

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Промислова та фармацевтична біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і
мікробіології

Віктор СТАБНІКОВ

“ 01 ” жовтня 2025 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧКИ

ПРОЦЕНКО Марії Дмитрівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Роль дріжджів і бактерій у біосинтезі наночастинок селену»

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

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

затверджені наказом закладу вищої освіти від 05.11.2025 року № 912-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 26.11.2025

3. Вихідні дані до роботи: дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* M437; селеніт натрію; для характеристики: світлова мікроскопія, УФ-спектрофотометрія, наносайзер.

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

Біосинтез наночастинок селену при використанні бактерій

Роль дріжджів у біосинтезі наночастинок селену

Матеріали і методи

Результати та обговорення

Висновки

5. Перелік графічного матеріалу: -

6. Консультанти розділів роботи

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

7. Дата видачі завдання 01 жовтня 2025 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Виконання експериментів щодо біосинтезу наночастинок селену дріжджами	01.10.2025 – 15.11.2025	
2	Аналіз літературних джерел щодо біосинтезу наночастинок селену при використанні бактерій	01.10.2025 – 16.10.2025	
3	Аналіз літературних джерел щодо ролі дріжджів у біосинтезі наночастинок селену	17.10.2025 – 31.10.2025	
4	Оформлення матеріалів і методів дослідження	10.11.2025 – 15.11.2025	
5	Оформлення та аналіз отриманих результатів та їх обговорення	16.11.2025 – 24.11.2025	
6	Оформлення висновків до роботи	25.11.2025 – 26.11.2025	

Здобувач

_____ (підпис)

Марія ПРОЦЕНКО

_____ (ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Оксана СКРОЦЬКА

_____ (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

У роботі досліджено сучасні підходи до біосинтезу наночастинок селену (SeNPs) з використанням мікроорганізмів різних таксономічних груп, а також експериментально підтверджено здатність дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437 до внутрішньоклітинного біосинтезу SeNPs. У роботі наведено огляд літератури щодо механізмів біотрансформації селеніту та селенату бактеріями різних родів та дріжджами. Проаналізовано умови культивування, фактори, що впливають на морфологію наночастинок, а також роль молекулярних систем клітини у процесах відновлення та стабілізації SeNPs. Узагальнено дані щодо біологічної активності біогенних наночастинок, зокрема їх антиоксидантних, антимікробних, протигрибкових та протипухлинних властивостей.

Експериментальна частина роботи присвячена отриманню наночастинок селену при використанні дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437. Світлова мікроскопія виявила розсіяні та скупчені вкраплення у клітинах дріжджів і поза їх межами, що свідчить про внутрішньоклітинний синтез та подальше вивільнення SeNPs. Проведений УФ-видимий аналіз показав наявність двох виражених максимумів поглинання при 207 нм та 252 нм, які є типовими для біосинтезованих наночастинок селену. За результатами методу динамічного розсіювання світла встановлено, що середній гідродинамічний діаметр синтезованих SeNPs становить 179,3 нм, індекс полідисперсності 0,229, а значення дзета-потенціалу -16,2 мВ, що свідчить про достатню стабільність та низьку схильність наночастинок до агрегації.

Робота містить 105 сторінок, складається зі вступу, огляду сучасних наукових публікацій (розділ 1 і 2), експериментальної частини (розділ 3 і 4), висновків та списку літератури (134 джерела, з яких 72 % складають публікації за 2020-2025 рр.). У роботі наведено 5 рисунків та 16 таблиць.

Ключові слова: наночастинок селену, біосинтез, біотехнології, бактерії, дріжджі.

ABSTRACT

The study investigates modern approaches to the microbial biosynthesis of selenium nanoparticles (SeNPs) using microorganisms from various taxonomic groups and experimentally confirms the ability of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* M437 to perform intracellular SeNPs biosynthesis. The thesis provides a comprehensive literature review of the mechanisms of selenite and selenate biotransformation by bacteria of different genera as well as by yeasts. The cultivation conditions, the factors influencing nanoparticle morphology, and the role of cellular molecular systems in SeNPs reduction and stabilization are analysed. Data on the biological activity of biogenic nanoparticles, including their antioxidant, antimicrobial, antifungal, and anticancer properties are summarized.

The experimental section focuses on the production of selenium nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* M437. Light microscopy revealed dispersed and clustered inclusions both inside and outside yeast cells, indicating intracellular formation followed by the release of SeNPs. UV-Vis spectroscopy showed two distinct absorption maxima at 207 nm and 252 nm, characteristic of biosynthesized selenium nanoparticles. According to dynamic light scattering (DLS), the average hydrodynamic diameter of the synthesized SeNPs was 179,3 nm, the polydispersity index was 0,229, and the zeta potential was -16,2 mV, indicating sufficient colloidal stability and a low tendency toward agglomeration.

The thesis comprises 105 pages and includes an introduction, a review of recent scientific publications (Chapters 1 and 2), an experimental section (Chapters 3 and 4), conclusions, and a reference list (134 sources, 72% of which are publications from 2020-2025). The work contains 5 figures and 16 tables.

Key words: *selenium nanoparticles, biosynthesis, biotechnology, bacteria, yeasts*

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК СЕЛЕНУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ БАКТЕРІЙ	11
1.1. Бактерії роду <i>Bacillus</i>	11
1.2. Бактерії родів <i>Lysinibacillus</i> та <i>Paenibacillus</i>	17
1.3. Бактерії роду <i>Halomonas</i>	19
1.4. Бактерії роду <i>Lactobacillus</i>	22
1.5. Бактерії роду <i>Pseudomonas</i>	24
1.6. Бактерії роду <i>Acinetobacter</i>	27
1.7. Бактерії роду <i>Staphylococcus</i>	29
1.8. Бактерії роду <i>Stenotrophomonas</i>	30
1.9. Бактерії роду <i>Streptomyces</i>	33
1.10 Бактерії роду <i>Enterococcus</i>	35
1.11. Інші роди бактерій	37
РОЗДІЛ 2. РОЛЬ ДРІЖДЖІВ У БІОСИНТЕЗІ НАНОЧАСТИНОК СЕЛЕНУ	41
2.1. Дріжджі <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	41
2.2. Інші роди дріжджів	44
РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	50
3.1. Культивування дріжджів <i>Saccharomyces cerevisiae</i> M437	50
3.2. Внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок селену.....	51
3.2.1. Отримання біомаси дріжджів.....	51
3.2.2. Підготовка попередника (селеніту натрію).....	51
3.2.3. Процес біосинтезу.....	51
3.3. Світлова мікроскопія наночастинок селену	52

3.4. УФ-видима спектрофотометрія.....	52
3.5. Визначення розміру і дзета-потенціалу синтезованих наночастинок селену	53
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	54
4.1. Обґрунтування вибору досліджуваної концентрації селеніту натрію ..	54
4.2. Внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок селену.....	56
4.3. УФ-видима спектрофотометрія.....	60
4.4. Характеристика синтезованих наночастинок селену.....	62
4.5. Механізми внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену ...	67
ВИСНОВКИ	71
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	72
ДОДАТКИ	92

ВСТУП

Селен є життєво важливим мікроелементом, що виконує ключові біологічні функції в організмі людини та тварин, проте характеризується вузьким діапазоном між фізіологічною необхідністю та токсичністю. За недостатнього надходження селену в організм виникають порушення метаболізму, епілепсія, серцево-судинні захворювання, діабет тощо, тоді як у підвищених концентраціях неорганічні форми селену можуть спричиняти токсичні ефекти (Werkneh, Gebretsadik, & Gebru, 2023). Це зумовлює потребу у безпечних та контрольованих формах його застосування. Одним із перспективних підходів є використання наночастинок селену (SeNPs), які мають підвищену біодоступність, стабільність і широкий спектр біологічної активності, а також характеризуються нижчою токсичністю порівняно з неорганічними формами (Qin, Wang, Lai, Liang, & Qian, 2025). З огляду на це, активно розвиваються біогенні методи синтезу SeNPs, що базуються на здатності мікроорганізмів відновлювати селеніт, селенат тощо до елементарного селену. Біосинтез за участі мікроорганізмів вважається екологічно безпечним, економічно доцільним та ефективним підходом, який дає змогу отримувати наночастинки з унікальними властивостями, на відміну від фізико-хімічних методів синтезу (Senthamarai, Hillary, Rajan, & Ceasar, 2024).

Для біосинтезу наночастинок селену вивчаються різні групи мікроорганізмів, насамперед бактерії родів *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Paenibacillus*, *Halomonas*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* та інших. Вони формують переважно сферичні SeNPs розміром 2-700 нм, причому морфологія й параметри наночастинок залежать від штаму та умов культивування. Механізми бактеріального біосинтезу залишаються недостатньо з'ясованими,

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.14 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Проценко М.Д.			<i>ВСТУП</i>	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.					8	3
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

але встановлено, що процес включає ферментативне та неферментативне відновлення селеніту або селенату до елементарного селену з участю оксидоредуктаз, цитоплазматичних і мембранних білків, арсенатредуктази, лігнінпероксидази, NAD(P)-залежної алкогольдегідрогенази, глутатіонредуктази та тіоредоксинредуктази. Стабільність біогенних SeNPs забезпечується дією біомолекул із функціональними групами та макромолекулярною «оболонкою», утвореною білками, амінокислотами, полісахаридами й ліпідами, що запобігає агрегації та підтримує колоїдну стабільність.

Окрім бактерій, важливими об'єктами для біосинтезу наночастинок селену є дріжджі, зокрема представники роду *Saccharomyces*. На відміну від багатьох бактерій і грибів, дріжджі є простішими у роботі. Вони не потребують специфічних заходів біобезпеки та здатні формувати стабільні SeNPs із відтворюваними характеристиками, що робить їх перспективними для біотехнологічних застосувань (Grasso et al., 2020; Ao et al., 2023). Їхнє використання особливо актуальне у контексті харчової промисловості, оскільки дріжджі вже широко застосовуються у харчових технологіях і мають статус безпечних мікроорганізмів.

Біосинтезовані наночастинок селену проявляють широкий спектр біологічної активності, включаючи антимікробні, протигрибкові, антиоксидантні та протипухлинні властивості. Вони ефективні проти *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (Hussein et al., 2022), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* (Abdel-Moneim et al., 2022), *Vibrio parahaemolyticus* (Vinu et al., 2021; Zhang et al., 2021), *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* (Huang et al., 2020), а також грибів *Fusarium verticillioide*, *Fusarium graminearum* та *Alternaria alternata* (Hu et al., 2019). Такі властивості дозволяють використовувати SeNPs у виробництві активної харчової упаковки на основі біополімерів, екологічної альтернативи синтетичним пакувальним матеріалам (Ao et al., 2023; Ndwandwe et al., 2021). Додавання SeNPs до біополімерних плівок подовжує термін зберігання фундуку, волоських горіхів, картопляних чіпсів, шинки, курятини та готових

овочів (Vera et al., 2018), а також свіжості міні-кві (Jamróz et al., 2019a) і рибних продуктів (Jamróz et al., 2019b). Їх механізм дії пов'язаний з ушкодженням клітинної стінки бактерій, порушенням структури ДНК і запуском апоптозу, при цьому ефективність зберігається навіть щодо мультирезистентних штамів. Виражена антиоксидантна активність SeNPs додатково уповільнює окиснювальні процеси в харчових продуктах, запобігаючи їх псуванню.

Перспективним напрямом є також використання SeNPs у тваринництві як кормових добавок, оскільки вони сприяють покращенню здоров'я та продуктивності тварин і забезпечують збагачення харчових продуктів селеном (Malyugina et al., 2021). Доведено позитивний вплив SeNPs на приріст маси курчат бройлерів (Nabi et al., 2020) та ріст різних видів риб, включаючи нільську тілапію (Ghazi et al., 2021; Ibrahim et al., 2021) та білого амура (Zhang et al., 2022). У сукупності ці дані свідчать про вагомий потенціал біогенних наночастинок селену та підкреслюють необхідність подальшого дослідження мікроорганізмів, умов біосинтезу, механізмів утворення й властивостей SeNPs, а також напрямів їх практичного застосування у харчовій промисловості, медицині та агробіотехнологіях.

Мета дослідження. Дослідити можливість та особливості внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* M437 та охарактеризувати їх фізико-хімічні властивості.

Практичне значення роботи. Результати роботи підтверджують перспективність використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437 як безпечного та простого у культивуванні біологічного агента для біосинтезу наночастинок селену, які мають потенційне застосування у різних галузях промисловості.

Наукова новизна. Для дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437 при їх культивуванні на середовищі YPD показано здатність до внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену з подальшим їх вивільненням у середовище.

РОЗДІЛ 1.

БІОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК СЕЛЕНУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ БАКТЕРІЙ

1.1. Бактерії роду *Bacillus*

Дослідники з багатьох країн світу виділяли та вивчали різноманітні штами роду *Bacillus*, знайдені у геологічно відмінних регіонах. Зокрема, бактерії *Bacillus subtilis* AL43, отримані із забруднених важкими металами ґрунтів Єгипту, виявили значну стійкість до селеніту. У процесі інкубації цей штам продукував стійкі наночастинки селену (SeNPs), поверхня яких містила білки, феноли та полісахариди, що надавало їм антиоксидантних властивостей проти радикалів ABTS і DPPH (Abdel-Moneim та ін., 2022). У свою чергу, досліджені бактерії *Bacillus oceanisediminis* D54, виділені з іранських солоних водойм, також утворювали сферичні SeNPs, які відзначалися високою стабільністю за рахунок пептидів та амінокислот на поверхні (Abdollahnia, Makhdoumi & Eshghi, 2020). Важливим аспектом біосинтезу SeNPs є налаштування параметрів культивування. Більшість наукових робіт фокусується на оптимізації концентрації попередника (наприклад, селеніту натрію), температури, рН середовища та часу інкубації, що дозволяє максимізувати вихід SeNPs індивідуально для кожного підібраного штаму бактерій роду *Bacillus*. Так, введення дріжджового екстракту безпосередньо в ході біосинтезу покращило продуктивність отримання SeNPs за участі *Bacillus* sp. ЕКТ1 (Акçау & Аvcı, 2020). Оригінальний підхід до підвищення ефективності синтезу SeNPs описали у своїй роботі Al-Nagar та співавтори, запропонувавши застосування гамма-випромінювання при культивуванні бактерій *Bacillus niabensis* OAB2 для отримання стабільніших

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.14 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Проценко М.Д.			<i>РОЗДІЛ 1. Біосинтез наночастинок селену при використанні бактерій</i>	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.					11	30
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

паличкоподібних SeNPs, які в підсумку виявили потужну антимікробну дію, що перевершує традиційні антибіотики, зокрема проти *Bacillus subtilis* та *Staphylococcus aureus* (Al-Hagar, Abol-Fotouh, Abdelkhalek, Elsoud, & Sidkey, 2021).

Стосовно характеристики наночастинок, з опрацьованої літератури відомо, що синтезовані SeNPs мають переважно сферичну, рідше – паличкоподібну форму, яка залежить від умов біосинтезу. Продуковані SeNPs можуть формуватися як позаклітинно, що полегшує їх очищення, так і внутрішньоклітинно, з подальшим вивільненням назовні після руйнування клітинної оболонки. Прикладом позаклітинного синтезу є застосування супернатанту *Bacillus clausii*, доповненого селенітом натрію. Процес супроводжувався зміною забарвлення середовища з жовтого на червоне протягом 24 годин, що свідчило про формування SeNPs. УФ-спектроскопія зафіксувала пік на 270 нм, який зростав до 48 годин, підтверджуючи максимальне відновлення SeO_3^{2-} до Se^0 . Енергетична дисперсійна спектроскопія (EDS) визначила склад частинок: Se (20,24%), O (21,48%), C (57,01%) та інші елементи в менших частках. Отримані SeNPs були стабільними завдяки природному біомолекулярному покриттю та демонстрували антибактеріальну активність проти широкого спектру бактерій, окрім *Salmonella typhi* (Al-Shemmary, Malallah, Al-Mashhadi, Jaber & Shaker, 2022). У ході дослідження синтезу SeNPs з *Bacillus amyloliquefaciens* SRB04 виявлено, що цей штам толерантний до 75 мМ селеніту натрію. Оптимізація включала варіювання концентрації селеніту, біомаси та часу інкубації. УФ-спектроскопія показала батохромний зсув піку з 255 до 296 нм при зростанні концентрації селеніту, що вказує на ріст частинок. FTIR-аналіз виявив функціональні групи (амін, гідроксил, карбоксил, альдегід), які сприяють стабільності SeNPs. Рентгенівська дифракція підтвердила їх аморфну структуру (Ashengroph & Hosseini, 2021).

