	Аркушів	Кафедра БТМ 45		
Розроб.	Росик О.О.										
Перевір.	Скороцька О.І.						45	93			
Консультант											
Н. Контр.											
Затверд.	Стабніков В.П.										

**Симптоматика впливу харчових патогенів на організм людини
(Bintsis, 2017)**

Період інтоксикації	Симптоматика інфікування	Харчовий патоген
1–7 год (у середньому 2–4 год)	Нудота, блювота, діарея, біль у животі, протрація	<i>Staphylococcus aureus</i> та продукovanі ентеротоксини
8–16 год (2–4 год, якщо переважає блювота)	Блювота або діарея, спазми в животі, нудота	<i>Bacillus cereus</i>
12–48 год	Нудота, блювота, водяниста діарея без крові, зневоднення	Norovirus
2–36 год (у середньому 6–12 год)	Спазми в животі, діарея, іноді нудота і блювання	<i>Clostridium perfringens</i>
6–96 год (зазвичай 1–3 дні)	Лихоманка, спазми в животі, діарея, блювота, головний біль	<i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp., <i>Esherichia coli</i>
від 6 год до 5 днів	Спазми в животі, діарея, блювота, лихоманка, нездужання, нудота, головний біль, зневоднення	<i>Vibrio cholerae</i> (O1 та non-O1), <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
від 1 до 10 днів (в середньому 3–4 дні)	Діарея (часто з кров'ю), біль у животі, нудота, блювота, нездужання, лихоманка (рідко для <i>E. coli</i> O157:H7)	Ентерогеморагічний <i>Esherichia coli</i> , <i>Campylobacter</i> spp.
від 3 до 5 днів	Лихоманка, блювота, водяниста незапальна діарея	Rotavirus, Astrovirus, Adenovirus
від 3 до 7 днів	Лихоманка, діарея, біль у животі	<i>Yersinia enterocolitica</i>
від 1 дня до кількох тижнів	Біль у животі, діарея, запор, головний біль, сонливість, виразки, мінлива — часто безсимптомна	<i>Entamoeba histolytica</i>
від 3 до 6 місяців	Нервозність, безсоння, голодні болі, анорексія, втрата ваги, біль у животі, іноді гастроентерит	<i>Taenia saginata</i> , <i>Taenia solium</i>
Від 2 год до 6 днів (зазвичай від 12 до 36 год)	Запаморочення, двоїння або затуманення зору, втрата або світловий рефлекс, утруднене ковтання, сухість у роті, слабкість, параліч дихання	<i>Clostridium botulinum</i> та продукovanі нейротоксини
від 4 до 28 днів	Гастроентерит, лихоманка, набряки навколо очей, пітливість, біль у м'язах, озноб, протрація, утруднене дихання	<i>Trichinella spiralis</i>

Завершення таблиці 3.1.

від 7 до 28 днів	Нездужання, головний біль, лихоманка, лихоманка, кашель, нудота, блювання, запор, біль у животі, озноб, рожеві плями, кривавий стілець	<i>Salmonella typhi</i>
від 10 до 13 днів	Лихоманка, головний біль, міалгія, висипи	<i>Toxoplasma gondii</i>
Різні періоди	Лихоманка, озноб, головний біль, артралгія, прострація, нездужання, збільшення лімфовузлів та інші специфічні симптоми даного захворювання	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>

В розрізі огляду мікробіологічного забруднення продуктів харчування, одним із основних напрямків є дослідження проблеми швидкого псування плодів свіжих овочів та фруктів.

На поверхні свіжих плодів і овочів містяться багато видів мікроорганізмів, що потрапляють на них зовні разом з частками пилу, вологи, ґрунту, повітрям тощо. У плодах і овочах міститься достатньо вологи і поживних речовин, що робить їх нестійкими до зберігання. Деякі з мікроорганізмів здатні викликати захворювання і псування плодів та овочів, що робить їх непридатними до споживання (Пузік, Пузік, Криштоп, & Бондаренко, 2021).

Враховуючи актуальність проблеми мікробіологічного забруднення продуктів харчування, мікробіологічні ризики є одними з найбільш небезпечних, які можуть нести в собі продукти харчування. Саме мікробна контамінація призводить до реальних негативних наслідків для здоров'я людини. Тому виявлення небезпечного агента, оцінка ризику та запобігання мікробіологічному забрудненню є першочерговою задачею. Споживачі повинні обирати продукти, які мають підтвердження своєї безпечності, що дозволить запобігти погіршенню здоров'я або виникненню захворювань та забезпечить максимально здорове харчування (Снігир, Величко, & Сірик, 2015).

На поверхні фруктів та овочів постійно знаходиться значна кількість мікроорганізмів. Частина їх перебуває у неактивному стані і не викликає псування,

оскільки на поверхні шкірки небагато поживних речовин. Однак деякі мікроорганізми живуть і розмножуються на поверхні фруктів та овочів і складають епіфітну мікрофлору. Найбільш характерними представниками епіфітної мікрофлори фруктів та овочів є молочнокислі, оцтовокислі, деякі спороносні бактерії, дріжджі і плісєневі гриби. На фрукти та овочі можуть потрапити і патогенні для людини мікроорганізми: збудники паратифу, черевного тифу, сальмонели, стафілококи, збудники дизентерії, ботулізму та ін.

Ураження фруктів та овочів мікроорганізмами може бути активним, коли збудник хвороби проникає у плід самостійно через непошкоджені тканини, і пасивним, коли збудник проникає безпосередньо від материнської рослини або через рани. Розвитку хвороби сприяють механічні пошкодження (проколи, тріщини, розриви, подряпини, потертості, ураження шкідниками), а також перезрівання, переохолодження, недотримання умов товарообігу та зберігання.

Фрукти та овочі переважно пошкоджують плісєневі гриби. Під дією гідролітичних ферментів, які вони виділяють, руйнуються міжклітинні пластинки і оболонки клітин м'якоті, відбувається гідроліз пектинових, білкових речовин, крохмалю, целюлози, нагромаджуються різні токсичні метаболіти. В результаті розвитку плісєневих грибів підвищується рН соків і зменшується кислотність, що сприяє розвитку бактеріальної мікрофлори. В уражених фруктах та овочах тканини стають м'якими, темнішають і розпадаються (мацерація) (Соломон, Казмірук, & Тузова, 2020).

Більшість традиційних харчових препаратів, які використовують для унеможливлення розвитку харчових патогенів у продукті, мають обмежене застосування в зв'язку з рН або хімічною взаємодією з компонентами продукту. Але це не зупиняє застосування протимікробних засобів у харчовій промисловості. Так, через ризик втрати чи псування продуктів виробники використовують різні методи обробки продуктів для знищення мікроорганізмів: від фізичної їх інактивації до додавання хімічних речовин. Протимікробні препарати (консерванти), у тому числі хімічні дезінфікуючі засоби, що додаються в продукти харчування чи упаковки,

пригнічують ріст або знищують мікроорганізми, які призводять до їх псування (Патрабой, & Ротар, 2014).

Для післязбиральної обробки плодів і овочів наразі застосовують синтетичні пре препарати, а саме консервати, препарти пероксидної природи (ТМ «BioGreen») та біологічні препарати («Гамеир», «Фітоспорин», «Алірін», «Вітаплан», «Псевдобактерин», «Гліокладін», «Лепідоцид», «Боверин», «Бактофит» та ін.).

Нетрадиційні антимікробні засоби також повинні бути розглянуті. У наш час за даним напрямком найбільш популярними є дослідження післязбиральної обробки агрокультур нанопокриттям. Підвищення безпеки харчових продуктів шляхом застосування нанотехнологій може зменшити токсичність матеріалу, збільшити термін зберігання та контролювати потік газів і вологи. Крім того, покриття та плівки є можливим засобом для включення речовин, які мають здатність покращувати колір, смак і текстуру фруктів і овочів, а також контролювати ріст мікробіоти. З цією метою наноматеріали можна функціоналізувати як систему доставки добавок і антимікробних агентів. Введення нанокompatитів в харчову упаковку призводить до помітно покращених фізичних властивостей (Alghuthaymi, Abd-Elsalam, Paraliker, & Rai, 2020). У табл. 3.2 зображена можливість використання наночасток благородних металів як компонентів для нанопокриття агрокультур.

Таблиця 3.2.

Наночастки благородних металів як одновий компонент при використанні нанопокриття агрокультур

Функціональна дія	Вид продукту	Література
AgNPs		
<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Penicillium italicum</i>	Цитрусові	Zambrano-Zaragoza, та ін., 2018
Антимікробна	Свіжо розрізана морква	Wilson, Stanley, Eyles, & Ross, 2017
Анибактеріальна	Томати	Sridhar, Ponnuchamy, Kumar, & Kapoor, 2020
Антифунгальна	Виноград	Ruffo Roberto, Youssef, Hashim, & Ippolito, 2019
Антимікробна	Полуниця	Jafarzadeh, Mohammadi Nafchi, Salehabadi, Oladzad-abbasabadi, & Jafari, 2021
Продовження терміну зберігання	Диня	Jafarzadeh, Mohammadi Nafchi, Salehabadi, Oladzad-abbasabadi, & Jafari, 2021

Завершення таблиці 3.2.

Збільшення терміну придатності	Фрукти	Ijaz, Zafar, Afsheen, & Iqbal, 2020
<i>Salmonella enterica</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>S. aureus</i>	Перець солодкий	Jafarzadeh, Mohammadi Nafchi, Salehabadi, Oladzad-abbasabadi, & Jafari, 2021
AuNPs		
Комплексна (антибактеріальна+антифунгальна)	Продукти харчування	Paidari, & Ibrahim, 2021
Антибактеріальна	Продукти харчування	Jafarzadeh, Mohammadi Nafchi, Salehabadi, Oladzad-abbasabadi, & Jafari, 2021

Отже, найбільш популярним елементом при розробці нанопокриттів для харчових продуктів є наночастки срібла. Проте існує необхідність розширення спектру використання наночасток благородних металів при виготовленні активного покриття. Саме тому метою даного курсового проекту є використання наночасток золота в компоненті з бактеріоцином, що продукується штамом *Lactobacillus plantarum* ATM11, в якості активного нанопокриття для плодів свіжих овочів та фруктів за для підвищення якості, періоду злежуваності та терміну зберігання (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

Перевагами використання наночастинок золота (AuNPs) є широкий спектр противірусної, антибактеріальної, протидріжджової та протигрибкової дії, не викликають резистентності у мікроорганізмів, мають нетоксичний характер дії на організм людини і можуть бути використані у харчовій промисловості (Jagtiani, 2021). У літературі наявні напрацювання, спрямовані на визначення та підтвердження ефективності AuNPs проти харчових патогенів *Escherichia coli* (Mishra, Kalra, Dilawari, Goel, & Barrow, 2022), *Staphylococcus aureus* (Mishra, 2011; Mishra, 2022), *Klebsiella pneumonia* (Arockiya Aarthi Rajathi, Ganesh Kumar, & Anantharaman, 2012), *Listeria monocytogens* (Chandran, 2014; Wachiralurpan, 2018) та *Vibrio parahaemolyticus* (Liu та ін., 2019).

Механізм дії полягає у наступному: наночастки золота тісно зв'язуються з поверхнею мікроорганізмів, викликаючи видиме ушкодження клітин із повним руйнуванням джгутиків, стимулюють виробництво біоплівки та агрегат усередині

цієї біоплівки. Більш ефективніші проти грамнегативних бактерій завдяки тонкому пептидоглікановому шару в клітинній стінці (Zawrah, El-Moez, & Center, 2011).

Отже, з наведених вище даних можна зробити висновок про можливість та доцільність використання наночасток золота з метою обробки свіжих плодів овочів та фруктів.

3.2. Обґрунтування вибору біологічного агенту

Загальна технологія одержання наночасток благородних металів починається з культивування біологічних агентів та подальшої обробки солями різної концентрації.

Для одержання наночасток золота (AuNPs) ізолят *Aspergillus terreus* AREF023 інокують у картопляно-декстрозний бульйон та інкубують при 26°C у темряві протягом 10 діб у роторному шейкері при 180 об/хв. Фільтрат культури та міцелій відокремлюють, ретельно промивають дистильованою водою і двічі екстрагують 70% метанолом за об'ємом. Отриманий екстракт концентрують за допомогою роторного випарника, розбавляють та ліофілізують. Потім додають 1 мМ H₂AuCl₄ тетрахлораурат (III) водню, добре перемішують та інкубують при 40°C протягом 24 годин при 150 об/хв (pH = 8,0). Отримані AuNPs кристалічної природи, мають сферичну форму, розміром 10±1 нм, а пік довжини хвилі поверхневого плазмонного резонансу становить близько 536 нм (Mishra, Kalra, Dilawari, Goel, & Barrow, 2022).

Використовуючи дріжджову культуру *Aureobasidium pullulans* можна отримати наночастки срібла (AgNPs) (Rahi, Manhas, Kaur, Malik, & Rahi, 2018). Для цього необхідно культуру інокулювати в картопляно-декстрозний бульйон (PDB) та інкубувати при 28°C ± 0,5°C в режимі струшування зі швидкістю 150 об/хв протягом 7 днів. Після інкубації грибкову біомасу збирали з ферментаційного бульйону центрифугуванням при 5000 об/хв протягом 20 хвилин. Отриману таким чином біомасу промивали 3-4 рази дистильованою водою, щоб видалити частинки середовища, що приєдналися до неї і суспендували в деіонізовану воду. Витримували при 27°C в умовах струшування при 150 об/хв протягом 72 годин. Після відповідної інкубації біомасу відокремлювали центрифугуванням бульйону при 5000 об/хв протягом 20 хвилин для отримання безклітинного фільтрату. 1/10 M

AgNO₃ додавали безклітинного фільтрату так щоб отримати об'єм 1мМ як кінцеву концентрацію AgNO₃. Діапазон розмірів синтезованих AgNO₃ був приблизно від 2,43 нм до 53,5 нм. Пік довжини хвилі поверхневого плазмонного резонансу знаходився в діапазоні 380-480 нм. Форма була змінною, але в основному була сферичною та полідисперсною, деякі частки були агреговані.

Також наночастки срібла (AgNPs) можна отримати використовуючи бактеріальну культуру *Corynebacterium glutamicum* (Gowramma, Keerthi, Rafi, & Muralidhara Rao, 2014). Для вирощування мікроорганізму використовували середовище Лурія-Бертані (LB) та інкубували протягом 72 год, 30°C зі струшуванням при 120 об/хв. Через 72 год росту біомасу збирали центрифугуванням при 5000 об/хв протягом 10 хв, а зібраний осад клітин тричі промивали деіонізованою водою для видалення культурального середовища та сушили протягом ночі в дух. шафі при 60°C. Висушену біомасу ресуспендували в деіонізованій воді та додавали до водних розчинів свіжоприготованого комплексу алмазного срібла ($[Ag(NH_3)_2]^+$), що містить 1 мМ нітрату срібла AgNO₃, інкубували протягом 24 год при кімнатній температурі в орбітальному шейкері при 150 об/хв. Синтезовані наночастинки срібла (AgNPs) сферичної форми, а середній розмір становить близько 15 нм. Пік довжини хвилі поверхневого плазмонного резонансу знаходився в діапазоні 410-440 нм.

Використовуючи бактеріальну культуру *Bacillus subtilis* досліджено синтез наночасток золота (AuNPs). Для вирощування культури використовували поживний бульйон. Інкубували протягом 24 годин при 34°C. Для синтезу AuNPs використовували супернатант, який отримували шляхом центрифугування при 10000 об/хв протягом 5 хв. ДО отриманого супернатанту додають 1 мМ H₂AuCl₄ тетрахлораурат (III) водню, добре перемішують та інкубують при кімнатній температурі протягом 24 годин. Отримані AuNPs розміром 2-100 нм, а пік довжини хвилі поверхневого плазмонного резонансу становить близько 530 нм (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

У табл. 3.3 наведено порівняльну характеристику технологічних особливостей одержання наночасток благородних металів з використанням різних культур, та різних поживних середовищ.

Таблиця 3.3

Порівняльна характеристика складу поживного середовища та умов культивування

Біологічний агент	Склад поживного середовища, г/л	Тривалість культивування, год	Особливості процесу біосинтезу	Розмір наночастинок, нм	Література
<i>Aspergillus terreus</i> AREF023	Картопляно-декстрозний бульйон (PDB): картопляний екстракт – 4 декстроза – 20 HAuCl ₄ – 1мМ (0,34 г/л)	264	26 °С, 240 годин, 180 об/хв, темрява – для накопичення біомаси, 40 °С, 24 години, 150 об/хв, рН=8,0 – для синтезу наночасток.	AuNPs 10±1	Mishra, Kalra, Dilawari, Goel, & Barrow, 2022
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Картопляно-декстрозний бульйон (PDB): картопляний екстракт – 4 декстроза – 20 AgNO ₃ – 1мМ (0,17 г/л)	240	28°C ± 0,5°C, 150 об/хв ,7 днів – для накопичення біомаси, 27°C, 150 об/хв, 72 годин – для синтезу наночасток.	AgNPs 2,43-53,5	Rahi, Manhas, Kaur, Malik, & Rahi, 2018
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Середовище Лурія-Бертані: NaCl – 10 дріжджовий екстракт – 5 триптон – 10 канаміцин - 0,05 AgNO ₃ – 1мМ (0,17 г/л)	96	72 год, 30°C, 120 об/хв – для накопичення біомаси, 24 год, кімнатна температура, 150 об/хв – для синтезу наночасток	AgNPs 15	Gowramma, Keerthi, Rafi, & Muralidhara Rao, 2014
<i>Bacillus subtilis</i>	Поживний бульйон: пептон – 5 м'ясний екстракт – 1,5 дріжджовий екстракт – 1,5 NaCl – 1,5 HAuCl ₄ – 1мМ (0,34 г/л)	48	24 год, 34°C – для накопичення біомаси, 24 год, кімнатна температура – для синтезу наночасток	AuNPs 2-100	Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013

Основною вимогою до продуцентів є здатність до росту на дешевих середовищах. Отже, наступний етап вибору біологічного агента – розрахунок та порівняння вартості поживних середовищ для культивування.

У табл. 3.4 представлено порівняння вартості поживних середовищ для синтезу наночасток.

Таблиця 3.4

Вартість компонентів поживного середовища для синтезу наночасток

Продуцент	Компонент поживного середовища, г/л	Ціна компонента, грн./кг	Вартість компонента (грн.) на 1 л середовища	Джерело інформації*
<i>Aspergillus terreus</i> AREF023	Картопляно-декстрозний бульйон (PDB)			
	Картопляний екстракт, 4	11,8	0,0472	1
	Декстроза, 20	140	2,8	2
	HAuCl ₄ – 1мМ (0,34 г/л)	900	0,31	3
	Вартість 1 л середовища – 3,16 грн			
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Картопляно-декстрозний бульйон (PDB)			
	Картопляний екстракт, 4	11,8	0,0472	1
	Декстроза, 20	140	2,8	2
	AgNO ₃ – 1мМ (0,17 г/л)	24500	4,17	4
	Вартість 1 л середовища – 7,02 грн			
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Середовище Лурія-Бертані			
	NaCl, 5	15	0,075	5
	Дріжджовий екстракт, 5	2918	29,18	6
	Триптон, 10	4804	48,04	7
	Канаміцин, 0,05	15480	0,77	8
	AgNO ₃ – 1мМ (0,17 г/л)	24500	4,17	4
	Вартість 1 л середовища – 82,24 грн			
<i>Bacillus subtilis</i>	Поживний бульйон			
	Пептон, 5	3840	19,2	9
	М'ясний екстракт, 1,5	7296	10,94	10
	Дріжджовий екстракт, 10	2918	29,18	6
	NaCl, 5	15	0,075	5
	HAuCl ₄ – 1мМ (0,34 г/л)	900	0,31	3
	Вартість 1 л середовища – 59,71 грн			

Примітка. * - Ціни наведено станом на грудень 2022. 1 - https://www.ukr-produkt.com/product-page/%D0%BA%D0%B0%D1%80%D1%82%D0%BE%D0%BF%D0%BB%D1%8F-%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%B0-%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%B0?gclid=EAIaIqobChMIqpKGp7OD_AIVwqfVCh3PTA46EAQYAYABEg_LujfD_BwE, 2 - <https://prom.ua/ua/p1612496739-dekstroza-250g-provita.html>, 3 - <https://russian.alibaba.com/p-detail/High-1600627111664.html?spm=a2700.8699010.29.12.73466828cLKxEK>, 4- https://www.covalent.com.ua/ru/shop/silver_nitrate/, 5 - <https://novohim.com.ua/ru/catalog/promyshlennaya-khimiya-i-syre/natrij-xloristyj-sol/>, 6- <https://prom.ua/ua/p1310539165-drozhzhevoj-ekstrakt-condal.html>, 7- <https://prom.ua/ua/p1310539152-agar-tripton-soevyj.html>, 8 - <https://apteka-ds.com.ua/product/kanamitsyn-poroshok-dlya-ineksiy-1-h-1-flakon-000025234>, 9 - https://chemtest.com.ua/pepton_fermentativnyj, 10- <http://lab->

mir.com/index.php/%D0%BA%D0%B0%D1%82%D0%B0%D0%BB%D0%BE%D0%B3/%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%81%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%8B/%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D1%81%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%8B-%D0%BF%D1%80-%D0%B2%D0%B0-%D0%B8%D0%BD%D0%B4%D0%B8%D1%8F/39448-detail.html

Проаналізувавши дані табл. 3.4 можна зробити висновок, що середовище, яке використовується для синтезу наночастинок срібла *Aureobasidium pullulans* та для синтезу наночастинок золота *Aspergillus terreus* AREF023 є найдешевшими (7,02 грн), а синтез наночастинок срібла *Corynebacterium glutamicum* потребує середовища із вартістю 82,24 грн і синтез наночастинок золота *Bacillus subtilis* 59,71 відповідно.

Завершальний етап вибору біологічного агента - розрахунок умовної вартості 1 нм наночастинок і кількості утворених частинок за годину (табл.3.5).

Таблиця 3.5

Умовна вартість наночастинок

Біологічний агент	Вартість 1 л середовища, грн	Розмір частинок, нм	Умовна вартість 1 нм, грн./нм	Тривалість культивування, год	Кількість утворених нм частинок за годину, нм /год
<i>Aspergillus terreus</i> AREF023	7,02	10±1	0,70-0,64	264	0,04
<i>Aureobasidium pullulans</i>	7,02	2,43-53,5	2,89-0,13	240	0,01-0,22
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	82,24	15	5,48	96	0,16
<i>Bacillus subtilis</i>	59,71	2-100	29,86-0,6	48	0,6-0,01

Отже, умовна вартість 1 нм частки при культивуванні *Bacillus subtilis* є найвищою серед всіх згаданих, проте варіація розмірів є найвищою, тому найкращим біологічним агентом для синтезу наночастинок золота є *Bacillus subtilis* та поживний бульйон як середовище для культивування AuNPs.

3.3. Розрахунок річної потужності виробництва

За даними Державної служби статистики України у 2021 році урожайність овочів та фруктів становила 30,1 тис.т/рік. Оскільки біотехнологія отримання препарату з наночастками золота ще не досить налагоджений процес, то для більш ефективного планування технологічного проекту виробництва сформуємо мету

проектування у вузькомасштабних межах, а саме пропонується забезпечити цим антимікробним засобом Київську область для обробки 0,1% урожайності винограду.

Обсяг виробництва винограду на 01 грудня 2021 року у Київській області становить 25,7 тис. ц, що дорівнює 2570 тис. кг (рис. 3.1).