Ізольовані із прісної води *Bacillus* sp. B2 також виявили здатність до синтезу SeNPs. Аналіз FTIR показав присутність білків, полісахаридів і функціональних груп, що забезпечували стабільність наночастинок (Bharathi

та ін., 2020). Інше дослідження продемонструвало, що *Bacillus paramycooides* SP3 із шахтних відкладень відновлюють селеніт у два етапи: спершу білки перетворюють його на селеніди, які потім гідролізуються в елементарний селен. Отримані SeNPs мали негативний заряд, що запобігало агломерації та підтримувало стабільність суспензії (Borah та ін., 2021). Використання культури *Bacillus subtilis* дозволило отримати сферичні SeNPs із підтвердженою стабільністю та аморфною структурою. Біомедичні тестування на *Danio rerio* показали відсутність токсичності SeNPs при низьких концентраціях, проте при високих рівнях фіксувалися кардіотоксичні ефекти (Chandramohan, Sundar & Muthukumar, 2018). Пробиотичні бактерії *Bacillus subtilis* T5 виявили високу стійкість до селеніту (200 мМ) та здатність конвертувати 73% селеніту на стабільні SeNPs протягом 36 годин. FTIR-аналіз виявив білкове покриття, що гарантувало стабільність наночастинок. Крім того, штам синтезував селенові полісахариди, які мають високий вміст селену та підвищену біоактивність, а також виявляв значну антиоксидантну активність (Duan та ін., 2022). *Bacillus safensis* JG-B5T утворювали позаклітинні SeNPs з білковою оболонкою, що знижує їхню токсичність і сприяє стабільності, хоча частинки були схильні до осадження (Fischer та ін., 2020).

Дослідження ґрунтових ізолятів із Бангалору дало змогу виділити бактерії, які за участі аскорбінової кислоти продукували овальні SeNPs розміром 209-748 нм. Наночастинки проявили антиоксидантну, антибактеріальну активність, особливо проти *Escherichia coli*, та протигрибкову ефективність (Greeshma & Mahesh, 2019). Із супернатанту *Bacillus megaterium* із селенистою кислотою отримували сферичні SeNPs розміром 41,2 нм, які демонстрували протигрибкові властивості проти *Rhizoctonia solani* та стимулювали ріст рослин. Наночастинки посилювали стійкість рослин до стресу, збільшуючи вміст хлорофілу та фенольних сполук (Hashem та ін., 2021). Бактерії *Bacillus subtilis* SE201412, ізольовані із ферментованих тютюнових відходів, виявили надзвичайну стійкість до селеніту (66 000 мг/л), перетворюючи його на сферичні SeNPs розміром 126

нм із низькою токсичністю (LD50 2710 мг/кг). Використання цього штаму у ферментаційних системах відкриває перспективи для його впровадження в сільському господарстві (Huang та ін., 2023). Ізолят *Bacillus cereus* AJK3, одержаних із поверхневих вод озера, синтезував стабільні SeNPs за участю мембранних білків та білків супернатанту. Спектроскопія FTIR підтвердила роль функціональних груп у стабілізації наночастинок, що забезпечувало їхню колоїдну природу та антиоксидантну активність (Kora, 2018a). Бактерії *Bacillus altitudinis* LH18, виділені із ґрунту поблизу селенової шахти в провінції Хубей, проявили високу толерантність до селеніту натрію (до 300 ммоль/л) і здатність ефективно відновлювати його до SeNPs за 24-48 годин. Характеристика методом FTIR підтвердила участь білків і полісахаридів у стабілізації наночастинок (Li та ін., 2024).

Бактерії *Bacillus paramycoides* 24522 з озерного осаду (Китай) продемонстрували 99,12% ефективності відновлення селеніту натрію за 24 години. Виявлено, що цитоплазматичні білки відіграють ключову роль у біосинтезі та стабілізації SeNPs, які проявляють антибактеріальну активність проти *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* (Liu та ін., 2023). Інші, *Bacillus cereus* VIPC04, виділені з нафтохімічного комплексу в Ірані, відновлювали селенат до селеніту та елементарного селену за допомогою оксидоредукційних систем, що дозволяло уникнути хімічних стабілізаторів у процесі синтезу (Pouri, Motamedi, Honary & Kazeminezhad, 2017). *Bacillus subtilis* AS12 з ґрунтів поблизу промислових каналів виявили високу ефективність у відновленні селеніту до SeNPs, які характеризувалися антибактеріальною активністю навіть при низьких концентраціях. Також наночастинок покращували ріст риб завдяки підвищенню активності травних ферментів (Saad, Sitohy, Sultan-Alolama, El-Tarabily & El-Saadony, 2022). Бактерії *Bacillus subtilis* BSN313 із традиційного китайського ферменту «Jiuqu» синтезували SeNPs, стабілізовані полісахаридами, які мали антиоксидантну та антибактеріальну активність (Ullah та ін., 2021). *Bacillus subtilis* SR41 продукували SeNPs із екзополімерами, які ефективно боролися з оксидативним стресом завдяки високому вмісту полісахаридів і білків. Це

підвищувало їхню біологічну активність і стійкість у різних умовах (Wang та ін., 2022a). Подібні результати показали *Bacillus paralicheniformis* Y4, які продукували SeNPs з високою стабільністю та пробіотичними властивостями (Wang та ін., 2022b). *Bacillus licheniformis* F1, ізольовані із ґрунтів Китаю, синтезували SeNPs із високою ефективністю (99,19 %), що свідчить про потенціал застосування в промислових масштабах. SeNPs цього штаму мають білкове покриття, яке забезпечує високу біологічну активність і низький ризик поширення антибіотикорезистентності (Wang та ін., 2024c).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Синтез наночастинок селену при використанні бактерій роду *Bacillus*

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Культуральна рідина</i>			
<i>Bacillus oceanisediminis</i> D54	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 40 °С, 150 об/хв, 72 год	Сферичні 25,7-708,1 нм	Abdollahnia, Makhdoumi, Mashreghi, & Eshghi, 2020
<i>Bacillus subtilis</i> AL43	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , рН 7,2, 30 °С, 150 об/хв, 24 год	Сферичні 45-80 нм	Abdel-Moneim та ін., 2022
<i>Bacillus paralicheniformis</i> Y4	50 мМ Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 180 об/хв, 48 год	Сферичні 70-120 нм	Wang та ін., 2022
<i>Bacillus safensis</i> JG-B5T	2,5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30 °С, 120 об/хв, 336 год	Сферичні 85-450 нм	Fischer та ін., 2020
<i>Bacillus paramycoides</i> 24522	2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, рН 6, 140 об/хв, 24 год	Сферичні 100-180 нм	Liu та ін., 2023
<i>Bacillus licheniformis</i> F1	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 180 об/хв, 37 °С, 36 год	Сферичні 110-170 нм	Wang та ін., 2024
<i>Bacillus paramycoides</i> SP3	10 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30° С, 150 об/хв, 72 год	Сферичні 120-170 нм	Borah та ін., 2021
<i>Bacillus altitudinis</i> LH18	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 180 об/хв	Сферичні 228,5 нм	Li та ін., 2024

Біомаса			
<i>Bacillus subtilis</i> AS12	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30 °С, 180 об/хв, 72 год	Сферичні 25-85 нм	Saad, Sitohy, Sultan-Alolama, El-Tarabily & El-Saadony, 2022
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SRB04	2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 60 год	Сферичні 45,4-68,3 нм	Ashengroph & Hosseini, 2021
Супернатант			
<i>Bacillus</i> sp. B2	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 18- 20 °С	Сферичні 20-50 нм	Bharathi та ін, 2020
<i>Bacillus megaterium</i>	1 мМ H ₂ SeO ₃ , 25 °С	Сферичні 29,72- 74,36 нм	Hashem та ін., 2021
<i>Bacillus cereus</i> EKT1	6,4 мМ SeO ₂ , рН 9, 33 °С, 120 об/хв, 72 год	Сферичні 31-335 нм	Akçay & Avcı, 2020
<i>Bacillus clausii</i>	0,004 г Na ₂ SeO ₃ на 5 мл, рН 8,3, 150 об/хв, 37 °С, 24 год	Сферичні 40-150 нм	Al-Shemmary, Malallah, Al- Mashhadi, Jaber & Shaker, 2022
Безклітинний водний екстракт			
<i>Bacillus</i> sp. Q33	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 33 °С, 180 об/хв, 48 год	Тетрагональні 218,6 нм	Zhang та ін, 2022

Отже, бактерії роду *Bacillus*, ізольовані з різних джерел, проявляють високу здатність до біосинтезу стабільних наночастинок селену. Ці наночастинки переважно сферичної форми. Важливу роль у стабілізації SeNPs відіграють білки, полісахариди, пептиди й інші біомолекули, які утворюють природне покриття, забезпечуючи колоїдну стабільність, біоактивність і зниження токсичності наночастинок. Оптимізація параметрів культивування, таких як концентрація селеніту, рН, температура, час інкубації, а також використання додаткових факторів підвищує продуктивність та якість синтезу SeNPs. Ці наночастинки демонструють широкий спектр властивостей: антиоксидантну, антибактеріальну, протигрибкову, а також здатність стимулювати ріст рослин і покращувати фізіологічні процеси у тварин. Отримані результати підтверджують значний потенціал використання

бактерій роду *Bacillus* для отримання біосумісних SeNPs із перспективами застосування у харчовій промисловості, сільському господарстві, екологічних технологіях та промислових біопроесах.

1.2. Бактерії родів *Lysinibacillus* та *Paenibacillus*

Рід *Lysinibacillus* належить до родини *Bacillaceae*. На відміну від класичних представників роду *Bacillus*, клітинна стінка цих бактерій містить специфічний пептидоглікан, до складу якого входять лізин, аланін, а також аспарагінова та глутамінова кислоти. У свою чергу, *Paenibacillus* є родом грам-позитивних паличкоподібних бактерій, здатних до спороутворення. Історично ці організми належали до групи 3 рНК роду *Bacillus*, проте у 1993 році дослідники Еш, Пріст і Коллінс ініціювали їх виокремлення у самостійний рід *Paenibacillus*, визначивши *Paenibacillus polymyxa* як типовий вид. Представники обох зазначених родів виявляють значний потенціал у сфері біосинтезу наночастинок селену, що зумовлено їхньою ефективністю у відновленні селеніту натрію до елементарної форми селену.

Для отримання SeNPs із культуральної рідини використовували бактерії *Lysinibacillus* sp. NOSK. У ході оптимізації процесу встановлено критичне значення таких параметрів, як час інкубації та рН середовища. Методом FTIR на поверхні часток ідентифіковано полісахариди, ліпіди та білки, тоді як SEM-аналіз засвідчив їхню монодисперсність. Термогравіметричний аналіз (TGA) довів високу термостійкість отриманих SeNPs. Біогенні наночастинок продемонстрували антимікробну дію відносно *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*, інгібували формування біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* і не виявляли цитотоксичного впливу на клітини лінії HaCaT навіть у високих дозах. Створення композитів SeNPs із нановолокнистими структурами сприяло кращій клітинній адгезії та біосумісності, відкриваючи перспективи для біомедицини (San Keskin, Akbal Vural & Abaci, 2020).

Вивчення ізольованих із китайських ґрунтів штамів *Lysinibacillus xylanilyticus* DS3 та *Lysinibacillus macrolides* DS15 виявило їхню стійкість до

значних концентрацій селеніту (МК 120 та 220 ммоль/л відповідно). За 36 годин ці штами забезпечували відновлення селеніту до елементарного стану з ефективністю понад 99,9%. За допомогою SEM і TEM зафіксовано формування SeNPs як внутрішньоклітинно, так і в зовнішньому середовищі. Зазначені мікроорганізми є перспективними для біофортificaції, очищення забруднених екосистем та медичного синтезу наноматеріалів (Zhang та ін., 2019).

Paenibacillus motobuensis LY5201, виділені із традиційної китайської квашеної капусти, показали значну толерантність до селеніту (173 ммоль/л) та здатність до ефективного продукування SeNPs. Низький індекс полідисперсності (PDI) свідчив про відсутність агрегації частинок, що є ключовим для їхньої однорідності. Результати FTIR-аналізу підтвердили наявність білкового покриття, яке гарантує стабільність наноструктур (Long та ін., 2023). У дослідженнях із використанням бактерій *Paenibacillus terreus*, знайдених в гірських районах Індії, отримані біогенні SeNPs були функціоналізовані ністатинном за допомогою полівінілпіролідону (PVP). Поява характерного піку поглинання в УФ-спектрі (~270 нм) вже через 6 годин свідчила про успішний синтез. Така модифікація забезпечила стабільність частинок, знизила токсичність ністатину та посилила його дію проти *Candida albicans*. Цей метод відкриває нові перспективи в терапії грибкових захворювань (Nile та ін., 2023).

На основі опрацьованих статей складено узагальнюючу таблицю (табл 1.2).

Бактерії родів *Lysinibacillus* і *Paenibacillus* відзначаються високою ефективністю у біосинтезі стабільних наночастинок селену завдяки здатності відновлювати селеніт натрію до елементарної форми селену. Оптимізація параметрів культивування, зокрема часу інкубації та рН, разом із характерною оболонкою (полісахариди, білки, ліпіди), забезпечує отримання монодисперсних, термостійких і біосумісних наночастинок. SeNPs, отримані з використанням цих бактерій, демонструють значну антимікробну активність, інгібуючи формування біоплівки патогенних бактерій і проявляючи низьку

цитотоксичність на нормальних клітинних лініях. Це робить їх перспективними агентами для застосування в біомедицині, зокрема у створенні біосумісних матеріалів та покращенні терапевтичних засобів. Додатково, виявлена висока толерантність штамів бактерій родів *Lysinibacillus* і *Raenibacillus* та їх здатність до швидкого та ефективного відновлення селеніту (понад 99,9 %) підтверджує перспективність їх використання в екологічних технологіях, таких як біофортифікація та очищення забруднених середовищ.

Таблиця 1.2

Бактерії родів *Lysinibacillus* та *Raenibacillus* для синтезу наночастинок селену

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Культуральна рідина</i>			
<i>Lysinibacillus macroides</i> DS15, <i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> DS3	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , 35 °С, 180 об/хв, 36 год	Внутрішньоклітинні та позаклітинні сферичні, 80-200 нм	Zhang та ін., 2019
<i>Raenibacillus motobuensis</i> LY5201	5,0 г/л Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 200 об/хв, 24 год	Позаклітинні сферичні 100 нм	Long та ін., 2023
<i>Raenibacillus terreus</i>	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , 150 об/хв, 37 °С, 24 год	Сферичні 200 нм	Nile та ін., 2023
<i>Супернатант</i>			
<i>Lysinibacillus</i> sp. NOSK	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 150 об/хв, 72 год	Сферичні 130 нм	San Keskin, Akbal Vural & Abaci, 2020

1.3. Бактерії роду *Halomonas*

Галофільні бактерії виявляють значний потенціал у сфері «зеленого» синтезу наночастинок селену, що створює широкі перспективи для їх впровадження у медицині, екологічних технологіях та біотехнологічній галузі. Помірно галофільні *Halomonas boliviensis* Н-10, ізольовані з чилійської пустелі

Атакама, продемонстрували здатність ефективно трансформувати селеніт в елементарний селен, формуючи при цьому сферичні SeNPs. Дослідження методом TEM підтвердило акумуляцію наночастинок відповідного розміру як всередині клітин, так і в позаклітинному просторі. Аналіз SEM-EDS засвідчив наявність SeNPs та ідентифікував піки селену, що доводить їхній склад. Піки, які відповідають натрію, хлору, кисню та вуглецю, пов'язували з компонентами поживного середовища та клітинними ексудатами (Bravo та ін., 2024).

Культури *Halomonas elongata*, отримані з архіву Іранського біологічного ресурсного центру, були застосовані для екологічного синтезу SeNPs. Одержані наночастинок виявили фунгіцидну дію відносно *Candida albicans*, інгібуючи розвиток грибка більш ніж на 70%. Спектроскопія FTIR показала наявність карбонільних, амідних і гідроксильних груп, які забезпечували стабільність SeNPs та сприяли їх утворенню. TEM-зображення підтвердили сферичну морфологію часток розміром 5-25 нм, тоді як UV-Vis спектр зафіксував специфічний пік поглинання при 267 нм, вказуючи на адгезію білкових сполук на поверхні. Термічне дослідження виявило два етапи втрати маси наночастинок при нагріванні до 800°C, що є свідченням їхньої стійкості (Safaei та ін., 2022).

Також продукування SeNPs здійснювалося за оптимальних умов за участю двох видів галофільних мікроорганізмів: *Halomonas elongata* IBRC-M 10214 та *Salinicoccus iranensis* QW6 IBRC-M 10198. Методом UV-Vis зареєстровано піки поглинання на рівні 294 нм, що засвідчило формування наночастинок. FTIR-спектри продемонстрували присутність біополімерів клітинних оболонок, які виконують роль відновників у процесі синтезу. Структурні розбіжності клітинних стінок грамнегативних *Halomonas elongata* та грампозитивних *Salinicoccus iranensis* зумовили певні відмінності у спектрах FTIR. Аналізи XRD та EDX підтвердили кристалічність і елементний склад SeNPs, при цьому вищий дзета-потенціал у випадку *Salinicoccus iranensis* вказував на кращу стабільність цих наночастинок (Tabibi, Aghaei, Amoozegar, Nazari & Zolfaghari, 2023).

Окрім того, вивчення властивостей SeNPs, синтезованих *Halomonas elongata* та *Salinicoccus iranensis*, показало їх виражену антибактеріальну активність проти *Staphylococcus aureus* і *Salmonella enterica*, антиоксидантний ефект та здатність пригнічувати проліферацію ракових клітин ліній HT-29 і MCF7. Рівень ефективності дії прямо залежав від концентрації застосованих наночастинок (Tabibi, Agaei, Amooszegar, Nazari & Zolfaghari, 2020).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.3).