Динаміка обсягу виробництва винограду на 01 грудня 2021 року ^{1,2}							
Dynamics of grapes production as of 01 December 2021 ^{1,2}							
(тис.ц / thsd. centner)							
	Господарства усіх категорій / All agricultural holdings		Підприємства / Enterprises		Господарства населення / Households		
	2021	2021 у % до / % to 2020	2021	2021 у % до / % to 2020	2021	2021 у % до / % to 2020	
Україна	2353,4	87,4	729,4	83,5	1624,0	89,3	Ukraine
Вінницька	35,0	94,2	–	–	35,0	94,2	Vinnitsya
Волинська	2,6	98,9	–	–	2,6	98,9	Volyn
Дніпропетровська	75,3	78,1	к	к	к	к	Dnipropetrovsk
Донецька	49,7	95,8	к	к	к	к	Donetsk
Житомирська	0,7	109,3	–	–	0,7	109,3	Zhytomyr
Закарпатська	283,8	106,4	к	к	к	к	Zakarpattia
Запорізька	37,8	77,6	к	к	к	к	Zaporizhzhya
Івано-Франківська	8,3	102,1	–	–	8,3	102,1	Ivano-Frankivsk
Київська	25,7	120,6	–	–	25,7	120,6	Kyiv
Кіровоградська	30,2	94,2	–	–	30,2	94,2	Kirovohrad
Луганська	28,0	104,2	–	–	28,0	104,2	Luhansk
Львівська	13,2	98,9	–	–	13,2	98,9	Lviv
Миколаївська	177,3	81,3	155,3	83,8	22,0	67,0	Mikolayiv
Одеська	1419,8	89,4	524,9	87,5	894,9	90,6	Odesa
Полтавська	27,4	100,6	0,0	131,9	27,4	100,6	Poltava
Рівненська	3,2	97,7	–	–	3,2	97,7	Rivne
Сумська	2,2	82,8	–	–	2,2	82,8	Sumy
Тернопільська	1,8	103,3	–	–	1,8	103,3	Ternopil
Харківська	5,4	78,3	к	к	к	к	Kharkiv
Херсонська	92,2	46,0	42,5	61,9	49,7	37,7	Kherson
Хмельницька	5,9	90,7	–	–	5,9	92,7	Khmelnytskyi
Черкаська	12,1	71,4	–	–	12,1	71,4	Cherkasy
Чернівецька	12,2	104,2	–	–	12,2	104,3	Chernivtsi
Чернігівська	3,6	117,8	–	–	3,6	117,8	Chernihiv

Рис. 3.1 Динаміка обсягу виробництва винограду на 01 грудня 2021

Встановлено, що наночастки золота ефективно інгібують харчові патогени у концентрації 200 мкг/мл при одноразовій обробці (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

Для обробки пропонується використання зрошувального методу обробки плодів винограду із розрахунку 1 л розчину на $1,5 \text{ м}^3 \approx 50 \text{ кг}$ продукції. Тоді для обробки 2570 тис. кг продукту нам необхідно 51 400 л розчину. Для обробки 0,1% урожаю необхідно 51,4 л $\approx 51 \text{ л}$. Отже, при концентрації оброблюваного розчину 200 мкг/мл необхідно отримати 10,2 г наночасток золота.

Для подальших розрахунків необхідно врахувати наступні дані:

Для біогенного синтезу використовують супернатант *Bacillus subtilis* ((Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013). З 1 літра культуральної рідини отримують 950 мл супернатанту.

1) Для біогенного синтезу наночасток золота використовують 1мМ тетрахлораурата водню (III) (HAuCl_4), що дорівнює 0,197 г золота, на 0,95 л супернатанту. Отже, для отримання 10,2 г наночасток золота необхідно використати 52 мМ HAuCl_4 .

2) Враховуючи, що біоредукція золота становить максимум 30%, з 0,197 г відновиться 0,0591 г. Отже, для отримання 10,2 г наночасток золота необхідно використати у 3,3 рази більше золота, що буде становити 172 мМ HAuCl_4 .

Отже, кількість супернатанту, необхідного для отримання 10,2 г наночасток становить:

$$1 \text{ мМ} - 0,95 \text{ л}$$

$$172 \text{ мМ} - X \text{ л}$$

$$X = 163,4 \text{ л}$$

Враховуючи сумарні втрати цільового продукту при виділенні (20%), необхідно отримувати таку кількість супернатанту:

$$V_{\text{кр}} = \frac{163,4}{1 - (0,1 + 0,1)} = 204 \text{ л}$$

Для отримання 163,4 л супернатанту необхідно одержувати 204 л культуральної рідини.

3.3.1. Розрахунок річної потужності виробництва субстанції, об'єму ферментера та кількості виробничих циклів.

З метою забезпечення обробки антимікробним засобом з наночастками золота 0,1% урожаю винограду у Київській області необхідно отримати 204 л культуральної рідини.

Кількість культуральної рідини за цикл ферментації. Прийmemo кількість робочих днів $T_{\text{рд}} = 60$, тоді розрахуємо кількість продукту на добу:

$$V_{\text{д}} = \frac{V_{\text{гп}}}{T_{\text{рд}}} = \frac{204}{60} = 3,4 \text{ л}$$

Кількість продукту за один цикл ($V_{\text{кр}}$) становитиме:

$$V_{\text{кр}} = \frac{K_1 \times V_{\text{д}} \times T_{\text{цф}}}{24} = \frac{1,1 \times 3,4 \times 32,5}{24} = 5,1 \text{ л/цикл},$$

де K_1 – коефіцієнт запасу, що враховує можливість нестерильних операцій ($K_1 = 1,1$); $T_{цф}$ – цикл роботи ферментера, який включає в себе тривалість виробничого біосинтезу (24 год) та час підготовки ферментера до роботи. Підготовка ферментера включає: миття та огляд (1,5 год), перевірка на герметичність (1 год), підігрів апарату (0,5 год), стерилізація апарату (1 год), охолодження апарату (1 год), завантаження середовища (2 год), засів (0,5 год), вивантаження культуральної рідини (1 год).

$$\text{Отже, } T_{цф} = 24 + 1,5 + 1 + 0,5 + 1 + 1 + 2 + 0,5 + 1 = 32,5 \text{ год}$$

Кількість циклів:

$$N_{цк} = \frac{V_{гп}}{V_{кр}} = \frac{204}{5,1} = 40 \text{ циклів}$$

3.3.2. Розрахунок кількості стадій підготовки посівного матеріалу

Для того, щоб отримати за один цикл $V_{кр} = 5,1$ л культуральної рідини необхідно врахувати втрати у результаті краплевиносу через колектор відпрацьованого повітря, які становитимуть 15%. Отже кількість поживного середовища і посівного матеріалу перед виробничим біосинтезом у самому ферментері буде становити:

$$V_{роб} = V_{кр} / (1 - E_{ф}) = 5,1 / (1 - 0,15) = 6 \text{ л}$$

де $E_{ф}$ – втрати культуральної рідини під час біосинтезу

Обравши коефіцієнт заповнення ($K_{зап} = 0,6$), розрахуємо можливий геометричний об'єм ферментера ($V_{ф}$):

$$V_{ф} = V_{роб} / K_{зап} = 6 / 0,6 = 10 \text{ л}$$

Приймемо найближчий за об'ємом стандартний ферментер: $V_{сф} = 10$ л та уточнимо, прийнятий нами раніше, коефіцієнт заповнення:

$$K_{зап} = V_{роб} / V_{сф} = 6 / 10 = 0,6$$

Уточнений коефіцієнт заповнення перебуває у вибраних межах (0,5-0,7), тому геометричний об'єм ферментера вибрано вірно. Кількість посівного матеріалу для ферментера становитиме 2% від об'єму самого поживного середовища. Отже, кількість поживного середовища в ферментері буде становити:

$$V_{пс} = V_{роб} / (1 + X_{вф}) = 6 / (1 + 0,02) = 5,9 \text{ л}$$

де $X_{\text{вф}}$ – доза посівного матеріалу для ферментера.

Тоді кількість посівного матеріалу відповідно:

$$V_{\text{пм}} = V_{\text{роб}} - V_{\text{пс}} = 6 - 5,9 = 0,1 \text{ л}$$

Для цього використовуємо качалочні колби об'ємом $V_{\text{колб}} = 750$ мл та коефіцієнтом заповнення $K_{\text{зк}} = 0,2$. Тоді кількість колб для посівного матеріалу становитиме:

$$N_{\text{колб}} = V_{\text{пм}} / (V_{\text{колб}} \times K_{\text{зк}}) = 100 / (750 \times 0,2) = 1 \text{ качалочна колба}$$

Отже, процес отримання посівного матеріалу для забезпечення виробничого біосинтезу наночасток золота буде проходити у один етап: 1 – вирощування у лабораторії (на скошеному агаризованому середовищі в пробірках і на рідкому поживному середовищі в колбах на качалці); 2 – виробничий біосинтез в апараті об'ємом $0,01 \text{ м}^3$.

3.4. Обґрунтування вибору товарної форми випуску цільового продукту мікробного синтезу

Відповідно до техніко-економічного обґрунтування, передбачається виробництво препарату з наночастками золота та бактеріоцином для покриття потреб Київської області у обробці $0,1\%$ урожайності винограду (Thirumugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

Варто зазначити, що річне виробництво цільового продукту розраховане на невеликі обсяги продукції, а готовий препарат буде використовуватись для обробки невеликих площ виноградників. Саме тому при виборі упаковки необхідно враховувати властивості цільового продукту та і умови його зберігання. Необхідно обрати таку тару і, яка захищала б цільовий продукт від пошкоджень і, сприяла безпечному транспортуванню, тривалому зберіганню та продажу.

Вибір упаковки та первинної тари проводиться індивідуальної в кожному конкретному випадку і залежить від властивостей інгредієнтів. Найважливішою вимогою щодо пакування та і вибору пакувальних матеріалів є належний захист від дії зовнішніх факторів (вологи, кисню повітря, мікробного забруднення), властивостей складових препаратів.

Використання полімерних упаковок дозволяє утримувати розчини наночасток золота в поєднанні з бактеріоцином в у безперервному автоматизованому комплексі (за асептичних умов, протягом одного технологічного циклу), а саме: формування первинної упаковки зі термопластичного гранулята, дозування розчину, герметизація упаковки, нанесення необхідного маркування.

Досягається також належний захист які самої упаковки, так і розчину від мікробного забруднення, збереження стерильності та апірогенності в процесі виготовлення та зберігання.

Найбільш перспективними для використання таро закупорювальних засобів подібних розчинів є: поліетилен низького, середнього та високого тиску, поліпропілен, полістирол, фторопласті, полікарбонат та їх комбінації, а також поліетилені та полівінілхлорид. Полімерна упаковка може мати форму і туби, каністри, пляшки, флакона, пакета, шприц-туби. Оскільки планується виробництво готового до використання розчину, тому для використання первинного пакування пропонуються флакони об'ємом 1 л (Лич, 2017).

Такий тип упаковки забезпечує:

- Міцність. Тара витримує удари і не тріскається при падінні;
- Легкість. Порожня тара без продукту важить вкрай мало, це дозволяє по максимуму економити на транспортуванні, оскільки вага брутто не сильно відрізняється від ваги нетто;
- Герметичність. Кришка щільно закупорює ємність, що дозволяє довго зберігати продукт, підвищує стійкість до зовнішнього впливу і виключає змішання з сторонніми запахами;
- Низька вартість. Тара з поліпропілену відрізняє низька ціна на тлі інших варіантів упаковок;
- Можливість багаторазового використання;
- Вторинна переробка;
- Довговічність. Тара не псуватися і не гниє в процесі використання, не набирає в себе сторонні запахи, легко відмивається за допомогою води (Лич, 2017).

Фасувальна машина для малотоннажного виробництва буде не доцільна: зайві кошти на обслуговування та не ефективність багатьох апаратів при низькій продуктивності. Тому краще обрати фасування вручну, що зекономить кошти та час етапу пакування готової продукції.

Додатково на пакуванні з препаратом повинна бути розміщена етикетка. На етикетці має міститись наступна інформація: назва самого препарату, адреса виробництва, склад препарату, вміст діючої речовини, інструкцію по використанню, тощо (Лич, 2017).

Останній етап – пакування у коробки – найдоцільніше здійснювати вручну, оскільки враховуючи невелику кількість препарату, кількість флаконів є досить невеликою.

Окрім, типу фасування та форми маркування важливим фактором є умови та термін зберігання. Упаковану продукцію зберігають у складських приміщеннях або в холодильних камерах, приміщення повинні бути добре вентильованими та провітрюваними, та відповідати належному температурному режиму від +5 до +18°C. Приміщення зберігання повинно бути захищеним від впливу прямих сонячних променів, джерел тепла і вологи (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ

Після завершення біосинтезу, культуральна рідина окрім цільового продукту містить ще залишки поживного середовища, продукти метаболізму та біомасу продуцента.

Наночастинки золота синтезуються використовуючи супернатант *Bacillus subtilis* та є екзометаболітом. Враховуючи вищезазначене процедура очистки синтезованих часток буде дещо скороченою.

Товарними формами продуктів можуть бути сухі порошкоподібні продукти або рідкі концентрати. У даній роботі пропонується виготовлення рідкого концентрованого засобу для післязбиральної обробки плодів винограду. Термін зберігання рідких концентратів є коротшим ніж термін зберігання сухого порошку, проте у використанні рідкі концентрати переважають над сухими порошкоподібними засобами.

4.1. Обґрунтування способу відокремлення наночастинок золота

Основним завданням на даному етапі є відокремлення з супернатанту наночастинок золота з найменшими втратами, що дозволяють забезпечити успішне проведення подальших операцій очищення (Карлаш, & Заєць, 2018).

Існує декілька способів відокремлення біомаси продуцента і твердої суспензії середовища, такі як флотація, центрифугування, фільтрування, сепарування, осадження.

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 4. ОБГРУНТУВАННЯ ЕТАПІВ ВИДІЛЕННЯ ТА ОЧИСТКИ ЦІЛЬОВОГО ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Росик О.О.						
Перевір.		Скроцька О.І.					63	93
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.				63		

Флотація – суть методу полягає у вспінненні культуральної рідини з подальшим концентруванням продуктів синтезу у пінній фракції.

Перевагами даного методу є економічність, висока продуктивність та можливість використання у безперервних процесах (Лисицька, & Горова, 2021).

Для одержання супернатанту культуральної рідини флотацію не доцільно використовувати, оскільки відбувається неповне відділення біомаси, що в подальшому заважатиме досягненню високого ступеня очистки продукту. Даний метод найчастіше використовують при виробництві продуктів на основі біомаси, наприклад кормові дріжджі (Карлаш, 2013).

Фільтрація – це пропускання суспензії через фільтруючий матеріал, на якому затримуються частинки біомаси (тверда фаза).

Перевагами методу є його простота, невеликі енерговитрати та висока селективність.

Проте недоліками фільтрації є:

- налипання клітин на фільтрі, шар яких знижує швидкість потоку рідини в процесі фільтрування;
- енергоємність та довго тривалість процесу;
- регулярна заміна фільтруючих перегородок (Лисицька, & Горова, 2021).

Осадження (седиментація) - це процес розшарування дисперсних систем під дією сили тяжіння і відділення дисперсної фази в вигляді осаду. Седиментаційна стійкість тісно пов'язана із процесом осідання частинок, зумовлена лише їх розміром. У будь-якій суспензії тверді частки речовини будуть седиментуватися (осідати) зі швидкістю, що залежить від ступеня дисперсності твердих часток і деяких інших факторів.

Процес осадження включає наступні етапи:

1. **Наповнення:** Рідина або суспензія вводиться в осадник, і частинки в ній поступово осідають.
2. **Осадження:** Тверді частинки, під впливом гравітації опускаються вниз і осідають на дно осадника.

3. **Видалення відстію:** Чиста рідина виходить зверху осадника, після чого може пройти додаткові етапи очищення, якщо це необхідно (Лисицька, & Горова, 2021).

Найпростіший приклад седиментації – відстоювання – застосовують у таких випадках:

- 1) при діаметрі часток більше 3 мкм, коли броунівський рух істотно не впливає на процес відстоювання;
- 2) при отриманні стабільних продуктів, коли фактор часу не має вирішального значення;
- 3) за нижчих порівняно з іншими методами витрат;
- 4) в особливих випадках, коли необхідно розділити частки на фракції за розміром або щільністю на підставі різних швидкостей їх осадження;
- 5) якщо необхідно попередньо розділити суспензію на дві фракції – осад і надосадову рідину, які надалі можна обробляти на різному обладнанні.

Недоліком методу є незначна швидкість осадження біомаси з культуральної рідини - близько 10^{-6} – 10^{-7} м/с (Кравченко, Савчук, & Остапченко, 2019).

Сепарування - це процес розділення різних компонентів чи фаз одного матеріалу з метою отримання окремих частин або продуктів. Найчастіше використовують для розділення, концентрування, очищення, прояснювання, для поетапної обробки рідини, наприклад, послідовного відділення грубодисперсного осаду з тонкодисперсних суспензій (Карлаш, 2013).

Основні переваги сепарування – висока продуктивність і високий ступінь концентрування, що дозволяють успішно конкурувати з іншими способами отримання й концентрування як у промислових, так і в лабораторних умовах.

Цей спосіб дорожчий, ніж фільтрування, тому він застосовується, якщо:

- а) суспензія фільтрується занадто повільно;
- б) виникає необхідність максимального звільнення культуральної рідини від часток, що містяться в ній;
- в) необхідно забезпечити безперервний процес сепарації, коли фільтри розраховані на періодичну дію (Кравченко, Савчук, & Остапченко, 2019).

Істотним недоліком сепараторів є швидка забиваємість мундштуків і міжтарільчатого простору механічними включеннями (Карлаш, 2013).

Центрифугування - процес розділення рідких неоднорідних систем у полі дії відцентрових сил. У мікробіологічній промисловості центрифуги широко використовують для розділення суспензій на рідину й тверду фазу. Залежно від властивостей дисперсних систем центрифугування здійснюють методами відцентрового фільтрування й осідання.

Центрифуги поділяються на фільтруючі та відстійні.

Фільтруючі центрифуги застосовують для обробки суспензій, що містять більше 10% дрібнозернистої, переважно розчинної твердої фази.

Відстійні центрифуги використовують для поділу малоконцентрованих суспензій з нерозчинною твердою фазою (розмір часток 5-40 мкм), для розділення емульсій за допомогою осадження дисперсних частинок під впливом відцентрових сил.

Швидкість розділення сумішей в центрифугах значно вища, ніж у фільтрах і відстійниках, завдяки більшій рушійній силі, що виникає при обертанні ротора центрифуги разом з суспензією, що знаходиться в ньому, або емульсією (Карлаш, 2013).

Даний спосіб вимагає більш дорогого устаткування, ніж фільтрування, проте даний метод найдоцільніше використовувати для виділення наночастинок золота, оскільки він має такі переваги:

- а) відокремлення відбувається набагато швидше, ніж при фільтрації;
- б) відбувається максимальне очищення культуральної рідини від біомаси та залишків компонентів поживного середовища;
- в) висока продуктивність;
- г) можливість застосування для суспензій з високою концентрацією твердих частинок (Лисицька, & Горова, 2021).

Отже, найкращим способом відділення наночастинок золота від культуральної рідини є центрифугування.

Так як культуральна рідина містить наночастки золота та містить залишки субстрату, то найдоцільніше використовувати відстійну центрифугу (Карлаш, 2013).

Об'єм культуральної рідини, який надходить на процес центрифугування невеликий і становить 2,8 л. Пропонується використання центрифуги PowerFuge P6 (рис. 4.1) – це двохфазна центрифуга, потужна система періодичного розділення рідини/твердої речовини для бактерій, дріжджів, білків і субмікронних частинок. Ємність – 1,1 л, проточна швидкість – 0,1-1 л/хв, швидкість – 15,325 об/хв, габаритні розміри 1015 x 816 x 990 мм (Powerfuge®P6, електронний ресурс).



Рис.4.1. Центрифуга PowerFuge P6

Після процесу центрифугування відділені наночастки золота промивають деіонізованою водою для остаточного відділення залишків поживного середовища та біомаси.

РОЗДІЛ 5. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ

5.1. Обґрунтування вибору способу культивування і типу ферментера

Для визначення типу ферментера при накопиченні біомаси *Bacillus subtilis* необхідно чітко визначити умови проведення процесу, які потрібно забезпечити. Ці умови безпосередньо залежать від способу культивування і фізіолого - біохімічних особливостей продуцента. Враховуючи те, що *Bacillus subtilis* є аеробом, то необхідним є встановлення барботера, який забезпечить безперервну подачу стерильного повітря (аерація становить 1 об'єм повітря на 1 об'єм середовища за 1 хв у ферментері) і додаткове перемішування.

Для покращення тепло- і масообміну ферментер має бути обладнаний перемішуючим пристроєм. Масообмін визначається транспортом біогенних елементів із середовища в мікробну клітину і відведенням з неї продуктів обміну. Окрім цього, концентрація клітин і розчиненого субстрату мають бути рівномірними в усьому об'ємі ферментера. Тому перемішування є одним з основних чинників, що забезпечують необхідний гідродинамічний стан в апараті. Ферментер із встановленою *Bacillus subtilis* лопатевою мішалкою буде забезпечувати перемішування культуральної рідини та рівномірний розподіл біомаси по всьому об'єму ферментера.

Культивування *Bacillus subtilis* необхідно здійснювати за температури 34 °С (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013). Це зумовлює ризик контамінації сторонніми мезофільними мікроорганізмами. Тому необхідним є забезпечення асептичних умов під час засіву поживного середовища посівним матеріалом. Чистота процесу культивування створюється за рахунок стерилізації обладнання, комунікацій та поживного середовища. Для запобігання контамінації у ферментері створ.ється надлишковий тиск.

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ						
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата							
Розроб.		Росик О.О.			РОЗДІЛ 5. ПІДБІР ТЕХНОЛОГІЧНОГО ОБЛАДНАННЯ З ВРАХУВАННЯМ МАТЕРІАЛЬНИХ ПОТОКІВ ПО СТАДІЯХ			Літ.	Арк.	Аркушів	
Перевір.		Скороцька О.І.								68	93
Консультант								Кафедра БТМ			
Н. Контр.											
Затверд.		Стабніков В.П.									
									68		

Оскільки виробництво наночастинок золота не потребує створення великих запасів, то доцільним є застосування періодичного способу культивування.

Процес утворення наночастинок золота використовуючи *Bacillus subtilis*:

після з'єднання супернатанту на 1М тетрахлороаурату (III) водню відбувається відновлення водних іонів хлораурату у наночастинки золота (AuNPs). Встановлено, що *Bacillus subtilis* виділяє кофактор НАДН⁺ і НАДН-залежні ферменти, які відповідають за біовідновлення іонів Au(³⁺) до іонів Au(⁰) та сприяють подальшому утворення наночастинок золота. Зменшення потенціалу ініційоване перенесенням електрона від НАДН за допомогою НАДН-залежної редуктази як переносника електронів. Потім іони золота отримують електрони і відновлюються до Au (0) (рис. 5.1)

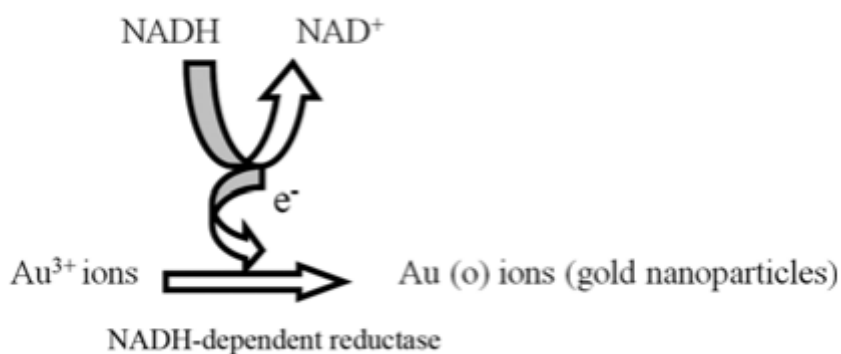


Рис.5.1. Механізм утворення наночастинок золота при культивуванні *Bacillus subtilis*

У результаті проведеного аналізу, можна порекомендувати ферментер BIOSTAT Cplus об'ємом 10 л для виробничого культивування. Ферментер (рис. 5.2) обладнаний лопатевою мішалкою, відбійниками, барботером, клапаном для відбору проб, датчиками контролю швидкості мішалки, температури, рН, аерації, рівня піни, фільтрами, лінією газопостачання та конденсатором (BIOSTAT Cplus, електронний ресурс).



*Рис.5.2. Ферментер BIOSTAT Cplus для культивування *Bacillus subtilis* з метою одержання наночасток золота*

5.2. Особливості підготовки та стерилізації поживного середовища

Наночастки золота (AuNPs) можна отримати при синтезі *Bacillus subtilis* з тетрахлороаурат (III) водню (HAuCl_4).

Для культивування грампозитивної бактерії *Bacillus subtilis* з метою отримання метаболітів використовується поживне середовище (поживний бульйон) наступного складу (г/л):

- пептон – 5;
- м'ясний екстракт – 1,5;
- дріжджовий екстракт – 1,5;
- NaCl – 1,5.