Таблиця 1.3

Біосинтез наночастинок селену за допомогою бактерій роду *Halomonas*

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Культуральна рідина</i>			
<i>Halomonas elongata</i> 10214	8 мМ Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 150 об/хв, 72 год	Сферичні 30-100 нм	Tabibi, Agaei, Amooszegar, Nazari & Zolfaghari, 2020
<i>Halomonas elongata</i> IBRC-M 10214	6 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30 °С, 150 об/хв, 72 год	Внутрішньоклітинні сферичні 50-100 нм	Tabibi, Agaei, Amooszegar, Nazari & Zolfaghari, 2023
<i>Halomonas boliviensis</i> H-10	0,5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 25 °С, 24 год	Внутрішньоклітинні та позаклітинні сферичні 80-300 нм	Bravo та ін., 2024
<i>Супернатант</i>			
<i>Halomonas elongate</i>	0,8 мг/мл Na ₂ SeO ₃ , 30 °С, 140 об/хв, 48 годин	Сферичні 5-25 нм	Safaei та ін., 2022

Галофільні бактерії роду *Halomonas* демонструють великий потенціал для біосинтезу наночастинок селену з рядом корисних властивостей. Вони здатні ефективно відновлювати селеніт до елементарного селену, формуючи стабільні сферичні наночастинок різного розміру, як внутриклітинно, так і позаклітинно. SeNPs, отримані з використанням цих мікроорганізмів, відзначаються високою стабільністю, що підтверджується спектроскопічними, термічними та електрохімічними методами аналізу. Вони

проявляють значний фунгіцидний, антибактеріальний і антиоксидантний ефекти, а також здатність пригнічувати ріст ракових клітин, що відкриває перспективи їх використання у медицині, зокрема для розробки нових терапевтичних засобів. Значна різниця у структурі клітинних стінок грамнегативних і грампозитивних галофілів впливає на особливості синтезу та стабілізації SeNPs, що слугує базою для подальшого вдосконалення процесів біосинтезу з урахуванням специфіки бактерій. Водночас такі наноматеріали мають потенціал у біотехнологіях, що робить їх привабливим напрямком для досліджень і практичної реалізації.

1.4. Бактерії роду *Lactobacillus*

Біосинтез наночастинок селену за допомогою молочнокислих бактерій вважається перспективним вектором наукових пошуків, зважаючи на біосумісність та екологічну безпеку кінцевих продуктів. Культуральний екстракт *Lactobacillus acidophilus* використовували для позаклітинного продукування SeNPs, інтенсивність якого сягала піку в логарифмічній фазі росту цих мікроорганізмів. Синтезовані наночастинки зберігали стабільність упродовж двох місяців та характеризувалися дрібнішими розмірами порівняно з результатами попередніх робіт. Методом FTIR-спектроскопії зафіксовано присутність амідних зв'язків і фенольних сполук, що вказує на залучення білків до механізму синтезу. SeNPs виявили здатність руйнувати біоплівки, посилювати дію окислювальних ферментів та інгібувати розвиток патогенних бактерій шляхом продукування реактивних форм кисню (ROS). Зазначені властивості уможливають їх застосування як покриття для біомедичного інструментарію, наприклад катетерів, з метою профілактики формування біоплівок (Alam та ін., 2020).

Бактерії *Lactobacillus acidophilus* DSMZ20079T (GRAS) показали здатність до відновлення селеніту натрію у SeNPs при концентраціях до 10 мМ. Процес синтезу реалізувався через реакцію селеніту з глутатіоном із утворенням селенодиглутатіону, який згодом трансформується в Se^0 . Стабільність наночастинок забезпечувалася ліпідами, полісахаридами та

білками, які утворювали захисну оболонку. Хоча наявність такого покриття зменшувала антибактеріальну активність через ускладнене проникнення частинок крізь мембрани, SeNPs все ж виявили незначний інгібуючий ефект щодо *Staphylococcus aureus*, тоді як до *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli* виявилися нечутливими (El-Mahallawy, Allam, El-Kemary & Azab, 2023).

Культури *Lactobacillus casei* ATCC 393 продукували SeNPs, що акумулювалися внутрішньоклітинно на етапі експоненційного росту та вивільнялися назовні у стаціонарній фазі. Елементний аналіз підтвердив вміст у складі SeNPs селену, фосфору, сірки, азоту та вуглецю. За допомогою FTIR-спектроскопії ідентифіковано функціональні групи, асоційовані з полісахаридами та білками, що виступали стабілізаторами наночастинок. Окрім антиоксидантних характеристик, SeNPs виявили здатність спричиняти загибель пухлинних клітин шляхом апоптозу, що індукується дисфункцією мітохондрій та окисним стресом. Наночастинки стимулювали експресію проапоптотичних білків (bax, p53, каспаза-3) і паралельно знижували рівні антиапоптотичного білка bcl-2, регулюючи сигнальні каскади клітинної смерті. Додатково SeNPs посилювали активність антиоксидантних ферментів, зокрема глутатіонпероксидази (GPx), що забезпечує захист клітин від вільнорадикального пошкодження (Xu, Qiao, Guo, Ma & Cheng, 2018).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.4).

Таблиця 1.4

Використання бактерій роду *Lactobacillus* для отримання наночастинок селену

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Культуральна рідина</i>			
<i>Lactobacillus acidophilus</i> DSMZ20079T	9 мМ Na ₂ SeO ₃ , 35 °С, 170 об/хв, 48 год	Внутрішньоклітинні сферичні 8,6-23,2 нм	El-Mahallawy, Allam, El-Kemary & Azab, 2023
<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	1,2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 24 год	Внутрішньоклітинні сферичні 50-80 нм	Xu, Qiao, Guo, Ma & Cheng, 2018

Супернатант			
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	15 мМ Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 180 об/хв, 48 год	Сферичні 2-15 нм	Alam та ін., 2020

Біосинтез SeNPs з використанням молочнокислих бактерій, таких як *Lactobacillus acidophilus* та *Lactobacillus casei*, є перспективним напрямом завдяки високій біосумісності та екологічній безпеці наночастинок. SeNPs, отримані з використанням цих бактерій, демонструють стабільність завдяки природному покриттю з білків, полісахаридів та ліпідів. Наночастинки селену проявляють значний потенціал в біомедицині: здатні руйнувати біоплівки патогенних мікроорганізмів, інгібувати їхній розвиток через продукування реактивних форм кисню, а також слугувати захисним покриттям медичного інструментарію. Окрім антимікробної активності, SeNPs викликають апоптоз пухлинних клітин, регулюючи ключові білкові реакції, що призводять до клітинної смерті, і підвищують активність антиоксидантних ферментів, що забезпечує захист від окислювального стресу. Таким чином, застосування молочнокислих бактерій у синтезі SeNPs відкриває перспективи для розвитку нових екологічно безпечних наноматеріалів з комбінованими антибактеріальними, протипухлинними та антиоксидантними властивостями, що важливо для медицини та біотехнологій.

1.5. Бактерії роду *Pseudomonas*

Значні перспективи бактерій *Pseudomonas aeruginosa* та *Pseudomonas stutzeri* проявляються у сфері біосинтезу SeNPs, передусім для завдань біоремедіації та створення антимікробних засобів. У роботі (Jassim & Al-Shibly, 2024) досліджувався процес утворення наночастинок селену за участі бактерій *Pseudomonas aeruginosa*, а також оцінювалася їхня антибактеріальна ефективність. Ізоляти, отримані з опікових та ранових поверхонь, піддавали впливу SeNPs, які виявили активність, що прямо залежала від концентрації. Мінімальний інгібуючий ефект фіксувався при 125 µg/ml, помірний – при 250

µg/ml, тоді як доза 1000 µg/ml забезпечувала максимальне пригнічення всіх тестованих мікроорганізмів, серед яких *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli* та *Candida albicans* (Jassim & Al-Shibly, 2024).

Інша наукова праця свідчить, що виділені з водного середовища бактерії *Pseudomonas stutzeri* MH191156 здатні продукувати SeNPs на альтернативних субстратах, таких як екстракт бананової шкірки (BPE) та триптофан, що дозволяє здешевити синтез. На UV-Vis спектрах відзначено пік поглинання в районі 370 нм, а методом FTIR ідентифіковано зв'язки C=O та O-H, які сприяють стабілізації наночастинок. Отримані SeNPs виявили потенціал до індукції апоптозу в ракових клітинах, пригнічуючи клоногенність і проліферацію лінії HeLa, а також проявляли антиангіогенні властивості (Rajkumar, Mvs, Koganti & Burgula, 2020).

Наступне дослідження довело можливість реалізації як внутрішньо-, так і позаклітинного синтезу SeNPs із залученням галофільних бактерій *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Пік поглинання при 275 нм був зафіксований УФ-спектроскопією, тоді як рентгенівська дифракція (XRD) засвідчила кристалічну природу SeNPs. Аналіз FTIR показав присутність білкових амідних зв'язків, а також груп C-H, C-O та C-Cl, що підвищують стабільність наночастинок та перешкоджають їх агрегації. Методом скануючої електронної мікроскопії (SEM) візуалізовано сферичну морфологію та гомогенний розподіл SeNPs (Shakeri, Zaboli, Fattahi & Babavalian, 2022).

Окреме дослідження фокусувалося на біоремедіації селеніту за допомогою бактерій *Pseudomonas stutzeri* NT-I. За допомогою TEM підтверджено факт позаклітинного формування сферичних SeNPs. Зростання концентрації селеніту прискорювало відновлення, а зниження окислювально-відновного потенціалу (ORP) корелювало з інтенсифікацією цього процесу. Втім, при високих дозах селеніту спостерігалось пригнічення метаболічної активності бактерій, що вказує на токсичний вплив надмірних концентрацій на ріст клітин (Tenedenzai, Brink & Chirwa, 2021).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.5).

Синтез наночастинок селену при використанні бактерій роду

Pseudomonas

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
Культуральна рідина			
<i>Pseudomonas stutzeri</i> MH191156	2 мМ Na ₂ SeO ₃ , рН 6,5, 48 год	Сферичні 75-200 нм	Rajkumar, Mvs, Koganti & Burgula, 2020
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 40 °С, 24 год	Внутрішньоклітинні сферичні 260 нм	Shakeri, Zaboli, Fattahi & Babavalian, 2022
Біомаса			
<i>Pseudomonas stutzeri</i> NT-i	0,5, 2, 10 мМ Na ₂ SeO ₃ , 35 °С, рН 7, 120 об/хв, 36 год	Позаклітинні сферичні 400 нм	Tendenedzai, Brink & Chirwa, 2021

Бактерії роду *Pseudomonas*, зокрема *Pseudomonas aeruginosa* та *Pseudomonas stutzeri*, демонструють значний потенціал у біосинтезі наночастинок селену, що відкриває широкі можливості для застосування у біоремедіації, медицині та екологічних технологіях. Вони здатні утворювати стабільні сферичні SeNPs як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно, а їхні поверхневі біомолекулярні компоненти сприяють стабілізації частинок і запобігають агрегації. Отримані SeNPs проявляють виражену антибактеріальну активність проти широкого спектру мікроорганізмів, а також здатні індукувати апоптоз ракових клітин і демонструють антиангіогенні властивості. Крім того, використання альтернативних субстратів для культивування цих бактерій дозволяє знижувати витрати на синтез SeNPs. Водночас високі концентрації селеніту можуть пригнічувати метаболічну активність бактерій, що потребує оптимізації параметрів процесу для безпечного й ефективного біосинтезу. Загалом, бактерії роду *Pseudomonas* є перспективними мікроорганізмами для отримання біосумісних SeNPs із багатofункціональними властивостями для медичних і екологічних цілей.

1.6. Бактерії роду *Acinetobacter*

У науковій літературі описано експерименти, присвячені біогенному утворенню наночастинок селену за участі бактерій *Acinetobacter* sp. SW30. Для одержання SeNPs застосовували суспензію клітин цього ізоляту, при цьому спектрофотометричний аналіз виявив два максимуми поглинання в ультрафіолетовій області при 300 нм та 540 нм, що свідчить про гетерогенність розмірів утворених частинок. Найкращі показники біосинтезу фіксувалися при використанні 18-годинної культури з щільністю біомаси $2,7 \times 10^9$ КУО/мл. Формування найбільших сферичних структур відбувалося за концентрації Na_2SeO_3 на рівні 1,5 мМ, у той час як підвищення вмісту попередника до 2,5-4,0 мМ призводило до появи паличкоподібних наночастинок. Суттєвий вплив на ефективність процесу та морфологічні характеристики продуктів чинили також такі фактори, як рН середовища та температурний режим. Дослідження методами SEM та XRD засвідчило, що сферичні наночастинки характеризувалися аморфною будовою, тоді як стрижневі їх форми виявилися кристалічними. Аналіз FTIR підтвердив присутність функціональних угруповань, зокрема карбонільних, які забезпечують стабілізацію наночастинок та перешкоджають їхній агрегації (Wadhvani et al., 2017).

У згаданій роботі також проведено порівняльний аналіз протипухлинної дії SeNPs, продукованих бактеріями *Acinetobacter* sp. SW30 (BSeNP), та аналогів, отриманих хімічним шляхом (CSeNP). Обидва різновиди наночастинок виявили антипроліферативний ефект щодо клітинної лінії 4T1, проте хімічні зразки характеризувалися вищою цитотоксичністю порівняно з біогенними. Це явище, ймовірно, пояснюється позитивним дзета-потенціалом BSeNP (94 нм), що робить їх менш токсичними порівняно з негативно зарядженими CSeNP (97 нм), при цьому біогенні частинки ефективніше блокують міграцію ракових клітин. Результати вказують на значні перспективи застосування BSeNP як протиракових засобів завдяки їхній властивості гальмувати клітинну міграцію (Wadhvani et al., 2017).

Окрім того, виконувалися дослідження синтезу SeNPs із використанням очищеного ферменту лігнінпероксидази, виділеного з бактерій

Acinetobacter sp. SW30. Спектроскопія в УФ-видимій ділянці зафіксувала максимум поглинання на рівні 550 нм, що підтвердило утворення аморфних наночастинок розміром близько 100 нм. Дані EDX-аналізу довели присутність елементарного селену в складі отриманих структур. Дана робота демонструє перспективність застосування мікробних ферментів для одержання стабільних наночастинок, що має значення для розвитку нанотехнологій та біомедицини (Wadhvani, Shedbalkar, Singh & Chopade, 2018).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.6).

Таблиця 1.6

Синтез наночастинок селену при використанні біомаси бактерій роду *Acinetobacter*

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Acinetobacter</i> sp. SW30	1,5/3,0 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30 °С, 180 об/хв, 24 год	Внутрішньоклітинні сферичні, або у вигляді стрижнів 78 нм	Wadhvani та ін., 2017
<i>Acinetobacter</i> sp. SW30	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , рН 7, 37 °С, 24 год	Сферичні 100 нм	Wadhvani, Shedbalkar, Singh & Chopade, 2018

Бактерії роду *Acinetobacter* є ефективними для синтезу SeNPs. При використанні даних бактерій синтезуються як сферичні аморфні, так і паличкоподібні кристалічні структури в залежності від концентрації попередника, рН і температури біосинтезу. Природне покриття функціональними групами, зокрема карбонільними, сприяє стабілізації наночастинок та запобігає їх агрегації. Порівняльний аналіз біогенних та хімічно синтезованих SeNPs підтверджує, що біогенні частинки мають нижчу цитотоксичність, завдяки позитивному дзета-потенціалу, при цьому ефективніше інгібують міграцію ракових клітин, що робить їх перспективними для онкологічних застосувань. Використання очищених

ферментів, таких як лігнінпероксидаза, відкриває додаткові можливості контролю за синтезом стабільних і однорідних наночастинок селену, що має важливе значення для розвитку нанотехнологій в біомедицині. Таким чином, бактерії роду *Acinetobacter* є перспективними мікроорганізмами для біосинтезу функціональних SeNPs із потенціалом застосування у протипухлинній терапії та сучасних наноматеріалах.

1.7. Бактерії роду *Staphylococcus*

Сучасні наукові джерела підтверджують ефективність бактерій *Staphylococcus aureus* у процесі відновлення селеніту натрію до елементарного стану за різних концентрацій попередника, демонструючи високий відсоток видалення селену з середовища (Kora, 2018b). Вивчення біосинтезу наночастинок селену за участю бактерій *Staphylococcus aureus* здійснювалося із застосуванням комплексу аналітичних методів, зокрема UV-Vis спектроскопії, електронної мікроскопії та рентгенівської дифракції. Отримані дані засвідчили, що SeNPs характеризуються сферичною морфологією, значною стабільністю та гексагональною кристалічною решіткою. Наночастинки виявили виражену антимікробну дію, особливо проти бактерій *Escherichia coli*, при цьому механізм інгібування полягав у деструкції клітинних мембран та витоку цитоплазматичного вмісту. Також SeNPs довели свою ефективність у профілактиці формування біоплівки, зокрема утворених бактеріями *Staphylococcus aureus* (Sahoo, Panigrahi, Jena, Jha & Arakha, 2023).

Окреме дослідження продемонструвало, що наночастинки селену, функціоналізовані цистеаміном, забезпечують ефективний захист сперми баранів від оксидативного стресу під час кріоконсервації, підвищуючи життєздатність та рухливість статевих клітин. Використання цистеаміну для модифікації SeNPs також сприяло зростанню їхньої стабільності та функціональності, що підтверджено методом FTIR-спектроскопії (Salimi, Najarian, Karamishabankareh & Soltani, 2024).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.7).