Одержання наночасток золота здійснюється у ферментері об'ємом $0,01 \text{ м}^3$, що містить 5,9 л поживного середовища. Одержання інокуляту відбувається одноетапно – у колбах на качалці.

5.2.1 Приготування та стерилізація поживного середовища

Для стадії підготовки посівного матеріалу потрібно приготувати 0,1 л поживного середовища. Усі компоненти пропонується стерилізувати одночасно у автоклаві. Режим стерилізації 112°C , 30 хв.

Для стадії виробничого культивування потрібно приготувати 0,59 л поживного середовища. Усі компоненти пропонується стерилізувати одночасно у ферментері. Режим стерилізації 112 °C, 30 хв.

5.2.2 Приготування розчину тетрахлороаурату (III) водню

Для процесу біосинтезу необхідно підготувати 1М розчин тетрахлороаурату (III) водню.

На один цикл біосинтезу до супернатанту необхідно додати тетрахлороаурат (III) водню у кількості 1 мМ, що в свою чергу, становитиме 1 мл 1М тетрахлороаурату (III) водню. На весь період виробництва необхідно 40 мл 1М HAuCl_4 . Таку кількість тетрахлороаурату (III) водню можливо приготувати у колбі об'ємом 100 мл.

Узагальнена інформація про особливості приготування композицій поживного середовища наведена у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Розрахунок вмісту та особливості приготування компонентів поживного середовища

Об'єм поживного середовища, л	Компоненти поживного середовища		1 М HAuCl_4	
	Вміст, г	Особливість приготування	Об'єм, мл	Особливість приготування
0,1	0,95	У колбі 200 мл	—	—
5,9	56,1	У ферментері 0,01 м ³	40	У колбі 100 мл

РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ

Специфікація обладнання, зображеного на апаратурній схемі, наведена у табл. 6.1.

Таблиця 6.1

Специфікація обладнання ділянки допоміжних робіт та виробничого біосинтезу наночасток золота

Позиція	Найменування	Кількість	Технічна характеристика (виробник)*
Д-1	Ваговий дозатор	1	Поршневий рідинний дозатор ДЖ-100 з діапазоном фасування 100-1000 мл ("PackTech", Україна) [1]
ФР-2	Ферментер	1	Пілотний ферментер BIOSTAT Cplus з нержавіючої сталі марки AISI 316, робочий об'єм 10 л, швидкість перемішування 20-1000 об/хв. Габаритні розміри: 700x400x300 мм ("Sartorius", Фінляндія) [2]
Н-3 Н-5 Н-7 Н-9	Насос	4	Перистальтичний насос KRONOS 65 FM25 ("SEKO", Італія) [3]
Ц-4 Ц-10	Центрифуга	2	Центрифуга PowerFuge P6, ємність – 1,1 л, швидкість потоку до 60 л/год для партій до 100 л, габаритні розміри 66 x 139 x 180,4 см ("Carr", США) [4]
Ф-6	Фільтр	1	Катриджний фільтр Biofil ("Porvair", США) [5]
Р-8	Реактор для біосинтезу	1	Реактор з нержавіючої сталі («Стройторгсервис», Україна) [6]

*Примітка: підбір обладнання здійснювався за допомогою наступних інтернет-ресурсів:

1. Поршневий рідинний дозатор ДЖ-100. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://packtech.com.ua/uk/obladnannya/dozuvalne/dozatory-ridkykh-produktiv/dzh-100>
2. BIOSTAT Cplus. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://sartorius-sd.com.ua/index.php/%D1%81%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BB%D0%B8%D0%B7%D1%83%D0%B5%D0%BC%D1%8B%D0%B5-%D0%BD%D0%B0-%D0%BC%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%B5-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D1%80%D0%B5%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%8B/biostat%C2%AE-cplus.html>
3. Перистальтичний насос Kronos. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://doznasos.com.ua/uk/katalog-produkcii/nasosy-dozatory-2/peristaltichni-nasosy-dozatory/seko-kronos-2/>
4. Powerfuge®P6. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.carrbiosystems.com/products/stainless-steel-centrifuges/powerfuge-p6-stainless-steel-centrifugation>
5. Biofil™ Plus Polyethersulphone Membrane Cartridge Filters. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://www.porvairfiltration.com/220-biofil-plus-polyethersulphone-membrane-cartridge-filters.html>
6. Реактор фармацевтичний, хімічної, харчової. GMP. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <https://stprom.com.ua/ua/p16779567-reaktor-farmatsevticheskij-himicheskij.html>

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.	Росик О.О.				РОЗДІЛ 6. СПЕЦИФІКАЦІЯ ОБЛАДНАННЯ	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.	Скроцька О.І.						72	93
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.							

РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ

Технологічна схема отримання наночастинок золота включає допоміжні роботи (підготовка і стерилізація поживних середовищ та 1М розчину тетрахлороаурат (III) водню), технологічний процес (підготовка посівного матеріалу, виробниче культивування *Bacillus subtilis*, відділення супернатанту, біосинтез наночастинок золота).

Технологічну схему отримання наночастинок золота наведено у графічній частині проекту.

ДР 1. Приготування та стерилізація розчину тетрахлороаурату (III) водню.

ДР 1.1. Приготування і стерилізація розчину тетрахлороаурату (III) водню для біосинтезу.

На технічних терезах зважують 13,9 г тетрахлороаурату (III) водню, поміщають у колбу об'ємом 100 мл, доводять об'єм до 40 мл питною водою, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують у автоклаві при 131 °C упродовж 40 хв. Приготований розчин надходить до стадії *ТП 4.4*.

ДР 2. Приготування та стерилізація поживних середовищ.

ДР 2.1. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування інокуляту в колбах на качалках.

Для вирощування інокуляту в колбах на качалках необхідно приготувати 100 мл поживного середовища. Джерелом вуглецю в середовищі є пептон, джерелом азоту – дріжджовий екстракт. Вміст компонентів для приготування 100 мл середовища наведено у табл. 7.1.

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 7. ОПИС ТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.	Росик О.О.						73	93
Перевір.	Скроцька О.І.							
Консультант								
Н. Контр.								
Затверд.	Стабніков В.П.					Кафедра БТМ		73

Таблиця 7.1

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 0,1 л середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 0,1 л середовища, г
Пептон	5	0,5
М'ясний екстракт	1,5	0,15
Дріжджовий екстракт	1,5	0,15
NaCl	1,5	0,15

На технічних терезах зважують 5 г пептону та по 0,15 г м'ясного екстракту, дріжджового екстракту та NaCl. Отриману наважку компонентів поміщають у колбу об'ємом 200 мл, доводять об'єм до 100 мл питною водою, перемішують. Закривають колбу ватно-марлевою пробкою і стерилізують у автоклаві при 112 °С упродовж 30 хв.

ДР 2.2. Приготування та стерилізація поживного середовища для вирощування культури у ферментері об'ємом 10 л.

Для вирощування культури у ферментері об'ємом 10 л необхідно приготувати 5,9 л поживного середовища. Джерелом вуглецю в середовищі є пептон, джерелом азоту – дріжджовий екстракт. Вміст компонентів для приготування 2,8 л середовища наведено у табл. 7.2.

Таблиця 7.2

Розрахунок вмісту компонентів для приготування 5,9 л середовища

Компонент поживного середовища	Вміст, г/л	Кількість для приготування 5,9 л середовища, г
Пептон	5	29,5
М'ясний екстракт	1,5	8,9
Дріжджовий екстракт	1,5	8,9
NaCl	1,5	8,9

За допомогою вагового дозатора (Д-1) зважують 29,5 г пептону та по 8,9 г м'ясного екстракту, дріжджового екстракту та NaCl і вносять у ферментер (ФР-2) об'ємом 10 л, доводять об'єм до 5,7 л питною водою і стерилізують подачею гострої пари у ферментер і у сорочку при 112 °С упродовж 30 хв.

ТП 3. Підготовка посівного матеріалу

ТП 3.1. Підтримання колекційної культури

Колекційну культуру *Bacillus subtilis* зберігають у пробірках на поживному бульйоні у холодильній камері при температурі 3-4 °С. Для збереження фізіолого-біохімічних властивостей штаму здійснюють пересіви (з періодичністю 3-4 місяці). Всі роботи з колекційною культурою проводяться в строго асептичних умовах.

ТП 3.2. Одержання робочої культури

Колекційну культуру розсівають до ізолюваних колоній на чашки Петрі із вівсяним агаром і вирощують при температурі 34 °С.

ТП 3.3. Вирощування культури на агаризованому середовищі

Отримані ізолювані колонії (від ТП 3.2) пересівають у пробірки із поживним бульйоном з розрахунку одна ізолювана колонія використовується для засіву однієї пробірки. Тривалість вирощування становить 24 год.

ТП 3.4. Вирощування культури в колбах на качалках

Для вирощування рідкого посівного матеріалу з колби об'ємом 200 мл 100 мл стерильного поживного середовища (від ДР 2.1) переливають в асептичних умовах у стерильну качалочну колбу об'ємом 750 мл.

У пробірку з робочою культурою *Bacillus subtilis*, вирощену на поживному бульйоні (від ТП 3.3), вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини та вносять у колбу з поживним середовищем з розрахунку одна пробірка суспендованих клітин використовується для засіву однієї колби.

Після вирощування бактеріальної культури у колбі на качалці 24 год при 34°C культуральну рідину з колби переносять у ферментер об'ємом 10 л (до ТП 4.1).

Мікробіологічний аналіз культуральної рідини проводять у кінці культивування. Визначають концентрацію біомаси, джерела вуглецю та азоту.

ТП 4. Біосинтез.

ТП 4.1. Виробниче культивування.

Для виробничого культивування у ферментер з робочим об'ємом 10 л (ФР-2) із 5,9 л поживного середовища (від ДР 2.2) в асептичних умовах через штуцер при горінні факелу вносять посівний матеріал (від ТП 3.4).

Вирощування бактеріальної культури у виробничому ферментері триває 24 год при 34 °С. Після процесу біосинтезу культуральна рідина перекачується за допомогою насоса (Н-3) до центрифуги (Ц-4).

Через кожні 4 год проводять мікробіологічний аналіз культуральної рідини, визначають концентрацію біомаси, джерела вуглецю та азоту.

Процес культивування зупиняють тоді, при досягненні значення $OD_{600}=2$ або приблизно на 24 год культивування.

ТП 4.2. Центрифугування культуральної рідини.

З ферментера (ФР-2) за допомогою насоса (Н-3) культуральна рідина у кількості 5,9 л надходить до центрифуги (Ц-4). Час центрифугування складає 5 хв при 10000 об/хв. Супернатант культуральної рідини надходить на стадію додаткової очистки (до ТП 4.3) до фільтра (Ф-6).

ТП 4.3. Фільтрування супернатанту.

З центрифуги (Ц-4) за допомогою насоса (Н-5) супернатант надходить до фільтра (Ф-6). Діаметр пор фільтру 0,22 мкм. Відфільтрований супернатант надходить на стадію біосинтезу наночастинок золота (до ТП 4.4) до реактора біосинтезу (Р-8).

ТП 4.4. Виробничий біосинтез наночастинок золота

Після центрифугування супернатант з фільтра (Ф-6) за допомогою насоса (Н-7) направляється до реактору біосинтезу (Р-8). Також в асептичних умовах через штуцер вносять 40 мл розчину тетрахлороаурату (ІІІ) водню до кінцевої концентрації 1 мМ (від ДР 1.1). Біосинтез наночастинок золота триває 24 год при кімнатній температурі.

ТП 4.5. Центрифугування культуральної рідини.

З реактора біосинтезу (Р-8) за допомогою перистальтичного насоса (Н-9) культуральна рідина надходить до центрифуги (Ц-10). Час центрифугування складає 20 хв при 15000 об/хв. Осаджену фракцію відбирають на стадію очистки.

ТП 4.6. Очистка наночасток золота.

Осаджена фракція (від ТП 4.5.) розчиняється в деіонізованій воді для видалення залишків поживного середовища та відділення наночасток золота.

РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ

Для характеристики наночастинок необхідно відібрати 10 мл реакційної суміші. Характеристика отриманих наночастинок проводиться шляхом вимірювання спектрів за допомогою спектрофотометра, а також визначення розмірів і форми за допомогою електронної мікроскопії та наносайзеру.

Вимірювання спектрів

Вимірювання на спектрофотометрі проводять при довжині хвилі 300-800 нм, контролем виступає супернатант без HAuCl_4 .

5 мл досліджуваного розчину вносять у кювету та встановлюють спектр контролю. Далі 5 мл реакційної суміші вносять у другу кювету та вимірюють спектр зразку.

На спектрі має бути зареєстрований характерний пік при 530 нм, що вказує на присутність наночастинок золота розміром 2-100 нм (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

Електронна мікроскопія

Електронну мікроскопію здійснюють після приготування зразка шляхом нанесення краплі суспензії наночастинок золота на мідні сітки, покритих аморфною карбоною плівкою, з подальшим випаровуванням вологи при кімнатній температурі. Середній діаметр наночастинок золота визначають виходячи з діаметра 100 наночастинок, знайдених з кількох довільновибраних ділянок зі збільшених мікрофотографіях (Thirumurugan, Ramachandran, & Shiamala Gowri, 2013).

					НУХТ БТЕК 02.01.04 КР ПЗ			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	РОЗДІЛ 8. КОНТРОЛЬ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКТУ МІКРОБНОГО СИНТЕЗУ	Літ.	Арк.	Аркушів
Розроб.		Росик О.О.						
Перевір.		Скροцька О.І.					78	93
Консультант						Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.				78		

Вимірювання на наносайзері

Аналіз розміру наночастинок золота проводять шляхом визначення гідродинамічного діаметру (HD). HD контролюють за методом динамічного розсіювання світла (DLS) за допомогою двокутового аналізатора розмірів частинок та молекул Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобританія).

Всі виміри проводять при постійній температурі, яка становить 25°C у нейтральному середовищі (pH = 7,0). Експеримент проводять тричі. Подальші статистичні розрахунки проводять із використанням програмного забезпечення Stat Plus Pro 5.9.8. Software та STATISTICA, version 8.0 (StatSoft, Inc. 2007).

УФ-видимий спектроскопічний аналіз

УФ-вимірювання проводять на двопроменевому спектрофотометрі Shimadzu (модель UV – 1650 PC), який працює з роздільною здатністю 1 нм, використовуючи деіонізовану воду як еталон.

Досліджуваний розчин синтезованого золота переносять у кварцову кюветну комірку з метою подальшого спектрального вимірювання (Prema, Iniya, & Immanuel, 2016).

Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є (FTIR)

Біосинтезовані наночастки золота вимірюють спектрофотометром Nicolet Impact 400FT-IR з використанням спектрального діапазону від 4000 до 400 cm^{-1} з роздільною здатністю 4 cm^{-1} (Prema, Iniya, & Immanuel, 2016).

Визначення антимікробної активності біосинтезованих наночастинок золота

Антимікробну активність біосинтезованих наночастинок золота оцінюють за допомогою методу дифузії в агарі (Prema, Iniya, & Immanuel, 2016).

Чисті культури відібраних патогенних для людини бактерій окремо пересівають у поживне середовище та інкубують протягом 12 годин при температурі 37°C.

20 мл стерильного середовища Мюллера-Гінтона з агаром наливають в чашку Петрі та кожен штам бактерій рівномірно наносять на чашки за допомогою стерильних ватних тампонів. За допомогою пункції стерильного гелю у кожній

чашці з інокульованим бактеріями роблять лунки діаметром 6 мм. У відповідні лунки вносять по 100 мкл суспензії біосинтезованих наночасток золота.

Бактерицидну активність визначають за чіткою зоною інгібування навколо зразка, завантаженого в лунку після інкубації планшетів протягом ночі при температурі 37°C.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Безнаева, О.В., Бабурина Т.М, Аксенова Т.И. Пленки на основе электретных материалов – «активные» упаковки. *Упаковка и логистика*. 2011; 1: 24-26.
<https://cyberleninka.ru/article/n/plenki-na-osnove-elektretnyh-materialov-aktivnye-upakovki>
2. Габ А.І., Калакура М.М., Кущевська Н.Ф., Малишев В.В. Нанотехнології та наноматеріали в харчовій промисловості. *Вчені записки ТНУ імені В.І. Вернадського. Серія: технічні науки частина 3*. 2018; 1 (29(68)): 37-41.
https://tech.vernadskyjournals.in.ua/eng/journals/2018/1_2018/part_3/9.pdf
3. Іванов С.В., Пасічний В.М., Олішевський В.В та ін. Перспективні елементи активного пакування. *Ресурсо- та енергоощадні технології виробництва і пакування харчової продукції–основні засади її конкурентоздатності: матеріали III Міжнародної спеціалізованої науково-практичної конференції*. К., 2014. – С. 144-145.
4. Карлаш Ю.В. Основи проектування біотехнологічних виробництв: Конспект лекцій для студентів напряму 6.051401 «Біотехнологія» денної та заочної форм навчання / Уклад.: Ю.В.Карлаш - К: НУХТ, 2013. – 143 с.
5. Карлаш Ю.В., Засць Н.А. Розробка експертної системи для вибору методів виділення продуктів мікробіологічного синтезу. Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції: Програма та тези матеріалів VII-ї Міжнародної науково-технічної конференції, 6-7 листопада 2018 р., м. Київ. –К.: НУХТ, 2018 р. – 50-51 с.
6. Кравченко О. О., Савчук О. М., Остапченко Л. І. Загальна біотехнологія : навчальний посібник / О. О. Кравченко, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко. – К. : ВПЦ "Київський університет", 2019. – 269 с.
7. Лисицька С.М., Горова А.І. Біотехнологія. Методичні рекомендації до виконання в дистанційному режимі контрольних і тестових завдань з дисциплін «Біотехнологія», «Основи промислової біотехнології» студентами спеціальності 161

- «Хімічні технології та інженерія» / С.М. Лисицька; М-во освіти і науки України, Нац. техн. ун-т «Дніпровська політехніка» – Дніпро : НТУ «ДП», 2021. – 43 с.
8. Лич І.В. Промислова технологія лікарських засобів: конспект лекцій. –К.: НУХТ, 2017. – 323 с.
9. Патрабой В.В., Ротар Д.В. (2014). Протимікробні засоби в продуктах харчування – нова загроза формуванню антибіотикорезистентності мікроорганізмів. *Буковинський медичний вісник*, 18, 4(72), 233-236.
10. Проданчук М.Г., Слободкін В.І., Левицька В.М. Перспективи впровадження нанотехнологій і наноматеріалів у харчовій промисловості, їх гігієнічна оцінка та актуальні завдання наногігієни харчування. *Проблеми харчування*. 2010; 3(4): 5-15. http://medved.kiev.ua/web_journals/arhiv/nutrition/2010/3-4_10/str05.pdf
11. Пузік Л.М., Пузік В.К., Криштоп Є.А., Бондаренко В.А. (2021). Сучасний стан застосування біопрепаратів для післязбиральної обробки плодів і овочів. *Овочівництво і багтанництво*. 69, 120-130.
12. Снігир Н.В., Величко С.О., Сірик В.О. (2015). Безпека харчових продуктів – мікробіологічні ризики. *Ліки України: лекції, огляди, новини*, 4 (190), 15-18.
13. Соломон А.М., Казмірук Н.М., Тузова С.Д. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник для студентів напряму підготовки «Харчові технології». – Вінниця: РВВ ВНАУ, 2020. – 312 с.
14. Харченко Є. В., Скроцька О. І. (2020). Використання мікроорганізмів для біогенного синтезу наночасток. *Наукові праці НУХТ*, 26 (2), 57–70.
15. Abbaspour, A., Norouz-Sarvestani, F., Noori, A., Soltani, N. (2015). Aptamer-conjugated silver nanoparticles for electrochemical dual-aptamer-based sandwich detection of *Staphylococcus aureus*. *Biosensors and Bioelectronics*, 68, 149–155. doi:10.1016/j.bios.2014.12.040
16. Agnihotri, M., Joshi, S., Kumar, A. R., Zinjarde, S., Kulkarni, S. (2009). Biosynthesis of gold nanoparticles by the tropical marine yeast *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. *Materials Letters*, 63(15), 1231–1234. doi:10.1016/j.matlet.2009.02.042
17. Alghuthaymi, M., Abd-Elsalam, K. A., Paraliker, P., Rai, M. (2020). Mono and hybrid nanomaterials: Novel strategies to manage postharvest diseases. *Multifunctional*

Hybrid Nanomaterials for Sustainable Agri-Food and Ecosystems, 287–317.
doi:10.1016/b978-0-12-821354-4.00013-3

18. Anand, K., Tiloke, C., Phulukdaree, A., Ranjan, B., Chuturgoon, A., Singh, S., Gengan, R. M. (2016). Biosynthesis of palladium nanoparticles by using *Moringa oleifera* flower extract and their catalytic and biological properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 165, 87–95. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.09.039

19. Apte, M., Sambre, D., Gaikawad, S., Joshi, S., Bankar, A., Kumar, A., Zinjarde, S. (2013). Psychrotrophic yeast *Yarrowia lipolytica* NCYC 789 mediates the synthesis of antimicrobial silver nanoparticles via cell-associated melanin. *AMB Express*, 3(1), 32. doi:10.1186/2191-0855-3-32

20. Arockiya Aarthi Rajathi, F., Parthiban, C., Ganesh Kumar, V., Anantharaman, P. (2012). Biosynthesis of antibacterial gold nanoparticles using brown alga, *Stoechospermum marginatum* (kützing). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 99, 166–173. doi:10.1016/j.saa.2012.08.081

21. Arsiya, F., Sayadi, M. H., Sobhani, S. (2017). Green synthesis of palladium nanoparticles using *Chlorella vulgaris*. *Materials Letters*, 186, 113–115. doi:10.1016/j.matlet.2016.09.101

22. Bagheri pebdani, A., Hosseini, M. (2020). Fast and selective whole cell detection of *Staphylococcus aureus* bacteria in food samples by paper based colorimetric nanobiosensor using peroxidase-like catalytic activity of DNA-Au/Pt bimetallic nanoclusters. *Microchemical Journal*, 105475. doi:10.1016/j.microc.2020.105475

23. Bakri, M. M., El-Naggar, M. A., Helmy, E. A., Ashoor, M. S., Abdel Ghany, T. M. (2020). Efficacy of Juniperus procera Constituents with Silver Nanoparticles Against *Aspergillus fumigatus* and *Fusarium chlamydosporum*. *BioNanoScience*. doi:10.1007/s12668-019-00716-x

24. Baskaran, B., Muthukumarasamy, A., Chidambaram, S., Sugumaran, A., Ramachandran, K., Rasu Manimuthu, T. (2017). Cytotoxic potentials of biologically fabricated platinum nanoparticles from *Streptomyces* sp. on MCF-7 breast cancer cells. *IET Nanobiotechnology*, 11(3), 241–246. doi:10.1049/iet-nbt.2016.0040

25. Bindhu, M. R., Umadevi, M. (2015). Antibacterial and catalytic activities of green synthesized silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 135, 373–378. doi:10.1016/j.saa.2014.07.045
26. Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529–563. doi:10.3934/microbiol.2017.3.529
27. Binupriya, A. R., Sathishkumar, M., Yun, S.-I. (2010). Myco-crystallization of Silver Ions to Nanosized Particles by Live and Dead Cell Filtrates of *Aspergillus oryzae* var. *viridis* and Its Bactericidal Activity toward *Staphylococcus aureus* KCCM 12256. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49(2), 852–858. doi:10.1021/ie9014183
28. BIOSTAT Cplus. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://sartorius-sd.com.ua/index.php/%D1%81%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BB%D0%B8%D0%B7%D1%83%D0%B5%D0%BC%D1%8B%D0%B5-%D0%BD%D0%B0-%D0%BC%D0%B5%D1%81%D1%82%D0%B5-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D1%80%D0%B5%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%8B/biostat%C2%AE-cplus.html>
29. Birla, S. S., Gaikwad, S. C., Gade, A. K., Rai, M. K. (2013). Rapid Synthesis of Silver Nanoparticles from *Fusarium oxysporum* by Optimizing Physicocultural Conditions. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–12. doi:10.1155/2013/796018
30. Castro-Longoria, E., Moreno-Velásquez, S. D., Vilchis-Nestor, A. R., Arenas-Berumen, E., Avalos-Borja, M. (2012). Production of Platinum Nanoparticles and Nanoaggregates Using *Neurospora crassa*. *J. Microbiol. Biotechnol*, 22(7): 1000–1004. doi: 10.4014/jmb.1110.10085
31. Chandran, K., Song, S., Yun, S.-I. (2014). Effect of size and shape controlled biogenic synthesis of gold nanoparticles and their mode of interactions against food borne bacterial pathogens. *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2014.11.041
32. Chauhan, N., Tyagi, A. K., Kumar, P., Malik, A. (2016). Antibacterial Potential of *Jatropha curcas* Synthesized Silver Nanoparticles against Food Borne Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01748
33. Chen, M., Pan, L., Tu, K. (2021). A fluorescence biosensor for *Salmonella typhimurium* detection in food based on the nano-self-assembly of alendronic acid