**Синтез наночастинок селену при використанні культуральної рідини
бактерій роду *Staphylococcus***

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Staphylococcus aureus</i>	75 мМ Na ₂ SeO ₄ , 37°C, 120 об/хв, 48 год	Сферичні, середній розмір 119 нм	Sahoo, Panigrahi, Jena, Jha & Arakha, 2023
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 М Na ₂ SeO ₃ , 37°C, 150 об/хв, 48 год	Сферичні 119,59 нм	Salimi, Hajarian, Karamishabankareh & Soltani, 2024

Бактерії роду *Staphylococcus* ефективно відновлюють селеніт натрію до стабільних наночастинок селену сферичної форми з гексагональною кристалічною структурою. Синтезовані SeNPs демонструють значну антимікробну активність, зокрема проти *Escherichia coli*, завдяки руйнівній дії на клітинні мембрани і здатності запобігати формуванню біоплівки, що робить їх перспективними для боротьби з бактеріальними інфекціями. Функціоналізація SeNPs цистеаміном підвищує їх стабільність та біологічну активність, забезпечуючи додаткові терапевтичні властивості.

1.8. Бактерії роду *Stenotrophomonas*

Результати досліджень вказують на значні перспективи застосування представників роду *Stenotrophomonas* для одержання функціональних та стійких SeNPs. Зокрема, вивчено процес утворення наночастинок селену за участі бактерій *Stenotrophomonas maltophilia* SeITE02 та інших видів роду *Stenotrophomonas*. Біогенні SeNPs, продуковані цими мікроорганізмами, відрізнялися меншим вмістом селену порівняно з хімічними аналогами (Ch-SeNPs), проте містили супутні біомолекули – мембранні фосфоліпіди, ферменти та білки. Ці компоненти формували органічну оболонку навколо наночастинок, забезпечуючи їхню стабілізацію. Встановлено, що біогенні SeNPs проявляють виражену антимікробну дію щодо окремих ізолятів

Pseudomonas aeruginosa, ефективно інгібуючи їхній ріст та формування біоплівки, однак виявляють меншу активність проти грибів роду *Candida* (Cremonini та ін., 2016).

Характерною рисою таких наночастинок є наявність органічного шару, утвореного вуглеводами, ліпідами та білками. Ця оболонка суттєво посилює біологічну активність структур, передусім їхню здатність деструктувати біоплівки. У разі часткової чи повної деградації цього покриття фіксується зростання розмірів частинок та падіння їхньої антимікробної ефективності (Cremonini та ін., 2018). Бактерії *Stenotrophomonas maltophilia* SeITE02, виділені з ризосфери *Astragalus bisulcatus* на збагачених селеном ґрунтах, виявили здатність відновлювати селеніт до елементарного стану в аеробному середовищі. За концентрації селеніту 0,5 мМ до 94% речовини трансформувалося в Se^0 протягом 72 годин, тоді як при підвищенні концентрації ефективність процесу спадала. Отримані SeNPs характеризувалися стабільністю, яку забезпечували поверхневі органічні сполуки. На відміну від хімічно синтезованих аналогів, ці сполуки містять ліпіди та білки, що було доведено методом FTIR-аналізу (Lampis та ін., 2017).

Вивчення бактерій *Stenotrophomonas bentonitica* ВП-R7, ізольованих з іспанських бентонітів, засвідчило їхню високу толерантність до селеніту та здатність відновлювати його до елементарної форми з утворенням аморфних SeNPs. З плином часу ці частинки перетворюються на стійкі тригональні наноструктури. Механізми біосинтезу SeNPs залучають ферменти тіоредоксинредуктазу та глутатіонредуктазу, а також бактеріальні білки, зокрема джгутикові, які сприяють кристалізації та агрегації селену (Ruiz-Fresneda та ін., 2018).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.8).

Синтез наночастинок селену при використанні культуральної рідини бактерій роду *Stenotrophomonas*

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Stenotrophomonas bentonitica</i> ВІІ- R7	Культуральна рідина, 2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 28°C, 144 год	Внутрішньоклітинні та позаклітинні сферичні 30-200 нм; нанодропи, шестикутники, багатокутники тощо 30-400 нм	Ruiz-Fresneda та ін., 2018
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> SeITE02	0,5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 27°C, 200 об/хв, 24/48 год	Позаклітинні сферичні 100-300 нм	Lampis та ін., 2017
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> SeITE02	2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 27°C, 150 об/хв, 24 год	Сферичні 170,6	Cremonini та ін., 2016

Бактерії роду *Stenotrophomonas* демонструють значний потенціал для біосинтезу функціональних та стабільних SeNPs. Отримані біогенні SeNPs відрізняються наявністю органічної оболонки з білків, ліпідів і вуглеводів, що забезпечує їх стабільність та покращує антимікробну активність, особливо проти патогенних бактерій, зокрема *Pseudomonas aeruginosa*, з ефективним пригніченням росту і формування біоплівки. Відновлення селеніту в елементарний селен відбувається ефективно в аеробних умовах, проте при збільшенні концентрації попередника ефективність дещо знижується. З часом аморфні SeNPs трансформуються у стабільні кристалічні форми, що є важливим для довготривалої їх біологічної активності. Механізми синтезу включають участь ферментів тіоредоксинредуктази та глутатіонредуктази, а також бактеріальних білків, що сприяють процесам кристалізації та агрегації. Ці властивості роблять бактерії роду *Stenotrophomonas* перспективними агентами для біосинтезу наночастинок селену із потенційним застосуванням у медицині та екологічній біотехнології.

1.9. Бактерії роду *Streptomyces*

У наукових працях досліджено біосинтез наночастинок селену із залученням різноманітних представників актинобактерій роду *Streptomyces*. Досліджені ізоляти виявили здатність до продуктивної трансформації селеніту (Se(IV)) в елементарний селен (Se⁰) з утворенням наночастинок, зокрема селенових нанострижнів (SeNrs).

Під час експериментів із бактеріями *Streptomyces bikiniensis* зафіксовано виражену протипухлинну дію біогенних SeNrs на клітинні лінії MCF-7 та Hep-G2, яка корелювала з концентрацією препарату. Принцип дії цих нанострижнів базується на реакції з ендогенною міддю в ракових клітинах, що провокує генерацію реактивних форм кисню (ROS) та призводить до деструкції клітин (Ahmad, Yasser, Sholkamy, Ali & Mehanni, 2015). Водночас культури *Streptomyces parvulus* MAR4 синтезували не лише стандартні SeNPs, але й їхні комплекси з нанохітозаном (Se/Ch-нанокон'югати), які відзначалися стабільністю в розчинах, низьким індексом полідисперсності (PDI) та потужним антимікробним впливом як на грамнегативні бактерії, так і на патогенні гриби. Додатково зазначені нанокон'югати виявили значну цитотоксичність щодо клітин карциноми нирки (Caki-1) та раку печінки (HepG2), що відкриває перспективи їх використання в медицині (Hassan, Nawwa, Baraka, El-Shora & Hamed, 2024).

Бактерії *Streptomyces* sp. M10A65, виділені з магнезитових шахт, також продемонстрували високу ефективність у продукуванні SeNPs. Методом FTIR-спектроскопії ідентифіковано стабілізуючі біомолекули на поверхні часток, а їхня антибактеріальна дія виявилася найбільш вираженою проти грамнегативних мікроорганізмів, зокрема *Escherichia coli*. Окрім того, SeNPs проявили ларвіцидні властивості проти личинок комарів та токсичний вплив на дощових черв'яків (Ramya, Shanmugasundaram & Balagurunathan, 2020). Отримані з ґрунтів регіону Меркара бактерії *Streptomyces griseoruber* також здійснювали синтез SeNPs, які чинили дозозалежний цитотоксичний ефект на клітини лінії HT-29. В основі механізму цитотоксичності лежали процеси генерації активних форм кисню, пошкодження ДНК та пригнічення інвазії

пухлинних клітин, що було підтверджено методами фарбування PI/AO та DAPI, які виявили ознаки апоптозу в досліджуваних клітинах (Ranjitha & Ravishankar, 2018).

До того ж, бактерії *Streptomyces* sp. ES2-5, знайдені у збагачених селеном ґрунтах, здатні відновлювати селеніт до Se^0 , утворюючи SeNPs, які з часом схильні до агрегації у більші структури. Ключову роль у цьому механізмі відіграє глутатіон, хоча припускається участь й інших ферментативних систем (Tan et al., 2016).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.9).

Таблиця 1.9

**Синтез наночастинок селену при використанні бактерій роду
*Streptomyces***

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
Культуральна рідина			
<i>Streptomyces bikiniensis</i> Ess_amA-1	1 мМ SeO_2 , 30°C, 150 об/хв, 48 годин	Сферичні 50-100 нм та стрижнеподібні 600 нм	Ahmad, Yasser, Sholkamy, Ali & Mehanni, 2015
Супернатант			
<i>Streptomyces parvulus</i> MAR4	4 мМ Na_2SeO_4 , 37°C, 48 год	Позаклітинні напівсферичні 39,7-98,1 нм	Hassan, Hawwa, Baraka, El-Shora & Hamed, 2024
<i>Streptomyces griseoruber</i>	1 мМ Na_2SeO_3 , 37°C, 72 годин	Позаклітинні сферичні 100-250 нм	Ranjitha & Ravishankar, 2018
Біомаса			
<i>Streptomyces</i> sp M10A65	1 мМ Na_2SeO_3 , 24-48 годин	Позаклітинні сферичні 20-150 нм	Ramya, Shanmugasundaram & Balagurunathan, 2020

Актинобактерії роду *Streptomyces* можна використовувати для біосинтезу різноманітних форм наночастинок селену, включно з нанострижнями та нанокон'югатами з нанохітозаном. Біогенні SeNPs

демонструють виражені антимікробні, цитотоксичні та протипухлинні властивості, зокрема здатність індукувати апоптоз ракових клітин через генерацію реактивних форм кисню та пошкодження ДНК. Крім того, стабілізація наночастинок здійснюється за рахунок природних біомолекул, включно з глутатіоном, білками та полісахаридами, що сприяє їх тривалій стабільності у розчинах. Отже, бактерії роду *Streptomyces* є перспективними мікроорганізмами для біосинтезу функціональних наночастинок селену із широким спектром використання у медицині, сільському господарстві та біотехнологіях.

1.10 Бактерії роду *Enterococcus*

У даному підрозділі проаналізовано біосинтез наночастинок селену за участю бактерій *Enterococcus faecalis* та *Enterococcus* spp., які забезпечують конверсію селеніту натрію (SeO_3^{2-}) в елементарний селен. Максимальна продуктивність утворення SeNPs бактеріями *Enterococcus faecalis* фіксується через 24 години за умов низького вмісту селеніту (0,19 мМ), тоді як високі концентрації попередника провокують токсичні ефекти, зокрема генерацію реактивних форм кисню (ROS), що призводить до пошкодження ДНК та зниження виживаності мікроорганізмів. Ультрафіолетова спектроскопія виявила специфічний пік поглинання на довжині хвилі 400 нм, а зображення TEM підтвердили позаклітинний характер формування SeNPs, зумовлений дією відновників, що екскретуються бактеріями в середовище. Водночас відзначено здатність селену гальмувати утворення бактеріальних біоплівки та чинити цитотоксичний вплив на бактерії *Staphylococcus aureus* (Shoeibi & Mashreghi, 2017).

Дослідження процесів відновлення селеніту та синтезу SeNPs бактеріями *Enterococcus* spp. здійснювалося у два етапи: біотичний (за наявності біомаси) та абіотичний (після її видалення). Відновлення протікало значно інтенсивніше в присутності біомаси, при цьому швидкість реакції зростала пропорційно до збільшення вихідної концентрації селеніту. Після вилучення клітин процес відновлення тривав, хоча й зі значно меншою

швидкістю, завдяки активності біомолекул, що залишалися в супернатанті. Параметри розміру та розподілу SeNPs залежали від концентрації селеніту – при її підвищенні середній діаметр частинок зменшувався, що сприяло більш однорідному їх розподілу. Методом FTIR-аналізу ідентифіковано макромолекули, такі як цукри, ліпіди, вуглеводи, нуклеїнові кислоти та особливо білки, які гарантували стабільність абіотичних SeNPs. Синтезовані наночастинки виявили антибактеріальну дію проти бактерій *Escherichia coli*, знижуючи їхню життєздатність залежно від дозування. При найвищій концентрації SeNPs (3,2 г/л) зафіксовано максимальний рівень інгібування, проте повної елімінації мікроорганізмів досягти не вдалося. Це, ймовірно, пояснюється негативним поверхневим зарядом бактерій *Escherichia coli*, що зумовлює електростатичне відштовхування частинок (Tendenedzai, Chirwa & Brink, 2022).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.10).

Таблиця 1.10

Синтез наночастинок селену при використанні бактерій роду

Enterococcus

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
Культуральна рідина			
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,19 мМ Na ₂ SeO ₄ , 37°C, 150 об/хв, 24 год	Позаклітинні сферичні, 29-195 нм	Shoeibi & Mashreghi, 2017
Супернатант			
<i>Enterococcus</i> spp.	1/3/5 мМ Na ₂ SeO ₃ , рН 8,5-9,5, 35°C; 120 об/хв, 96 год	Сферичні <200 нм	Tendenedzai, Chirwa & Brink, 2022

Бактерії роду *Enterococcus* демонструють здатність ефективно відновлювати селеніт натрію до елементарного селену з утворенням стабільних наночастинок селену, переважно позаклітинного походження. Відновлення селеніту відбувається як за участі живої біомаси, так і за рахунок

біомолекул у культуральному середовищі, що забезпечує стійкість і контрольованість процесу. Синтезовані SeNPs мають дозозалежну антибактеріальну активність, зокрема щодо *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus*, а також здатні пригнічувати утворення бактеріальних біоплівочок. Водночас високі концентрації селеніту викликають токсичні ефекти на самі бактерії, що обмежує умови культури для оптимального синтезу. Наявність макромолекул, таких як білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи та ліпіди, гарантує стабільність наночастинок, сприяючи їхній тривалій біоактивності. Проте електростатичні властивості бактерій можуть впливати на ефективність взаємодії з SeNPs, що потребує подальшого вивчення.

1.11. Інші роди бактерій

У контексті досліджень біогенного синтезу наночастинок селену науковці розглядали різноманітні роди та види мікроорганізмів, які демонструють високу ефективність у трансформації селеніту натрію в елементарний селен. Наприклад, для отримання SeNPs застосовували супернатант пробіотичних бактерій *Limosilactobacillus fermentum* ATCC 14931, що дало змогу оптимізувати параметри процесу шляхом варіювання концентрації селеніту натрію, температури та рН. Вибір цього мікроорганізму зумовлений його статусом безпеки (GRAS), що відкриває перспективи для масштабування виробництва. Отримані дані свідчать про аморфну природу синтезованих SeNPs та їхню знижену токсичність порівняно із селенітом натрію, а також високий антиоксидантний ефект, підтверджений тестами DPPH та MTT. Методом FTIR ідентифіковано функціональні групи, зокрема гідроксильні, які покращують диспергування у водному середовищі, а зменшення інтенсивності зв'язків Se-O вказує на успішну конверсію селеніту в елементарний селен (Aminisough, Daneshjou & Khajeh, 2024).

Експерименти з бактеріями *Vibrio natriegens* ATCC14048 продемонстрували їхню здатність суттєво пришвидшувати біосинтез SeNPs, досягаючи максимального діаметра частинок у 400 нм, за умови інкубації протягом 24-48 годин при концентрації селеніту 10 мМ (Fernández-Llamosas,

Castro, Blázquez, Díaz & Carmona, 2017). Для культури *Lactobacillus paracasei* SCFF20 (Китай), яка вирізняється високою толерантністю до Na_2SeO_3 , було проведено оптимізацію умов продукування SeNPs. Аналізи FTIR та SEM-EDX підтвердили, що склад наночастинок переважно включає селен, кисень та вуглець, із домішками ліпідів, екзополісахаридів і білків, що доводить ефективність синтезу (Hu та ін., 2023). Бактерії *Providencia rettgeri* HF16-A виявили значний потенціал у відновленні селеніту до елементарного стану, забезпечуючи 90% конверсії за 24 години при концентраціях до 800 мМ. Результати FTIR-спектроскопії вказали на присутність органічних залишків (білків, ліпідів, вуглеводів) на поверхні SeNPs, що сприяє їх стабілізації. Механізм реакції включає активацію транскрипційного регулятора CysB та дію сульфітрeredуктази, що гарантує ефективну трансформацію SeO_3^{2-} у Se^0 (Huang, Wang, Tang, Jia & Wu, 2021).

Використання безклітинного екстракту бактерій *Geobacillus* sp. ARB04 для отримання SeNPs дозволило досягти високої антиоксидантної активності порівняно із селенітом натрію завдяки стабілізуючій дії біомолекул. Методи EDAX та FTIR виявили наявність ліпідів, полісахаридів та білків, що беруть участь у формуванні SeNPs (Kumar, Prasad, Manjhi & Prasad, 2020). Ізольовані із забруднених вод бактерії *Citrobacter freundii* КР6 також здатні відновлювати селеніт, при цьому гранична концентрація для росту цих мікроорганізмів становить 60 мМ. Біосинтезовані SeNPs мають сферичну морфологію (за даними TEM і SEM) та кристалічну структуру (за даними XRD). Важливу функцію у стабілізації частинок виконують органічні рештки, передусім білки та полісахариди (Samant, Naik, Parulekar, Charya & Vaigankar, 2018). Бактерії *Proteus penneri* LAB-1, виділені з червонозему, продемонстрували здатність до стрімкого відновлення SeO_3^{2-} до Se^0 , досягаючи рівня конверсії 93,27% вже через 18 годин. Цей процес пришвидшується завдяки механізму за участі нітратредуктази та глутатіону. Аналіз FTIR зафіксував наявність карбоксильних, амінних та гідроксильних груп на поверхні SeNPs, що також позитивно впливає на їхню стабільність (Wang, Jiang & Huang, 2022).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 1.11).

Таблиця 1.11

Використання інших родів бактерій для біосинтезу наночастинок селену

Бактерії	Параметри біосинтезу наночастинок	Характеристика наночастинок	Джерело
Культуральна рідина			
<i>Citrobacter freundii</i> KP6	60 мМ Na ₂ SeO ₃ , 150 об/хв, 30 °С, 24 год	Позаклітинні сферичні 45-70 нм	Samant, Naik, Parulekar, Charya & Vaigankar, 2018
<i>Vibrio natriegens</i> ATCC14048	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30 °С, 24 год	Внутрішньоклітинні та позаклітинні сферичні 136 нм	Fernández-Llamas, Castro, Blázquez, Díaz & Carmona, 2017
<i>Proteus penneri</i> LAB-1	2 мМ SeO ₃ , 30 °С, 150 об/хв, 24 год	Позаклітинні сферичні 274,9 нм	Wang, Jiang & Huang, 2022
<i>Providencia rettgeri</i> HF16-A	5 мМ Na ₂ SeO ₃ , pH 7,0, 30 °С, 180 об/хв, 24 год	Позаклітинні сферичні 295,9 нм	Huang, Wang, Tang, Jia & Wu, 2021
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> SCFF20	120 мкг/мл Na ₂ SeO ₃ , 37 °С, 180 об/хв, 24 год	Сферичні 500 нм	Hu та ін., 2023
Супернатант			
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> ATCC 14931	0,75 мМ Na ₂ SeO ₃ , pH 7,4, 37 °С	Сферичні 92,52 нм	Aminisough, Daneshjou & Khajeh, 2024
Безклітинний водний екстракт			
<i>Geobacillus</i> sp. ARB04	10 мМ Na ₂ SeO ₃ , 24 год	Сферичні 30-60 нм	Kumar, Prasad, Manjhi & Prasad, 2020
<i>Alborzia kermanshahica</i>	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , 32 °С	Сферичні 30-100 нм	Eydelkhani, Kiabi & Nowruzi, 2024

Бактерії родів *Limosilactobacillus*, *Providencia*, *Geobacillus*, *Citrobacter*, *Proteus* та ін. показують високу ефективність у біосинтезі наночастинок селену шляхом конверсії селеніту натрію в елементарний селен. При використанні цих мікроорганізмів можна отримати стабільні SeNPs з різними розмірами та морфологією, при цьому природні біомолекули, зокрема, білки,

ліпіди та полісахариди відіграють ключову роль у стабілізації та диспергуванні цих наночастинок. Оптимізація таких факторів, як концентрація селеніту, температура та рН, сприяє підвищенню продуктивності синтезу, затриманню токсичних ефектів і покращенню антиоксидантної активності SeNPs. Механізми відновлення селеніту включають як участь ферментів сульфїтредуктаз та нітратредуктаз, так і транскрипційних регуляторів, що забезпечує ефективність і контрольованість процесу. Отримані біогенні SeNPs характеризуються низькою токсичністю, високою антиоксидантною активністю і потенціалом для подальшого застосування в медицині, біотехнології та екологічних технологіях.

Наукові результати даного розділу кваліфікаційної роботи висвітлені у статті (Скроцька, Проценко, & Жолобко, 2025).

РОЗДІЛ 2.

РОЛЬ ДРІЖДЖІВ У БІОСИНТЕЗІ НАНОЧАСТИНОК СЕЛЕНУ

2.1. Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*

Розуміння процесів відновлення селеніту є ключовим для ефективного біосинтезу, тому низка досліджень зосереджена саме на механізмах взаємодії дріжджів із цим елементом. Зокрема, у роботі (Zhang, Li, & Gao, 2012) було висвітлено особливості біовідновлення селеніту до елементарного селену клітинами *Saccharomyces cerevisiae*. Встановлено, що найбільш ефективно цей процес відбувався в умовах обмеженого доступу кисню, де до кінця 36-годинної інкубації відновлення селеніту сягало 416,49 мкмоль/л, суттєво перевершуючи показники аеробних та анаеробних умов. Процес залучав ферментативні реакції та відновлені тіоли (глутатіон), при цьому SeNPs формувалися у цитоплазмі та на поверхні клітин, а надлишок селену виводився через везикулоподібні структури (Zhang, Li, & Gao, 2012). Логічним продовженням вивчення транспорту наночастинок стало дослідження, де автори деталізували процес вивільнення SeNPs. Виявилось, що біосинтез залежить від синтезу білка, але не потребує світла чи кисню. Після 96 годин інкубації наночастинок поступово вивільнялися у позаклітинний простір, ніби «проростаючи» з клітин без їх лізису, що вказує на участь екзоцитозу або везикулярної секреції (Pereira, Gerolis, Gonçalves, Pedrosa & Neves, 2018). Поглиблюючи тему оптимізації параметрів біосинтезу, було проаналізовано вплив концентрації попередника на характеристики наночастинок селену. Спектроскопічний аналіз підтвердив, що оптимальні характеристики (розмір 75 нм; ζ -потенціал -10,3 мВ) досягаються при мінімальній концентрації селеніту натрію 5 мкг, тоді як підвищення дози до 25 мкг дозволяє отримати

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.14 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Проценко М.Д.			<i>РОЗДІЛ 2. Роль дріжджів у біосинтезі наночастинок селену</i>	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скроцька О.І.					41	9
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

більш однорідні частинки (PDI 0,189), проте знижує їхню антиоксидантну активність з 48,5% до 21,7% (Faramarzi, Anzabi & Jafarizadeh-Malmiri, 2020). Паралельно з цим, запропоновано екологічно чистий метод біосинтезу на основі агровідходів за допомогою культури *Saccharomyces cerevisiae* GVT263. Отримані стрижнеподібні наночастинки у формі «квіткоподібних» агрегатів демонстрували високу стабільність, фотокаталітичну активність та значний біологічний ефект, повне пригнічення росту *Staphylococcus aureus* при 250 мкг/мл та зниження життєздатності ракових клітин (Goud, Veldurthi, Vithal & Reddy, 2016).

Питання безпечності та широкого спектру біологічної активності SeNPs розглядалися у наступних роботах. До прикладу, дослідження (Fath-Alla, Khalil, Mohamed, El-Ghany & Mohamed, 2024) підтвердило низьку цитотоксичність біогенних SeNPs щодо нормальних клітин печінки та макрофагів. Вони проявили виражену антиоксидантну та протизапальну дію, пригнічуючи продукцію оксиду азоту, хоча їхня пряма антимікробна активність була обмеженою через фізико-хімічні властивості поверхні (Fath-Alla, Khalil, Mohamed, El-Ghany & Mohamed, 2024). Водночас наночастинки селену, синтезовані дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 36, навпаки, виявили значну антибактеріальну активність проти широкого спектру патогенів, включаючи *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*, спричиняючи окислювальний стрес у мікроорганізмів (Hariharan, Al-Harbi, Karupiah, & Rajaram, 2012). А також, дослідження, яке перенесло фокус на *in vivo* експерименти. Додавання SeNPs у корм щурів з імуносупресією не лише зменшувало окисний стрес, підвищуючи активність ферментів (GSH-Px, SOD), але й стимулювало імунну відповідь, покращуючи стан внутрішніх органів, що підтверджує перспективність використання *Saccharomyces cerevisiae* для отримання безпечних біомедичних препаратів (Wu та ін., 2021).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 2.1).

Використання *Saccharomyces cerevisiae* для біосинтезу наночастинок селену

Дріжджі	Параметри біосинтезу наночастинок селену	Характеристика наночастинок	Джерело
<i>Культуральна рідина</i>			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30°C, 150 об/хв, 48 год	Внутрішньоклітинні сферичні, 20-30 нм	Pereira et al., 2018
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,025 г Na ₂ SeO ₃ , 30°C, 24 год	Внутрішньоклітинні сферичні, 34-125 нм	Fath-Alla et al., 2024
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100 мг Na ₂ SeO ₃ , рН 4, 30°C, 36 год	Сферичні, 71,14 ± 18,17 нм	Wu et al., 2021
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30°C, 120 об/хв, 36 год	Позаклітинні сферичні, 100 нм	Zhang et al., 2012
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> GVT263	2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 18-20°C, 24 год	Внутрішньоклітинні стрижнеподібні, 170-240 нм	Goud et al., 2016
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25 мкг Na ₂ SeO ₃ , 32°C, 120 об/хв, 4 доби	Внутрішньоклітинні сферичні, 709 нм	Faramarzi et al., 2020
<i>Біомаса</i>			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MTCC 36	2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30°C, 200 об/хв, 24 год	Кристалічні, 30-100 нм	Narayanan et al., 2012

Отже, дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* є ефективними агентами біосинтезу наночастинок селену, здатними перетворювати селеніт у стабільні наночастинок з різною морфологією та біологічними властивостями. Процес біовідновлення оптимально протікає за умов обмеженого кисню і не потребує світла, із залученням ферментативних систем і відновлених тіолів, таких як глутатіон. SeNPs формуються як у цитоплазмі, так і на поверхні клітин, а їх позаклітинне вивільнення відбувається через екзоцитоз або везикулярну секрецію без пошкодження клітин. Оптимізація концентрації селеніту впливає на розмір, однорідність і антиоксидантну активність наночастинок, що

дозволяє регулювати їх функціональні властивості. Біогенні SeNPs, отримані з використанням агровідходів, проявляють високу стабільність, фотокаталітичну активність, а також антибактеріальну та протипухлинну дію. Також дослідження довели низьку цитотоксичність SeNPs для нормальних клітин та їх здатність підвищувати антиоксидантний та протизапальний потенціал, а також стимулювати імунну відповідь *in vivo*. Водночас антимікробна активність таких наночастинок може варіюватися залежно від фізико-хімічних властивостей поверхні. Тому дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* є перспективними мікроорганізмами, які можна використовувати для біосинтезу функціональних наночастинок селену із широкими можливостями застосування у біомедицині, екології та промисловій біотехнології.

2.2. Інші роди дріжджів

Окрім класичних пекарських дріжджів, значний біотехнологічний потенціал демонструють інші види, зокрема ізольовані з морських екосистем. Було вивчено морські дріжджі *Candida pseudojiufengensis*, виділені з Червоного моря. Оптимізація умов дозволила отримати стабільні сферичні SeNPs розміром близько 12 нм, які проявили селективну цитотоксичність проти клітин раку молочної залози (MCF-7), індукуючи апоптоз та оксидативний стрес, при цьому залишаючись безпечними для нормальних фібробластів (Ali, Allam, Hasanin & Hassabo, 2024). Розширюючи спектр морських ізолятів, робота (Lian та ін., 2019) описує синтез SeNPs новим штамом *Magnusiomyces ingens* LH-F1, де ключову роль стабілізаторів відігравали специфічні білки масою ~16 і ~21 кДа. Ці наночастинок також продемонстрували антибактеріальну активність проти грампозитивних бактерій (Lian та ін., 2019). Ще одним прикладом використання морських культур є дріжджі *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589. Біомаса, збагачена SeNPs, виявилася ефективною кормовою добавкою для личинок *Artemia salina*, значно підвищуючи їх виживаність та стійкість до бактеріальних інфекцій

порівняно з традиційними дріжджовими добавками (Hamza, Vaidya, Arpe, Kumar & Zinjarde, 2017).

Тема використання дріжджів роду *Yarrowia* та інших видів для боротьби з патогенами була продовжена у дослідженні (Lashani, Moghimi, Turner & Amoозegar, 2024). Культури *Yarrowia lipolytica* ATCC 18942 продукували стабільні SeNPs, які не лише пригнічували ріст широкого спектру бактерій та грибів, але й ефективно запобігали утворенню біоплівки таких небезпечних збудників, як *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*. Цікавим напрямком є також використання самих патогенних дріжджів для синтезу наночастинок, що діють проти них самих. Розглянуто також синтез SeNPs за допомогою *Candida albicans*. Отримані наночастинок виявили потужний синергетичний ефект із традиційними антимікотиками та здатність долати резистентність грибів, порушуючи синтез ергостеролу та клітинної стінки (Bafghi, Darroudi, Zargar, Zarrinfar & Nazari, 2021; Hosseini Bafghi, Zarrinfar, Darroudi, Zargar & Nazari, 2022). Доповнює цей напрямок дослідження, де дріжджі *Nematospora coryli* синтезували SeNPs з високою антикандидозною активністю, що корелювала з малим розміром частинок (Rasouli, 2019).

Важливим аспектом біосинтезу є розуміння метаболічної відповіді клітин на присутність селену. На прикладі дріжджів *Candida utilis* показано, що утворення SeNPs є механізмом детоксикації, який супроводжується накопиченням трегалози, глікогену та активацією антиоксидантних ферментів, при цьому частина селену включається до складу амінокислот (Kieliszek та ін., 2020). Нарешті, сучасні дослідження виходять на рівень створення складних наноконструкцій та генетичної модифікації. Так, дріжджі *Rhodotorula* sp. MNR використали для створення кон'югату SeNPs з аполактоферином, що значно посилило протипухлинну дію та селективність препарату (El-Fakharany, Abu-Serie, Ibrahim & Eltarahony, 2023). Біосинтезовані SeNPs із використанням дріжджів *Kluyveromyces lactis* GG799 продемонстрували терапевтичний ефект при виразковому коліті, знижуючи запалення та покращуючи бар'єрну функцію кишечника (Song та ін., 2019).

Крім того, представлено генно-інженерний підхід, де модифіковані дріжджі *Pichia pastoris* із надекспресією ферменту Cyb5R забезпечили високоефективну трансформацію іонів селену у стабільні та біосумісні наночастинки (Elahian, Reisi, Shahidi & Mirzaei, 2017).

На основі опрацьованих статей складено нижченаведену узагальнюючу таблицю (табл 2.2).

Таблиця 2.2.

Біосинтез наночастинок селену при використанні інших дріжджів

Дріжджі	Параметри біосинтезу наночастинок селену	Характеристика наночастинок	Джерело
Культуральна рідина			
<i>Candida utilis</i> ATCC 9950	30 мг/л Na ₂ SeO ₃ , 200 об/хв, 24 год	Сферичні, 20-40 нм	Kieliszek et al., 2020
<i>Yarrowia lipolytica</i> ATCC 18942	2,5 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30°C, 160 об/хв, 2 дні	Сферичні, 37-180 нм	Lashani et al., 2024
<i>Kluyveromyces lactis</i> GG799	1,2 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30°C, 200 об/хв, 24 год	Сферичні, 80-150 нм	Song et al., 2021
Біомаса			
<i>Yarrowia lipolytica</i> NCIM 3589	4 мМ Na ₂ SeO ₃ , 30°C, 120 об/хв, 48 год	Сферичні, 30-60 нм	Hamza et al., 2017
<i>Nematospora coryli</i>	1 мМ Na ₂ SeO ₃ , 28°C, 130 об/хв, 48 год	Сферичні, 50-250 нм	Rasouli, 2019
<i>Pichia pastoris</i>	4 мМ SeO ₂ , 30°C, 96 год	Сферичні, 70-180 нм	Elahian et al., 2017
Супернатант			
<i>Candida albicans</i> TIMML-1306	5 мМ Na ₂ SeO ₄ , 28°C, 24 год	Сферичні, <50 нм, середній діаметр 38 нм	Hosseini Bafghi et al., 2022
Безклітинний водний екстракт			
<i>Magnusiomyces ingens</i> LH-F1	2 мМ SeO ₂ , pH 7, 30°C	Сферичні/квазі- сферичні, 70-90 нм	Lian et al., 2019

Дріжджі здатні поглинати та трансформувати токсичні іони селену у менш токсичні форми, зокрема SeNPs. Основний механізм біосинтезу включає біовідновлення розчинних іонів селену (переважно Se(IV)) у формі селеніту,

наприклад SeO_2 або Na_2SeO_3) до елементарного селену нульової валентності (Se^0). Відновлення здійснюється внутрішньоклітинними або позаклітинними ферментативними системами та іншими редукуючими біомолекулами (Bafghi, Darroudi, Zargar, Zarrinfar, & Nazari, 2021).

Морські дріжджі *Candida pseudojiufengensis* демонструють здатність до ефективного біовідновлення іонів SeO_2 до елементарного Se^0 за участю ферментативних та біомолекулярних редукуючих систем. Синтез SeNPs здійснюють з використанням безклітинного екстракту, що свідчить про вагому роль позаклітинних метаболітів (Ali, Allam, Hasanin & Hassabo, 2024). Штами дріжджів *Yarrowia lipolytica* (NCIM 3589, ATCC 18942) відзначаються високою толерантністю до селеніту та внутрішньоклітинним утворенням наночастинок. Тонкі зрізи клітин свідчать про накопичення Se^0 у цитоплазмі, а в клітині можуть існувати кілька точок нуклеації. FTIR-аналіз показав, що у стабілізації SeNPs беруть участь карбоксильні та аміногрупи, а також ліпіди та білки, що формують капсульний шар (Hamza, Vaidya, Apte, Kumar & Zinjarde, 2017).