- modified upconversion and gold nanoparticles. *Analytical Methods*, 13(21), 2415–2423. doi:10.1039/d1ay00493j
34. Cunha, F. A., Cunha, M. da C. S. O., da Frota, S. M., Mallmann, E. J. J., Freire, T. M., Costa, L. S., Fechine, P. B. A. (2018). Biogenic synthesis of multifunctional silver nanoparticles from *Rhodotorula glutinis* and *Rhodotorula mucilaginosa*: antifungal, catalytic and cytotoxicity activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(9). doi:10.1007/s11274-018-2514-8
35. Daduang, J., Klaynongsruang, S., Leelayuwat, C., Limpaboon, T., Lulitanond, A., Boonsiri, P., ... Rattanata, N. (2016). Gallic acid conjugated with gold nanoparticles: antibacterial activity and mechanism of action on foodborne pathogens. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 3347–3356. doi:10.2147/ijn.s109795
36. Du, J., Hu, Z., Yu, Z., Li, H., Pan, J., Zhao, D., Bai, Y. (2019). Antibacterial activity of a novel *Forsythia suspensa* fruit mediated green silver nanoparticles against food-borne pathogens and mechanisms investigation. *Materials Science and Engineering: C*. doi:10.1016/j.msec.2019.04.031
37. Dubey, S. P., Lahtinen, M., Sillanpää, M. (2010). Green synthesis and characterizations of silver and gold nanoparticles using leaf extract of *Rosa rugosa*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 364(1-3), 34–41. doi:10.1016/j.colsurfa.2010.04.023
38. Feng, J., Shen, Q., Wu, J., Dai, Z., Wang, Y. (2018). Naked-eyes detection of *Shigella flexneri* in food samples based on a novel gold nanoparticle-based colorimetric aptasensor. *Food Control*. doi:10.1016/j.foodcont.2018.11.048
39. Fu, Z., Zhou, X., Xing, D. (2013). Rapid colorimetric gene-sensing of food pathogenic bacteria using biomodification-free gold nanoparticle. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 182, 633–641. doi:10.1016/j.snb.2013.03.033
40. G., S., Jha, P. K., V., V., C., R., M., J., M., S., S., S. (2016). Cannonball fruit (*Couroupita guianensis*, Aubl.) extract mediated synthesis of gold nanoparticles and evaluation of its antioxidant activity. *Journal of Molecular Liquids*, 215, 229–236. doi:10.1016/j.molliq.2015.12.043

41. 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 Biochemistry*, 49(12), 2313–2319. doi:10.1016/j.procbio.2014.10.002
42. Ganesh Babu, M. M., Gunasekaran, P. (2009). Production and structural characterization of crystalline silver nanoparticles from *Bacillus cereus* isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), 191–195. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.07.01
43. Gowramma, B., Keerthi, U., Rafi, M., Muralidhara Rao, D. (2014). Biogenic silver nanoparticles production and characterization from native stain of *Corynebacterium species* and its antimicrobial activity. *3 Biotech*, 5(2), 195–201. doi:10.1007/s13205-014-0210-4
44. Gurunathan, S., Kalishwaralal, K., Vaidyanathan, R., Venkataraman, D., Pandian, S. R. K., Muniyandi, J., ... Eom, S. H. (2009). Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), 328–335. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.07.048
45. Hu, J., Tang, F., Wang, L., Tang, M., Jiang, Y.-Z., Liu, C. (2021). Nanozyme sensor based-on platinum-decorated polymer nanosphere for rapid and sensitive detection of *Salmonella typhimurium* with the naked eye. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 346, 130560. doi:10.1016/j.snb.2021.130560
46. Ibrahim, H. M. M. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8(3), 265–275. doi:10.1016/j.jrras.2015.01.007
47. Ijaz, M., Zafar, M., Afsheen, S., Iqbal, T. (2020). A Review on Ag-Nanostructures for Enhancement in Shelf Time of Fruits. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*. doi:10.1007/s10904-020-01504-x
48. Iravani, S., Zolfaghari, B. (2013). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Pinus eldarica* Bark Extract. *BioMed Research International*, 1–5. doi:10.1155/2013/639725

49. Jafarzadeh, S., Mohammadi Nafchi, A., Salehabadi, A., Oladzad-abbasabadi, N., Jafari, S. M. (2021). Application of bio-nanocomposite films and edible coatings for extending the shelf life of fresh fruits and vegetables. *Advances in Colloid and Interface Science*, 291, 102405. doi:10.1016/j.cis.2021.102405
50. Jagtiani, E. (2021). Advancements in nanotechnology for food science and industry. *Food Frontiers*. doi:10.1002/fft2.104
51. Jain, N., Bhargava, A., Majumdar, S., Tarafdar, J. C., Panwar, J. (2011). Extracellular biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Aspergillus flavus* NJP08: A mechanism perspective. *Nanoscale*, 3(2), 635–641. doi:10.1039/c0nr00656d
52. Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 101174. doi:10.1016/j.jddst.2019.101174
53. Juibari, M. M., Abbasalizadeh, S., Jouzani, G. S., Noruzi, M. (2011). Intensified biosynthesis of silver nanoparticles using a native extremophilic *Ureibacillus thermosphaericus* strain. *Materials Letters*, 65(6), 1014–1017. doi:10.1016/j.matlet.2010.12.056
54. Jyoti, K., Baunthiyal, M., Singh, A. (2016). Characterization of silver nanoparticles synthesized using *Urtica dioica* Linn. leaves and their synergistic effects with antibiotics. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(3), 217–227. doi:10.1016/j.jrras.2015.10.002
55. Kannan, R. R. R., Stirk, W. A., Van Staden, J. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using the seaweed *Codium capitatum* P.C. Silva (Chlorophyceae). *South African Journal of Botany*, 86, 1–4. doi:10.1016/j.sajb.2013.01.003
56. Khan, M., Khan, M., Kuniyil, M., Adil, S. F., Al-Warthan, A., Alkhatlan, H. Z., ... Siddiqui, M. R. H. (2014). Biogenic synthesis of palladium nanoparticles using *Pulicaria glutinosa* extract and their catalytic activity towards the Suzuki coupling reaction. *Dalton Trans.*, 43(24), 9026–9031. doi:10.1039/c3dt53554a

57. Kora, A. J., Rastogi, L. (2015). Green synthesis of palladium nanoparticles using gum ghatti (*Anogeissus latifolia*) and its application as an antioxidant and catalyst. *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2015.06.024
58. Korbekandi, H., Irvani, S., Abbasi, S. (2012). Optimization of biological synthesis of silver nanoparticles using *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 87(7), 932–937. doi:10.1002/jctb.3702
59. Kumar, M., Bala, R., Gondil, V. S., Pandey, S. K., Chhibber, S., Jain, D. V. S., ... Wangoo, N. (2017). Combating food pathogens using sodium benzoate functionalized silver nanoparticles: synthesis, characterization and antimicrobial evaluation. *Journal of Materials Science*, 52(14), 8568–8575. doi:10.1007/s10853-017-1072-z
60. 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. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 5931–5944. doi:10.2147/ijn.s119618
61. Liu Wang, K.-Y., Bu, S.-J., Ju, C.-J., Han, Y., Ma, C.-Y., Liu, W.-S., ... Wan, J.-Y. (2019). Disposable syringe-based visual immunotest for pathogenic bacteria based on the catalase mimicking activity of platinum nanoparticle-concanavalin A hybrid nanoflowers. *Microchimica Acta*, 186(2). doi:10.1007/s00604-018-3133-7
62. Liu, Y., Zhao, C., Fu, K., Song, X., Xu, K., Wang, J., Li, J. (2017). Selective turn-on fluorescence detection of *Vibrio parahaemolyticus* in food based on charge-transfer between CdSe/ZnS quantum dots and gold nanoparticles. *Food Control*, 80, 380–387. doi:10.1016/j.foodcont.2017.05.032
63. Loo, Y. Y., Rukayadi, Y., Nor-Khaizura, M.-A.-R., Kuan, C. H., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., Radu, S. (2018). In Vitro Antimicrobial Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles Against Selected Gram-negative Foodborne Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.01555
64. Lu, C., Tang, L., Gao, F., Li, Y., Liu, J., Zheng, J. (2021). DNA-encoded bimetallic Au-Pt dumbbell nanozyme for high-performance detection and eradication of *Escherichia coli* O157:H7. *Biosensors and Bioelectronics*, 187, 113327. doi:10.1016/j.bios.2021.113327

65. Ma, X., Xu, X., Xia, Y., Wang, Z. (2018). SERS aptasensor for *Salmonella typhimurium* detection based on spiny gold nanoparticles. *Food Control*, 84, 232–237. doi:10.1016/j.foodcont.2017.07.016
66. Mishra, A., Tripathy, S. K., Yun, S.-I. (2012). Fungus mediated synthesis of gold nanoparticles and their conjugation with genomic DNA isolated from *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Process Biochemistry*, 47(5), 701–711. doi:10.1016/j.procbio.2012.01.017
67. Mishra, A., Tripathy, S. K., Yun, S.-I. (2011). Bio-Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles from *Candida guilliermondii* and Their Antimicrobial Effect Against Pathogenic Bacteria. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(1), 243–248. doi:10.1166/jnn.2011.3265
68. Mishra, R. C., Kalra, R., Dilawari, R., Goel, M., Barrow, C. J. (2022). Bio-Synthesis of *Aspergillus terreus* Mediated Gold Nanoparticle: Antimicrobial, Antioxidant, Antifungal and In Vitro Cytotoxicity Studies. *Materials*, 15, 3877. doi.org/10.3390/ma15113877
69. Momeni, S., Nabipour, I. (2015). A Simple Green Synthesis of Palladium Nanoparticles with Sargassum Alga and Their Electrocatalytic Activities Towards Hydrogen Peroxide. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(7), 1937–1949. doi:10.1007/s12010-015-1690-3
70. Mourato, A., Gadanho, M., Lino, A. R., Tenreiro, R. (2011). Biosynthesis of Crystalline Silver and Gold Nanoparticles by Extremophilic Yeasts. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2011, 1–8. doi:10.1155/2011/546074
71. Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Ahmad, A., Khan, M. I., Kumar, R., Sastry, M. (2002). Extracellular Synthesis of Gold Nanoparticles by the Fungus *Fusarium oxysporum*. *ChemBioChem*, 3(5), 461. doi:10.1002/1439-7633(20020503)3:5<461::aid-cbic461>3.0.co;2-x
72. Mungroo, N. A., Oliveira, G., Neethirajan, S. (2015). SERS based point-of-care detection of food-borne pathogens. *Microchimica Acta*, 183(2), 697–707. doi:10.1007/s00604-015-1698-y