При цьому для дріжджів *Candida utilis* характерний механізм детоксикації селену, що базується на активації антиоксидантної системи. Високі концентрації селену (до 30 мг/л) індукують підвищений синтез глутатіону, необхідного для клітинної толерантності. Відновлення селеніту до Se^0 є багатостадійним процесом, у якому глутатіон відіграє ключову роль. Крім того, селен значно підвищує активність антиоксидантних ферментів, таких як GPx, GR та TRxR. У результаті дріжджі перетворюють Se(IV) на червону форму Se^0 у цитозолі, що є частиною їхнього захисного механізму (Kieliszek et al., 2020). При використанні дріжджів *Candida albicans* біосинтез SeNPs відбувається у супернатанті, що містить редукуючі білки та ферменти. Ці біомолекули стабілізують утворені наночастинки та запобігають їх агрегації (Bafghi, Darroudi, Zargar, Zarrinfar, & Nazari, 2021).

При використанні безклітинного водного екстракту *Magnusiomyces ingens* LH-F1 іони Se(IV) відновлювались до Se^0 , після чого біомолекули стабілізували сформовані нанокристали. У стабілізації беруть участь

гідроксильні, карбоксильні та аміногрупи. На поверхні SeNPs були ідентифіковані два низькомолекулярні білки (≈ 16 та 21 кДа), що виконують роль природних стабілізаторів; інші білки можуть виступати редукторами (Lian et al., 2019). Під час внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену з використанням дріжджів *Kluyveromyces lactis* GG799 біосинтез SeNPs відбувається при внесенні $1,2$ мМ селеніту натрію. Виділені та очищені наночастинок селену склалися переважно з білків ($72,8\%$) та полісахаридів ($12,0\%$), що формують стабілізуючий органічний шар на їх поверхні (Song et al., 2021).

У генетично модифікованих штамів *Pichia pastoris* біосинтез SeNPs є внутрішньоклітинним та каталізується НАДН-залежною цитохром редуктазою (Cub5R), надмірна експресія якої забезпечує підвищену активність відновлення. Біосорбція іонів селену відбувається під час фази росту, що збігається з синтезом рекомбінантного ферменту Cub5R (Elahian et al., 2017).

Отже, різні роди дріжджів демонструють значний біотехнологічний потенціал у біосинтезі стабільних наночастинок селену з вираженими антибактеріальними, антигрибковими та протипухлинними властивостями. Отримані SeNPs мають різний розмір і морфологію, при цьому природні білки й біомолекули забезпечують їхню стабілізацію та функціональність. Застосування таких наночастинок у кормових добавках підвищує виживаність організмів і стійкість до інфекцій, а синтез SeNPs навіть патогенними дріжджами демонструє здатність подолати їх резистентність, що відкриває нові шляхи в боротьбі з інфекційними захворюваннями.

Для біосинтезу наночастинок селену дріжджі використовують комплексні ферментативні та захисні механізми, включно з глутатіоновим циклом, системою оксидоредуктаз та специфічними стабілізуючими білками, для перетворення токсичних неорганічних іонів селену на стабілізовані біогенними молекулами наночастинок Se^0 . Це робить дріжджі перспективними біокаталізаторами для екологічно безпечного та контрольованого синтезу SeNPs. Дослідження метаболічної відповіді дріжджів на селен підкреслюють роль детоксикаційних механізмів і

антиоксидантних систем, що сприяє стабільності наночастинок. Таким чином дріжджі є перспективними платформами для біосинтезу функціональних наночастинок селену із широким спектром застосувань у медицині, біотехнології й екології.

Наукові результати даного розділу кваліфікаційної роботи висвітлені у статті (Skrotska, Protsenko, Zholobko, & Marynin 2025).

РОЗДІЛ 3.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

3.1. Культивування дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437

Із колекції живих культур для досліджень було обрано дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* M437. Даний штам зберігали в лабораторному холодильнику при температурі 4°C у пробірках із скошеним агаризованим середовищем Сабуро, що складається з 9 г/л ферментативного пептону, 1 г/л дріжджового екстракту, 40 г/л глюкози та 15 г/л мікробіологічного агару, рН 5,6.

Для отримання посівного матеріалу, робили змив клітин дріжджів з поверхні агару, отримуючи суспензію з концентрацією 10^5 - 10^6 клітин/мл. Отриманий інокулят у кількості 5 % від об'єму середовища додавали до 100 мл попередньо простерилізованого рідкого середовища YPD, що складається з 20 г/л пептону, 10 г/л дріжджового екстракту та 20 г/л глюкози, рН 6,3. Дане рідке середовище готували шляхом змішування та розчинення відповідної кількості компонентів у дистильованій воді, після чого здійснювали його стерилізацію в автоклаві при температурі 121°C протягом 15 хвилин.

Культивування посівного матеріалу поводити в колбах об'ємом 250 мл, що містили 100 мл рідкого середовища YPD, за температури 30°C і швидкості обертання 250 об/хв протягом 48 годин. Процес тривав до досягнення оптичної густини клітин $OD_{600} = 2,5$.

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.14 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Проценко М.Д.			<i>РОЗДІЛ 3. Матеріали і методи</i>	Літ.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скроцька О.І.					50	4
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

3.2. Внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок селену

3.2.1. Отримання біомаси дріжджів

Після 48 годин культивування *Saccharomyces cerevisiae* M437 здійснювали осадження біомаси шляхом центрифугування (4000 об/хв, 20 хв). Для того, щоб позбутись розчинних компонентів поживного середовища, а також позаклітинних метаболітів, виконували трьох разове промивання клітин стерильною дистильованою водою. Для цього здійснювали наступне: супернатант зливали, а до осаду клітин вносили стерильну дистильовану воду. Ресуспендували клітини і знову здійснювали центрифугування (4000 об/хв, 20 хв). Вказані етапи проводили тричі.

3.2.2. Підготовка попередника (селеніту натрію)

Готували 1 М розчин селеніту натрію (Na_2SeO_3). Для цього: 17,2948 г солі селеніту натрію (Na_2SeO_3) розчиняли у 100 мл дистильованої води. Після повного розчинення солі, розчин стерилізували за допомогою холодної фільтрації, використовуючи стерильний шприцевий фільтр з діаметром пор 0,22 мкм. Отриманий 1 М розчин селеніту натрію зберігали у стерильній скляній пробірці.

3.2.3. Процес біосинтезу

Відмиті дріжджові клітини переносили у колбу на 250 мл, додавали 100 мл стерильної дистильованої води і вносили розчин селеніту натрію до кінцевої концентрації 1 мМ. Внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок селену здійснювали за наступних параметрів: 30°C, 250 об/хв. Для цього колби з клітинами поміщали в орбітальний шейкер-ікубатор ES-20/60 Biosan SIA, Литва. Для першого контролю використовували колбу із відмитими дріжджами у стерильній дистильованій воді без додавання селеніту натрію. Для другого контролю використовували колбу з 1 мМ розчином селеніту натрію. Спостереження за клітинами здійснювали упродовж семи днів. При цьому спостерігали зміну кольору клітин з молочного до рожевого та червоного.

3.3. Світлова мікроскопія наночастинок селену

Для мікроскопіювання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437 готували препарат «роздавлена крапля». Проби відбирали через 7 діб внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену. Для приготування препарату «роздавлена крапля» в асептичних умовах відбирали 2 мл суспензії клітин. Пару краплин поміщали на предметне скло і додавали барвник метиленовий синій. Зверху накривали покривним скельцем, а надлишок вологи прибирали фільтрувальним папером. На покривне скельце наносили краплю гліцерину й проводили мікроскопіювання з використанням світлового мікроскопу XS-3330 LED MICROmed, Китай, працюючи з імерсійним об'єктивом (загальне збільшення – $\times 1000$).

3.4. УФ-видима спектрофотометрія

Через 7 діб культивування *Saccharomyces cerevisiae* M437 процес біосинтезу наночастинок селену зупиняли для подальшого аналітичного опрацювання. Культури піддавали центрифугуванню з метою відокремлення біомаси від реакційного середовища. Осадження дріжджових клітин проводили у центрифужних пробірках при 5000 об/хв упродовж 40 хвилин. Після центрифугування отримували два фракції: щільний осад клітин та прозорий супернатант.

Супернатант, що містив позаклітинно синтезовані наночастинок селену, використовували для запису УФ-видимого спектра поглинання. Перед вимірюваннями супернатант ретельно відбирали, уникаючи потрапляння клітинного осаду, що могло б вплинути на оптичні властивості зразка.

Спектральні вимірювання проводили на спектрофотометрі UV-Vis Thermo Spectronic UV300 (Spectronic Unicam, England). Для аналізу застосовували кварцеві кювети, оскільки вони забезпечують високу пропускну здатність у короткохвильовому УФ-діапазоні.

У кожну кювету вносили 4 мл супернатанту, після чого здійснювали сканування спектра поглинання в діапазоні 200-800 нм. Швидкість сканування та інші параметри приладу встановлювали відповідно до стандартної

методики, а роздільна здатність становила 2 нм, що дозволяло отримати детальний спектр та виявити характерні піки, притаманні наночастинкам селену.

Отримані спектри використовували для оцінки наявності та приблизних оптичних властивостей синтезованих SeNPs. Типовим показником формування наночастинок є поява специфічних максимумів поглинання у видимому діапазоні, що свідчить про колоїдний характер отриманої суспензії та оптичну активність селенових наночастинок.

3.5. Визначення розміру і дзета-потенціалу синтезованих наночастинок селену

Розмір біосинтезованих наночастинок селену вимірювали з використанням наносайзеру (Zetasizer Nano ZS, Malvern, Великобританія). Робота даного приладу ґрунтується на динамічному розсіюванні світла. Також із використанням наносайзеру вимірювали дзета-потенціал та індекс полідисперсності. Усі вимірювання виконували за стабільної температури 25°C у середовищі з нейтральним показником кислотності (pH 7,0). Аналіз повторювали тричі для забезпечення достовірності результатів (Nwoko et al., 2021).

РОЗДІЛ 4.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

4.1. Обґрунтування вибору досліджуваної концентрації селеніту натрію

Одним із вагомих параметрів, від якого значною мірою залежить ефективність біосинтезу наночастинок селену є концентрація їх попередника, у даному випадку селеніту натрію (Na_2SeO_3). За результатами аналізу більшості наявних на сьогоднішній день наукових публікацій щодо біосинтезу наночастинок селену, оптимальною концентрацією для багатьох мікроорганізмів приймається 1 мМ Na_2SeO_3 (табл 4.1).

Такий вибір обґрунтовується забезпеченням балансу між високою ефективністю відновлення селеніту та мінімальним токсичним впливом на клітини. До прикладу, в одному з досліджень, за допомогою біомаси бактерій *Acinetobacter* sp. SW30 було встановлено синтез аморфних наночастинок селену із антиоксидантними та протимікробними властивостями при концентрації селеніту натрію 1,0 мМ. При концентрації селеніту натрію вище 2 мМ спостерігався біосинтез кристалічних нанострижнів, які показали протипухлинну активність, але при цьому характеризувались високою цитотоксичністю (Wadhvani et al., 2017). За результатами іншої наукової публікації, де описано синтез внутрішньоклітинних наночастинок селену з використанням культуральної рідини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, було виявлено, що при нижчих концентраціях солей селеніту утворені наночастинок селену мають менший розмір і вищу антиоксидантну активність, однак процес синтезу може бути менш ефективним через обмежену продуктивність, низький вихід і високу полідисперсність наночастинок (Faramarzi et al., 2020). Крім цього, науковці Shoeibi та Mashreghi

					<i>НУХТ БТЕК 02.01.14 КР ПЗ</i>			
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Проценко М.Д.			<i>РОЗДІЛ 4. Результати та обговорення</i>	Лім.	Арк.	Аркушів
Перевір.		Скороцька О.І.					54	17
Реценз.						<i>Кафедра БТМ</i>		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

дослідили біосинтез наночастинок селену з використанням бактерій *Enterococcus faecalis*. При цьому досліджувані концентрації селеніту натрію становили від 0,19 мМ до 2,97 мМ. В результаті вищі концентрації селеніту призвели до утворення меншої кількості наночастинок (Shoeibi et al., 2017).

Таблиця 4.1

Концентрація селеніту натрію для біосинтезу наночастинок селену

Мікроорганізм	Поживне середовище для культивування	Умови біосинтезу наночастинок	Джерело
<i>Bacillus subtilis</i> AL43	Лурія Бертрані (LB)	pH 7,2, 30°C, 150 об/хв, 24 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ на початку процесу культивування	Abdel-Moneim et al., 2022
<i>Streptomyces</i> sp E3	NB	32°C, 180 об/хв, 72 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ , біомаса	El-deeb et al., 2023
<i>Vibrio natriegens</i> ATCC14048	Лурія Бертрані (LB)	30°C, 12 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ на початку процесу культивування	Fernández-Llamas et al., 2017
<i>Paenibacillus terreus</i>	Триптон-соєве (TSB)	37°C, 150 об/хв, 24 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ на початку процесу культивування	Nile et al., 2023
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741	YNB, доповнене амінокислотами	30°C, 150 об/хв, 48 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ на початку процесу культивування	Pereira et al., 2018
<i>Streptomyces</i> sp M10A65	ISP2	28°C, 120 об/хв, 24-48 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ , біомаса	Ramya et al., 2020
<i>Nematospora coryli</i>	YPG	28°C, 130 об/хв, 48 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ , біомаса	Rasouli, 2019
<i>Lysinibacillus macroides</i> DS15, <i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> DS3	Лурія Бертрані (LB)	35°C, 180 об/хв, 36 год, 1 мМ Na ₂ SeO ₃ на початку процесу культивування	Zhang et al., 2019

Отже, враховуючи всю вищенаведену інформацію, для дослідження біосинтезу наночастинок селену дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* M437 нами було прийнято рішення використовувати у якості попередника біосинтезу селеніт натрію у концентрації 1 мМ. Взагалі на сьогодні дуже мало досліджень, які стосуються біосинтезу наночастинок селену при використанні дріжджів, не дивлячись на те що вони є досить перспективними для цього (Nie et al., 2023).

4.2. Внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок селену

Після внесення до клітин *Saccharomyces cerevisiae* M437 селеніту натрію вже на другий день спостерігали зміну кольору клітин з молочного на світло-рожевий. За клітинами спостерігали упродовж 7-ми діб і з кожним днем колір клітин ставав більш насиченим. На 7-му добу клітини були червоного кольору (рис. 4.1).

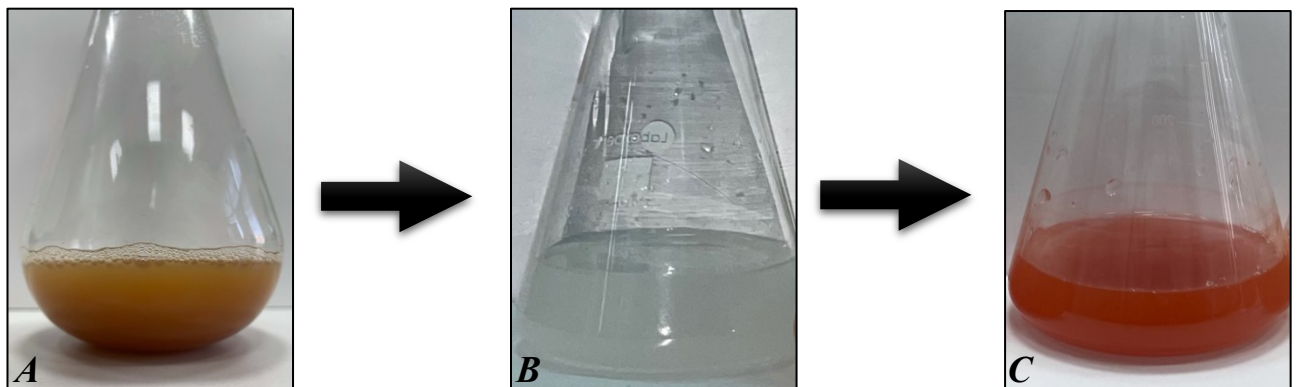


Рис. 4.1. Етапи внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену *Saccharomyces cerevisiae* M437: А – нативні дріжджі, вирощені на середовищі YPD; В – відмита біомаса дріжджів; С – дріжджі на 7 добу біосинтезу

Зміна кольору дріжджових клітин з молочного на червоний свідчить про процес внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену. В результаті відбувається біологічне відновлення оксианіонів селеніту SeO_3^{2-} до елементарного селену Se^0 , одна з алотропних форм якого має характерне червоне забарвлення. В процесі біосинтезу приймають участь

внутрішньоклітинні дріжджові метаболіти. В результаті утворюються наночастинки селену (Tan et al., 2018). Подібні результати описані у багатьох дослідженнях, де синтез наночастинок селену супроводжується появою характерного забарвлення реакційної суміші. До прикладу, підтвердженням ефективного утворення біогенних наночастинок селену із використанням супернатанту ціанобактерій *Anabaena variabilis* NCCU-441 є зміна кольору реакційної суміші з небесно-блакитного на помаранчево-червоний (Afzal et al., 2021). Також у дослідженнях по біосинтезу наночастинок селену з використанням молочнокислих бактерій *Lactobacillus paracasei* HM1, які були виділені з грудного молока людини (El-Saadony et al., 2021) та бактерій *Bacillus subtilis* (Chandramohan et al., 2018), культуральна рідина змінювала колір від жовтого до темно-червоного вже на 48 годину культивування. У випадку із використанням культуральної рідини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, утворення наночастинок селену також супроводжувалося візуальною зміною кольору з блідо-жовтого на темно-помаранчевий протягом чотирьох днів біосинтезу (Faramarzi et al., 2020).

На 5-7 добу експерименту ми помітили, що біосинтезовані внутрішньоклітинні наночастинки селену почали виходити у розчин. Про це свідчило характерне блідо червоне забарвлення супернатанту після центрифугування відібраного зразку. Провівши аналіз наукових досліджень інших авторів, ми знайшли цьому підтвердження. Автори Pereira, Gerolis, Gonçalves, Pedrosa та Neves досліджували біосинтез наночастинок селену при використанні дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* BY4741. Було показано, що на 48-му годину культивування даних дріжджів із селенітом натрію відбувався внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок, а на 96-ту годину культивування відбувається вихід наночастинок селену у позаклітинний простір без порушення цілісності дріжджових клітини (Pereira et al., 2018). Показано також, що наночастинки селену всередині дріжджових клітин концентруються навколо клітинної мембрани або ж виступають над її поверхнею, а позаклітинні наночастинки мають чітку органічну оболонку навколо свого ядра. Наявність позаклітинних наночастинок селену свідчить

про їх везикулярний механізм виходу з клітини, тобто дріжджі транспортують надлишок селену з клітини завдяки везикулоподібній структурі (Wu et al., 2021). Встановлений механізм внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену та їх подальший вихід з клітин дріжджів є позитивним аспектом, оскільки це полегшує процеси виділення та очищення біосинтезованих наночастинок. Адже відомо, що у випадку лише внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок необхідно використовувати різні підходи для руйнування клітин та виділення й очищення наночастинок. Наприклад, ультразвукова обробка та методи ферментативного руйнування клітинної стінки дріжджів; механічне руйнування клітинних стінок шляхом енергійного струшування скляних чи металевих кульок або піску; хімічний лізис з використанням основ та аніонних детергентів (Sajnóg et al., 2023). Також при дослідженні біосинтезу наночастинок селену з використанням дріжджів *Yarrowia lipolytica* було показано, що наночастинки синтезуються всередині клітин і пов'язані з клітинними мембранами. А також, можливе утворення наночастинок селену в різних компартментах клітин дріжджів, що вказує на існування кількох точок зародження для біовідновлення селеніту та формування наночастинок всередині клітин *Yarrowia lipolytica* (Lashani et al., 2024).

Як згадано вище, автори сучасних наукових публікацій віддають перевагу електронній мікроскопії у своїх дослідженнях, що ускладнює порівняння їх результатів із нашими, оскільки для нас використання таких методів поки не є можливим. Отже, для підтвердження формування та визначення локалізації наночастинок селену на 7-му добу спостереження нами було вирішено здійснити світлову мікроскопію зразків. Аналіз отриманих зображень показав, що порівняно зі зразком нативних дріжджових клітин, де видно однорідність цитоплазми та відсутність будь-яких додаткових елементів, у зразку із синтезованими наночастинками селену було видно характерні розсіяні або скупчені вкраплення у клітинах дріжджів та поза їх межами, що потенційно можемо вважати наночастинками селену та бачити їх місце розташування у досліджуваному зразку (рис. 4.2). Однак, в планах на

майбутнє для встановлення детальної морфології утворених наночастинок та їх взаємодії із клітинними органелами, нам необхідно здійснити скануючу електронну мікроскопію (SEM), що забезпечує швидке отримання детальних 3D-зображень поверхонь наночастинок з мінімальною підготовкою зразків, а також трансмісійну електронну мікроскопію (ТЕМ), що гарантує надвисоку роздільну здатність для аналізу внутрішньої структури сформованих наночастинок (Kumar, 2021).

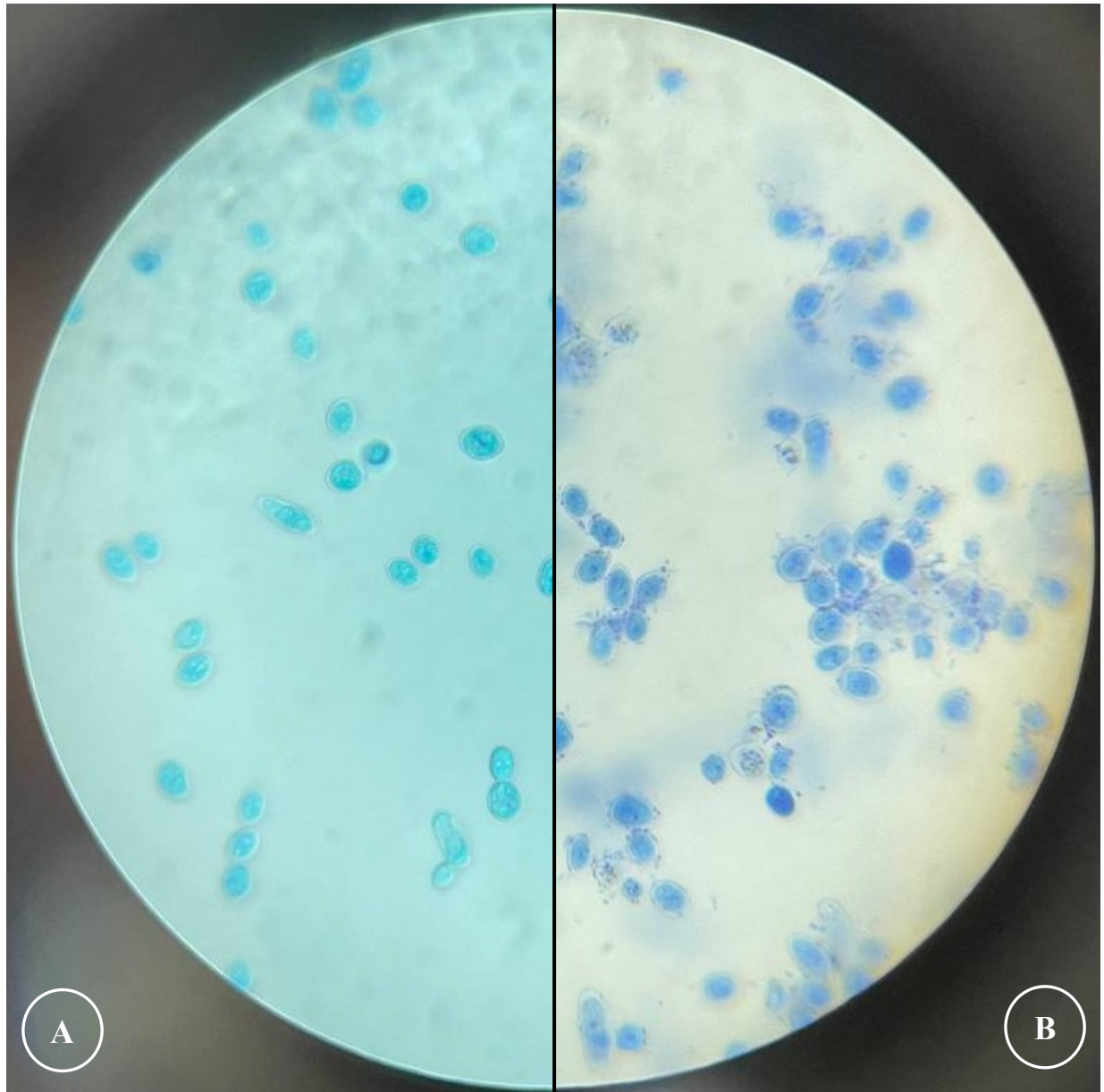


Рис. 4.2. Клітини *Saccharomyces cerevisiae* M437: А – нативні дріжджові клітини; В – дріжджові клітини з біосинтезованими наночастинками селену; збільшення $\times 1000$

4.3. УФ-видима спектроскопія

УФ-видима спектроскопія є поширеним методом для підтвердження сформованих наночастинок селену шляхом вимірювання поглинання червоного кольору при різних довжинах хвиль, що зумовлено збудженням поверхневого плазмонного резонансу, яке виникає, коли електрони в тонкому металевому листі збуджуються під дією світла (Fath-Alla et al., 2024). Під час процесу біосинтезу наночастинок селену ми візуально спостерігали зміну кольору не лише дріжджових клітин, а й самої реакційної суміші, що свідчить про вихід наночастинок селену у реакційну суміш. Нами у ході спектроскопічного дослідження були виявлені виражені піки поглинання у діапазоні довжин хвиль від 200 до 800 нм із максимумом поглинання при 207 та 252 нм (рис. 4.3).

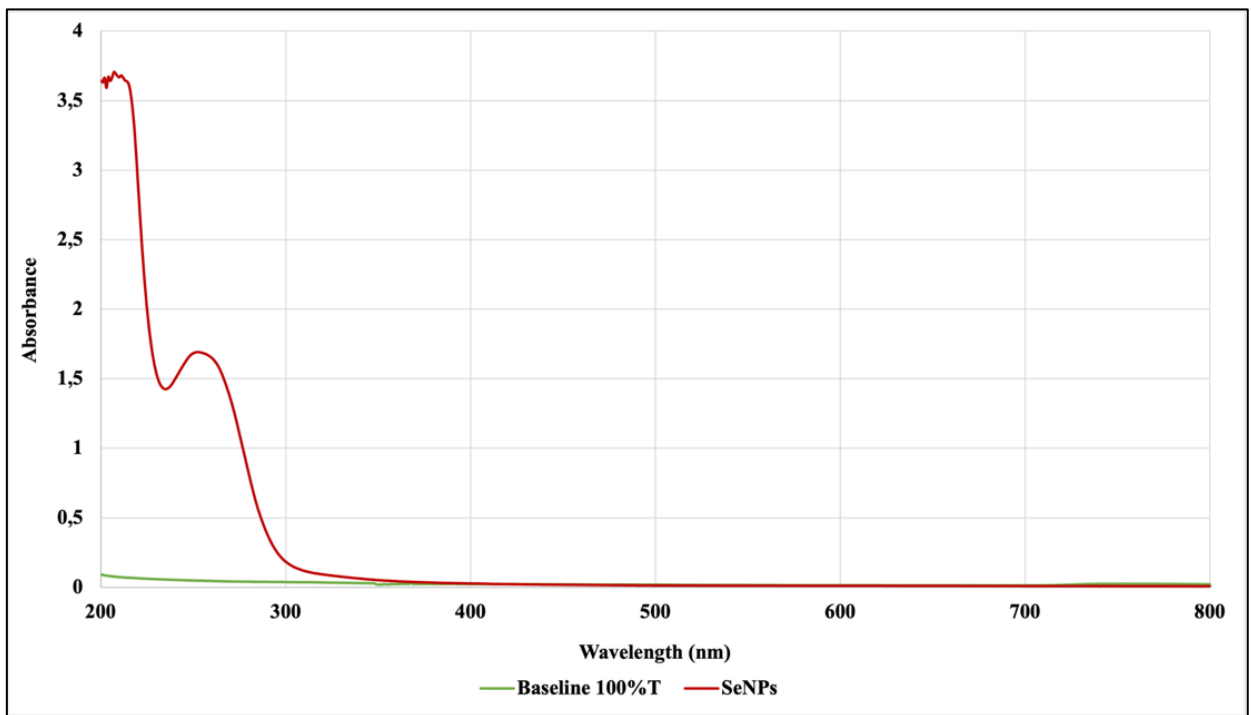


Рис. 4.3. УФ-видимий спектр біосинтезованих наночастинок селену із використанням *Saccharomyces cerevisiae* M437

Отримані нами результати УФ-видимої спектроскопії добре узгоджуються з даними інших досліджень, у яких аналізували біосинтезовані наночастинок селену. Так, у дослідженні біосинтезу наночастинок, що були

отримані при використанні супернатанту *Aspergillus terreus* реєстрацію спектрів здійснювали в тому самому діапазоні довжин хвиль: 200-800 нм, і було виявлено два характерних піки при 218 нм та 284 нм (Saied et al., 2023). Перший пік поглинання пов'язують із міжзонними електронними переходами або переходами з нижчих енергетичних рівнів до зони провідності. Другий пік, навпаки, пов'язаний із поверхневим плазмонним резонансом наночастинок селену – явищем когерентного коливання вільних електронів на поверхні наночастинок, що відображає специфічні оптичні властивості SeNPs та підтверджує їх колоїдну природу.

Подібні закономірності спостерігалися й при біосинтезі наночастинок селену з використанням безклітинного водного екстракту *Monascus purpureus* ATCC16436. Уже через 30 хвилин від початку реакції у спектрі поглинання фіксувався чіткий максимальний пік при 593 нм, що також було виявлено в діапазоні 200-800 нм (El-Sayed et al., 2020).

В іншому дослідженні, проведеному з використанням пробіотичного штаму *Bacillus subtilis* BSN313, було встановлено, що вже через 24 години біосинтезу спектри UV-Vis демонстрували невеликий перехідний пік при 362 нм та чітко виражений максимум поглинання при 650 нм у діапазоні вимірювання 300-800 нм. Поява піка поглинання у довгохвильовій області може бути свідченням формування наночастинок із більш складною морфологією або із підвищеним ступенем агрегації (Ullah et al., 2021).

Подібні закономірності виявлені і при біосинтезі наночастинок селену за участі молочнокислих бактерій *Lactobacillus paracasei* HM1. У цьому випадку максимальний пік поглинання спостерігався при 300 нм у ширшому спектральному діапазоні 200-1000 нм. Такий результат також свідчить про формування стабільних колоїдних наночастинок, для яких характерні специфічні резонансні властивості залежно від їхнього розміру, форми та природи поверхневих біомолекул (El-Saadony et al., 2021).

Таким чином, літературні дані підтверджують, що формування наночастинок селену супроводжується виникненням характерних піків у спектрі поглинання, які можуть значно змінюватися залежно від типу

мікроорганізму, тривалості біосинтезу, морфології частинок та хімічних характеристик поверхневих стабілізуючих агентів.

Отримані нами результати добре співвідносяться із наведеними прикладами, підтверджуючи ефективність біосинтезу SeNPs та коректність проведених спектрофотометричних вимірювань.

4.4. Характеристика синтезованих наночастинок селену

Для визначення розміру біосинтезованих наночастинок селену, ми використовували наносайзер. Проведений нами аналіз показав, що більшість наночастинок мала розмір 225,6 нм, тоді як лише 2% були значно меншого розміру – 42,18 нм. У результаті середній гідродинамічний діаметр наночастинок селену склав 179,3 нм (рис. 4.4). Це значення суттєво перевищує розміри, які зазвичай фіксуються методами електронної мікроскопії, такими як трансмісійна (TEM) чи скануюча (SEM) електронна мікроскопія, де наночастинки часто вимірюються в межах десятків нанометрів в залежності від умов біосинтезу.

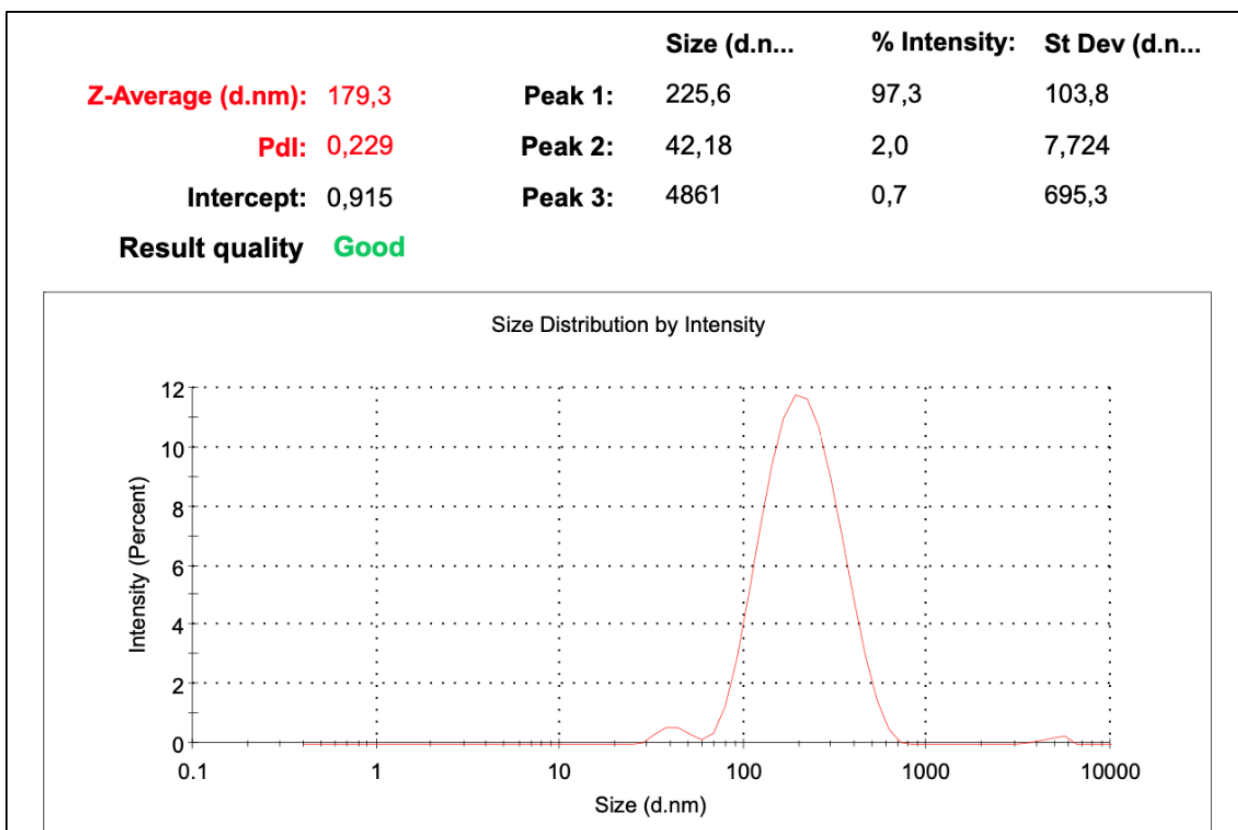


Рис. 4.4. Розміри біосинтезованих наночастинок селену

Така розбіжність при вимірюванні розмірів наночастинок пояснюється особливостями методу динамічного розсіювання світла (DLS), на основі якого працює наносайзер і який визначає розмір не лише самих кристалічних ядер наночастинок селену, а й враховує органічну оболонку, яка їх оточує. Ця оболонка часто складається з біомолекул, наприклад, білків, ліпідів, полісахаридів чи інших стабілізуючих агентів, які синтезуються клітинами, і саме ця оболонка впливає на гідродинамічний радіус наночастинок у розчині, збільшуючи їхній розмір.