73. Nanda, A., Saravanan, M. (2009). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5(4), 452–456. doi:10.1016/j.nano.2009.01.012
74. Nithya, R., Ragunathan, R. (2009). Synthesis of silver nanoparticle using *Pleurotus sajor caju* and its antimicrobial study. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 4(4): 623-629. https://www.chalcogen.ro/623_Nithya-Ragun-sept5.pdf
75. Oh, S. Y., Heo, N. S., Shukla, S., Cho, H.-J., Vilian, A. T. E., Kim, J., ... Huh, Y. S. (2017). Development of gold nanoparticle-aptamer-based LSPR sensing chips for the rapid detection of *Salmonella typhimurium* in pork meat. *Scientific Reports*, 7(1). doi:10.1038/s41598-017-10188-2
76. Oliveira, D., A., Althawab, S., McLamore, E., S., Gomes, C., L. (2021). One-Step Fabrication of Stimuli-Responsive Chitosan-Platinum Brushes for *Listeria monocytogenes* Detection. *Biosensors*, 11, 511. doi.org/10.3390/bios11120511
77. Paidari, S., Ibrahim, S. A. (2021). Potential application of gold nanoparticles in food packaging: a mini review. *Gold Bulletin*, 54(1), 31–36. doi:10.1007/s13404-021-00290-9
78. Powerfuge®P6. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.carrbiosystems.com/products/stainless-steel-centrifuges/powerfuge-p6-stainless-steel-centrifugation>
79. Prema, P., Iniya, P. A., Immanuel, G. (2016). Microbial mediated synthesis, characterization, antibacterial and synergistic effect of gold nanoparticles using *Klebsiella pneumoniae* (MTCC-4030). *RSC Advances*, 6(6), 4601–4607. doi:10.1039/c5ra23982f
80. Rahi, D., K., Manhas, P., L., Kaur, M., Malik, D., Rahi, S. (2018). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by an indigenous yeast *Aureobasidium pullulans* rylf 10: characterization and evaluation of antibacterial potential. *Int. J. Pharm. Biol. Sci.* 8(3), 312-321.
81. Rajeshkumar, S., Malarkodi, C. (2014). In Vitro Antibacterial Activity and Mechanism of Silver Nanoparticles against Foodborne Pathogens. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 1–10. doi:10.1155/2014/581890

82. Ramkumar, V. S., Pugazhendhi, A., Prakash, S., Ahila, N. K., Vinoj, G., Selvam, S., Rajendran, R. B. (2017). Synthesis of platinum nanoparticles using seaweed *Padina gymnospora* and their catalytic activity as PVP/PtNPs nanocomposite towards biological applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 479–490. doi:10.1016/j.biopha.2017.05.076
83. Rose, G. K., Soni, R., Rishi, P., Soni, S. K. (2018). Optimization of the biological synthesis of silver nanoparticles using *Penicillium oxalicum* GRS-1 and their antimicrobial effects against common food-borne pathogens. *Green Processing and Synthesis*, 0(0). doi:10.1515/gps-2018-0042
84. Roy, K., Sarkar, C. K., Ghosh, C. K. (2014). Photocatalytic activity of biogenic silver nanoparticles synthesized using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) extract. *Applied Nanoscience*, 5(8), 953–959. doi:10.1007/s13204-014-0392-4
85. Ruffo Roberto, S., Youssef, K., Hashim, A. F., Ippolito, A. (2019). Nanomaterials as Alternative Control Means Against Postharvest Diseases in Fruit Crops. *Nanomaterials*, 9(12), 1752. doi:10.3390/nano9121752
86. Saba Hasan. A Review on Nanoparticles: Their Synthesis and Types. *Research Journal of Recent Sciences*. 2015; 1(3): 1-3. https://www.researchgate.net/profile/Saba-Hasan/publication/273203342_A_Review_on_Nanoparticles_Their_Synthesis_and_Types/links/54fb49ff0cf270426d0dcb29/A-Review-on-Nanoparticles-Their-Synthesis-and-Types.pdf
87. Senapati, S., Syed, A., Moez, S., Kumar, A., Ahmad, A. (2012). Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga *Tetraselmis kochinensis*. *Materials Letters*, 79, 116–118. doi:10.1016/j.matlet.2012.04.009
88. Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S., Poinern, G. (2015). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. *Materials*, 8(11), 7278–7308. doi:10.3390/ma8115377
89. Shalaka, S. Rokade, Komal, A. Joshi, Ketakee, Mahajan, Geetanjali, Tomar, Dnyanesh, S. Dubal, Vijay, Singh Parihar, ... Sougata, Ghosh. (2017) Novel Anticancer Platinum and Palladium Nanoparticles from *Barleria prionitis*. *Glob J Nanomed.*, 2(5), 555600. doi: 10.19080/GJN.2017.02.555600

90. Sharma, A., Kameswara Rao, V., Vrat Kamboj, D., Jain, R. (2014). Electrochemical Immunosensor for *Staphylococcal Enterotoxin B (SEB) Based on Platinum Nanoparticles-Modified Electrode Using Hydrogen Evolution Inhibition Approach*. *Electroanalysis*, 26(11), 2320–2327. doi:10.1002/elan.201400100
91. Singh, J., Dutta, T., Kim, K.-H., Rawat, M., Samddar, P., Kumar, P. (2018). “Green” synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1). doi:10.1186/s12951-018-0408-4
92. Singh, P., Kim, Y. J., Wang, C., Mathiyalagan, R., Yang, D. C. (2015). The development of a green approach for the biosynthesis of silver and gold nanoparticles by using *Panax ginseng* root extract, and their biological applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 1–8. doi:10.3109/21691401.2015.1011809
93. Singh, R., Shedbalkar, U. U., Wadhwani, S. A., Chopade, B. A. (2015). Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99 (11), 4579–4593. doi:10.1007/s00253-015-6622-1
94. Snigir, N. V., Velychko, S. O., Siryk, V. O. (2015). Безпека харчових продуктів – мікробіологічні ризики. *Ліки України*, 3(189), 18–21. doi: 10.37987/1997-9894.2015.3(189).222485
95. Soliman, H., Elsayed, A., Dyaa, A. (2018). Antimicrobial activity of silver nanoparticles biosynthesised by *Rhodotorula sp. strain* ATL72. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*. doi:10.1016/j.ejbas.2018.05.005
96. Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P. S., Kapoor, A. (2020). Food preservation techniques and nanotechnology for increased shelf life of fruits, vegetables, beverages and spices: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(2), 1715–1735. doi:10.1007/s10311-020-01126-2
97. Srinath, B., S., Namratha, K., Byrappa, K. (2017). Eco-friendly synthesis of gold nanoparticles by gold mine bacteria *Brevibacillus formosus* and their antibacterial and biocompatible studies. *IOSR Journal Of Pharmacy*, 7 (8), 53-60.
98. Srivastava, S. K., Constanti, M. (2012). Room temperature biogenic synthesis of multiple nanoparticles (Ag, Pd, Fe, Rh, Ni, Ru, Pt, Co, and Li) by *Pseudomonas*

aeruginosa SM1. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(4). doi:10.1007/s11051-012-0831-7

99. Srivastava, S. K., Yamada, R., Ogino, C., Kondo, A. (2013). Biogenic synthesis and characterization of gold nanoparticles by *Escherichia coli* K12 and its heterogeneous catalysis in degradation of 4-nitrophenol. *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 70. doi:10.1186/1556-276x-8-70

100. Su, H., Zhao, H., Qiao, F., Chen, L., Duan, R., Ai, S. (2013). Colorimetric detection of *Escherichia coli* O157:H7 using functionalized Au@Pt nanoparticles as peroxidase mimetics. *The Analyst*, 138(10), 3026. doi:10.1039/c3an00026e

101. Suman, T. Y., Radhika Rajasree, S. R., Ramkumar, R., Rajthilak, C., Perumal, P. (2014). The Green synthesis of gold nanoparticles using an aqueous root extract of *Morinda citrifolia* L. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 118, 11–16. doi:10.1016/j.saa.2013.08.066

102. Sunkar, S., Nachiyar, C.V. (2012). Microbial Synthesis and characterization of silver nanoparticles using the Endophytic bacterium *Bacillus cereus*: A novel source in the benign synthesis. *Global journal of medical research*, 12(2). <https://www.semanticscholar.org/paper/Microbial-Synthesis-and-characterization-of-silver-Nachiyar/f4f7210005e07378d8a4e90b67ed09bcaca77d0e>

103. Syed, A., & Ahmad, A. (2012). Extracellular biosynthesis of platinum nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 97, 27–31. doi:10.1016/j.colsurfb.2012.03.026

104. Thirumurugan, A., Aswitha, P., Kiruthika, C., Nagarajan, S., Christy, A. N. (2016). Green synthesis of platinum nanoparticles using *Azadirachta indica* – An eco-friendly approach. *Materials Letters*, 170, 175–178. doi:10.1016/j.matlet.2016.02.026

105. Thirumurugan, A., Ramachandran, S., Shiamala Gowri, A. (2013). Combined effect of bacteriocin with gold nanoparticles against food spoiling bacteria - an approach for food packaging material preparation. *International Food Research Journal*. 20(4), 1909-1912.

106. Umar, P., Govindaraju, M., Senthamilselvi, S., Premkumar, K. (2013). Photocatalytic degradation of methyl orange dye using silver (Ag^+) nanoparticles

- synthesized from *Ulva lactuca*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, 658–661. doi:10.1016/j.colsurfb.2012.11.02
107. Vala, A. K. (2014). Exploration on green synthesis of gold nanoparticles by a marine-derived fungus *Aspergillus sydowii*. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 34(1), 194–197. doi:10.1002/ep.11949
108. Vivek, Borse, Abhishek, Kaler, Uttam Chand, Banerjee. (2014). Microbial Synthesis of Platinum Nanoparticles and Evaluation of Their Anticancer Activity. *International Journal of Emerging Trends in Electrical and Electronics*, 11(2), 26-3. doi: 10.13140/RG.2.1.3132.5283
109. Wachiralurpan, S., Sriyapai, T., Areekit, S., Sriyapai, P., Augkarawaritsawong, S., Santiwatanakul, S., Chansiri, K. (2018). Rapid Colorimetric Assay for Detection of *Listeria monocytogenes* in Food Samples Using LAMP Formation of DNA Concatemers and Gold Nanoparticle-DNA Probe Complex. *Frontiers in Chemistry*, 6. doi:10.3389/fchem.2018.00090
110. Wang, L., Hao, L., Qi, W., Huo, X., Xue, L., Liu, Y., ... Lin, J. (2020). A sensitive *Salmonella* biosensor using platinum nanoparticle loaded manganese dioxide nanoflowers and thin-film pressure detector. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 128616. doi:10.1016/j.snb.2020.128616
111. Wang, X., Ying, S., Wei, X., Yuan, J. (2017). Development of a gold nanoparticle-based universal oligonucleotide microarray for multiplex and low-cost detection of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 253, 66–74. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.05.005
112. Wilson, M. D., Stanley, R. A., Eyles, A., Ross, T. (2017). Innovative processes and technologies for modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–12. doi:10.1080/10408398.2017.1375892
113. Yahaya, M. L., Zakaria, N. D., Noordin, R., Abdul Razak, K. (2020). Development of rapid gold nanoparticles based lateral flow assays for simultaneous detection of *Shigella* and *Salmonella* genera. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. doi:10.1002/bab.2029

114. Zambrano-Zaragoza, M., González-Reza, R., Mendoza-Muñoz, N., Miranda-Linares, V., Bernal-Couoh, T., Mendoza-Elvira, S., Quintanar-Guerrero, D. (2018). Nanosystems in Edible Coatings: A Novel Strategy for Food Preservation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 705. doi:10.3390/ijms19030705
115. Zawrah, M., El-Moez, S., Center, D. (2011). Antimicrobial activities of gold nanoparticles against major foodborne pathogens. *Life Sci. J.*, 8, 37–44.
116. Zeng, L., Guo, L., Wang, Z., Xu, X., Ding, H., Song, S., ... Xu, C. (2021). Gold nanoparticle-based immunochromatographic assay for detection *Pseudomonas aeruginosa* in water and food samples. *Food Chemistry: X*, 9, 100117. doi:10.1016/j.fochx.2021.100117
117. 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 and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 497, 280–285. doi:10.1016/j.colsurfa.2016.02.033
118. Zheng, L., Cai, G., Qi, W., Wang, S., Wang, M.-H., Lin, J. (2019). An optical biosensor for rapid detection of *Salmonella Typhimurium* based on porous gold@platinum nanocatalyst and 3D fluidic chip. *ACS Sensors*. doi:10.1021/acssensors.9b01472
119. Zhu, S., Zeng, M., Guo, W., Feng, G., Wu, H. (2019). Catalase-mimetic gold nanoparticles inhibit the antagonistic action of *Lactobacillus gasseri* toward foodborne enteric pathogens in associative cultures. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 1–12. doi:10.1080/10590501.2019.1591698
120. Zorraquín-Peña, I., Cueva, C., Bartolomé, B., & Moreno-Arribas, M. V. (2020). Silver Nanoparticles against Foodborne Bacteria. Effects at Intestinal Level and Health Limitations. *Microorganisms*, 8(1), 132. doi:10.3390/microorganisms8010132