Тому, якщо виміри розмірів наночастинок, отримані при використанні наносайзера виявились набагато більші за отримані значення при використанні електронної мікроскопії, це є позитивним аспектом, оскільки саме наявність цієї органічної покривної оболонки є ключовою основою таких властивостей наночастинок, як стабільність у колоїдному розчині, біодоступність та біологічна активність (Hashem et al., 2023). Це підтверджено різними дослідженнями, зокрема, Fath-Alla зі співавторами, досліджуючи біосинтез наночастинок селену при використанні *Saccharomyces cerevisiae*, показали, що розмір сферичних наночастинок селену коливається у межах від 34 до 125 нм при використанні TEM-аналізу, тоді як середній розмір наночастинок, який був виміряний при використанні наносайзера склав 173,9 нм (Fath-Alla et al., 2024).

Загалом, розмір наночастинок селену значно варіюється залежно від умов і способу біосинтезу (табл 4.2). До прикладу, при використанні дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* розмір наночастинок коливався від 75 до 709 нм (Faramarzi et al., 2020). Під час біосинтезу наночастинок селену при використанні бактерій *Bacillus subtilis* їх середній розмір був 530 нм (Ullah et al., 2021). Набагато менші за розмірами наночастинок селену були отримані під час їх біосинтезу за допомогою *Lactobacillus acidophilus* – 34,13 нм (Alam et al., 2020), а за допомогою *Monascus purpureus* – 46,58 нм (El-Sayed et al., 2020).

Дзета-потенціал є одним із ключових параметрів, що характеризують стабільність колоїдних систем, зокрема суспензій біосинтезованих

наночастинок селену. У нашому дослідженні значення дзета-потенціалу отриманих SeNPs становило $-16,2$ мВ (рис. 4.5). Це свідчить про те, що сформовані наночастинки мають достатній рівень електростатичного відштовхування, завдяки якому колоїдна система залишається стабільною та стійкою до агломерації. Значення в межах від ± 15 до -30 мВ зазвичай вказують на помірну, але задовільну стабільність частинок у водному середовищі.

Таблиця 4.2

Розмір наночастинок селену при використанні мікроорганізмів

Мікроорганізм	Середнє значення, нм Z-average	Джерело
<i>Candida pseudojiufengensis</i>	14	Ali et al., 2024
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	173,9	Fath-Alla et al., 2024
<i>Bacillus subtilis</i> BSN313	530	Ullah et al., 2021
<i>Penicillium corylophilum</i>	72	Salem et al., 2021
<i>Penicillium verhagenii</i>	91,2	Nassar et al., 2023
<i>Aspergillus Flavus</i>	49,72	Mohammed et al., 2024
<i>Eurotium cristatum</i>	231,7	Li et al., 2024
<i>Trichoderma</i> sp	211,4	Arunthirumeni et al., 2022
<i>Fusarium semitectum</i>	92,33	Abbas et al., 2020
<i>Yarrowia lipolytica</i> ATCC 18942	110	Lashani et al., 2024
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> M437	179,3	Власні дослідження

Дзета-потенціал відображає величину заряду, що формується на поверхні наночастинок, та визначає їхню взаємодію між собою у суспензії. Чим більше за абсолютним значенням є дзета-потенціал, тим сильніше електростатичне відштовхування між частинками, а отже – тим нижча їх схильність до злипання та утворення агрегатів. Водночас значення дзета-потенціалу може суттєво варіювати залежно від виду мікроорганізмів-продуцентів, умов культивування та хімічної природи поверхневих груп, які формуються у процесі біосинтезу.

Згідно з літературними джерелами, значення дзета-потенціалу біогенних наночастинок селену дійсно є різними. Так, для наночастинок

селену, синтезованих дріжджами *Saccharomyces cerevisiae*, показники становили від $-7,06$ до $-10,3$ мВ (Faramarzi et al., 2020), що відповідає відносно слабкій, але прийнятній стабільності колоїдної системи. У випадку використання бактерій *Bacillus subtilis* отримували значно вищі за абсолютним значенням показники: $-26,9$ мВ (Ullah et al., 2021), які свідчать про високу електростатичну стабілізацію частинок. Натомість наночастинки селену, синтезовані при використанні *Lactobacillus acidophilus*, мали позитивний дзета-потенціал $+37,86$ мВ (Alam et al., 2020). Такий позитивний поверхневий заряд характерний для наночастинок, що вкриті протеїнами або пептидами, які надають катіонний заряд поверхні. Для наночастинок, отриманих за участі грибів *Monascus purpureus*, дзета-потенціал був негативним і становив $-24,01$ мВ (El-Sayed et al., 2020), що також свідчить про їх високу стабільність.

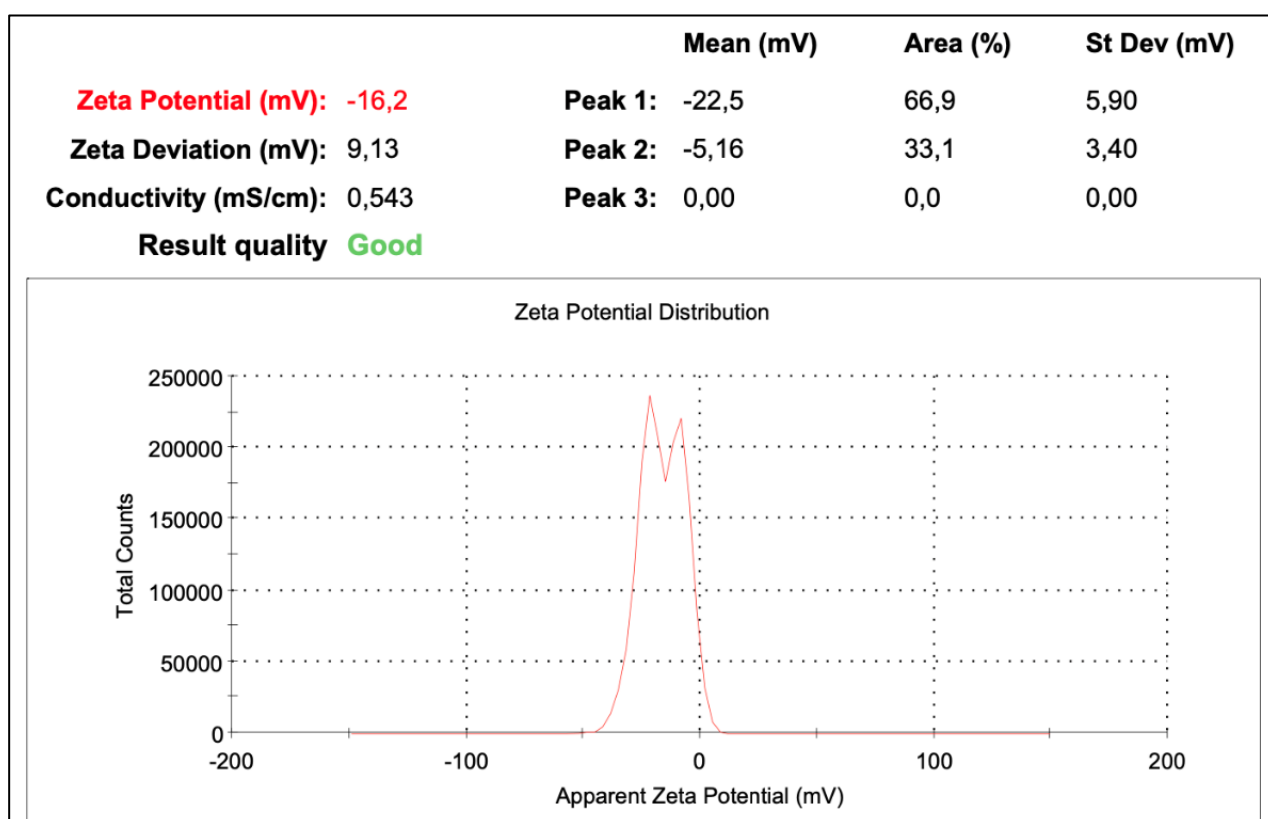


Рис. 4.5. Дзета-потенціал біосинтезованих наночастинок селену

Таким чином, отримане нами значення дзета-потенціалу $-16,2$ мВ добре вписується у загальний діапазон значень, характерних для біологічно синтезованих наночастинок селену. Це значення дзета-потенціалу демонструє

задовільну стабільність суспензії та підтверджує ефективність біосинтезу, оскільки сформовані наночастинки зберігають дисперсність і не схильні до інтенсивного утворення агломератів.

Значення індексу полідисперсності (PDI) є важливим параметром для оцінювання стабільності та однорідності біосинтезованих наночастинок селену. У нашому дослідженні PDI розчину біосинтезованих SeNPs становив 0,229, що свідчить про помірну полідисперсність та достатньо однорідний розмірний розподіл наночастинок. Таке значення знаходиться в оптимальному діапазоні для біогенних наночастинок і характеризує їхню низьку схильність до агломерації та стабільність колоїдної системи. Загальноприйнято, що $PDI < 0,1$ свідчить про високу монодисперсність, значення від 0,1 до 0,3 вказують на прийнятну однорідність розподілу частинок, тоді як $PDI > 0,3$ характеризує широкий діапазон розмірів та підвищену полідисперсність.

Порівняння отриманого результату з даними сучасної наукової літератури демонструє його відповідність загальним тенденціям для біологічно синтезованих SeNPs. У випадку використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* значення PDI варіювали від 0,189 до 0,989 (Faramarzi et al., 2020), що вказує на значну залежність розподілу розмірів від умов культивування. Наночастинки, синтезовані бактеріями *Bacillus subtilis*, характеризувалися значенням PDI 0,282 (Ullah et al., 2021), а при використанні *Lactobacillus acidophilus* – 0,285 (Alam et al., 2020). Одними з найбільш однорідних були наночастинки, отримані за участі *Monascus purpureus*, для яких PDI становив 0,205 (El-Sayed et al., 2020). Таким чином, значення PDI 0,229, отримане у нашому дослідженні, добре відповідає наведеним літературним даним і підтверджує високу якість отриманих наночастинок.

Загалом, індекс полідисперсності характеризує однорідність розмірів частинок у колоїдній суспензії та їх схильність до утворення агломератів. Чим вищим є значення PDI, тим менш однорідним є розмірний розподіл і тим більша ймовірність злипання частинок. Низькі значення, навпаки, свідчать про стабільність, рівномірність розміру та більшу передбачуваність властивостей матеріалу.

Узагальнені дані значення дзета-потенціалу та індексу полідисперсності із сучасної наукової літератури наведені у табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Дзета-потенціал наночастинок селену при використанні мікроорганізмів

Мікроорганізм	Дзета-потенціал	PDI	Джерело
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	+37,86	0,285	Alam et al., 2020
<i>Candida pseudojiufengensis</i>	+34	0,15	Ali et al., 2024
<i>Eurotium cristatum</i>	-15,5	0,277	Li et al., 2024
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-22,4	0,503	Fath-Alla et al., 2024
<i>Monascus purpureus</i>	-24,01	0,205	El-Sayed et al., 2020
<i>Bacillus subtilis</i> BSN313	-26,9	0,282	Ullah et al., 2021
<i>Penicillium verhagenii</i>	-32	-	Nassar et al., 2023
<i>Trichoderma</i> sp	-	0,287	Arunthirumeni et al., 2022
<i>Yarrowia lipolytica</i> ATCC 18942	-34,51	1	Lashani et al., 2024
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> M437	-16,2	0,229	Власні дослідження

4.5. Механізми внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену

Внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок селену є складним процесом, що базується на мікробних механізмах відновлення селеніту до елементарного селену із утворенням наночастинок. Ключову роль у відновленні селеніту відіграють ферменти, такі як сульфїтредуктаза та тіоредоксинредуктаза, які використовують донори електронів, зокрема NADPH або NADH, для каталізації реакції відновлення (Wang et al., 2018). У *Bacillus mycoides* тіолові сполуки, такі як глутатіон і N-ацетил-L-цистеїн, беруть участь у відновленні селеніту (Baggio et al., 2021).

Також показано, що і інші метаболіти *Bacillus mycoides* приймають участь у біосинтезі наночастинок селену, наприклад, 4-гідроксибензоат та індол-3-оцтова кислота, які синтезуються бактеріальними клітинами як реакція на стрес (Baggio et al., 2021). У *Stenotrophomonas maltophilia* у процесі біосинтезу наночастинок селену задіяний гомолог алкогольдегідрогенази

(Lampis et al., 2017). При дослідженні внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок із використанням дріжджів *Pichia pastoris*, відновлення селену відбувається за допомогою NADH-залежної цитохром b5 редуктази (Elahian et al., 2017).

Таким чином ми бачимо, що у процесі внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену приймають участь різні біомолекули. Локалізація наночастинок селену також варіює: у більшості випадків вони спочатку формуються внутрішньоклітинно, а потім можуть вивільнятися у позаклітинне середовище. Наприклад, у *Stenotrophomonas maltophilia* наночастинок синтезуються всередині клітини, а згодом виходять у розчин (Lampis et al., 2017). У *Rhodococcus aetherivorans* наночастинок селену оточені органічним покриттям, яке підвищує їхню стабільність і запобігає агрегації (Presentato et al., 2018). Крім того, у *Shewanella oneidensis* було виявлено здатність змінювати процес перенесення електронів за межами клітини (позаклітинний ланцюг), що досягається через модифікацію гена *CymA*, який відповідає за перенесення електронів. Зміна цього ланцюга впливає на локалізацію наночастинок та їхній склад і розмір (Tian et al., 2017).

Механізми біосинтезу наночастинок селену з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* полягають у відновленні неорганічного селену (здебільшого селеніту натрію) до елементарного селену (Se^0) за допомогою біохімічних систем дріжджових клітин. Процес розпочинається з додавання селеніту натрію до реакційної суміші. Іони селеніту (Se^{4+}) поступово відновлюються до елементарного селену (Se^0) з утворенням наночастинок. Успішність цього процесу може бути візуально підтверджена характерною зміною кольору: від блідо-жовтого або прозорого – до темно-оранжевого, цегляно-червоного чи червонувато-коричневого. Ця зміна зумовлена виникненням поверхневого плазмонного резонансу, характерного для наночастинок селену (Goud, 2016; Wu, 2021; Fath-Alla, 2024).

Важливу роль у відновленні селеніту відіграють різні метаболіти та біомолекули дріжджів – білки, вуглеводи, карбонільні групи, терпеноїди, алкалоїди, аміни, амідні та фенольні сполуки. Основні біохімічні компоненти

механізму включають мембранно-зв'язані оксидоредуктази та хінони, які каталізують процес відновлення. Активація редуктаз відбувається за умов підвищення внутрішньоклітинного рН, що сприяє перетворенню іонів металів на наночастинки. Хінони демонструють яскраво виражені нуклеофільні та окисно-відновні властивості, що необхідні для перебігу цього процесу (Faramarzi, Anzabi, & Jafarizadeh-Malmiri, 2020).

Ферментативне перетворення селеніту є NADH-залежним. Крім того, активність ферментів, що здійснюють редукцію селеніту натрію до елементарного селену, має індуктивний характер, тобто потребує синтезу нових білків. Це було продемонстровано шляхом пригнічення процесу циклогексимідом – інгібітором синтезу білка. У результаті дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* перетворюють неорганічні сполуки селену на селенометіонін та елементарний селен, які є значно менш токсичними порівняно з вихідними формами (Pereira, Gerolis, Gonçalves, Pedrosa, & Neves, 2018).

Формування наночастинок відбувається внутрішньоклітинно. SeNPs виявляються у вигляді електронно-щільних включень у цитоплазмі клітин. Важливим фактором, що впливає на ефективність біосинтезу, є концентрація кисню. Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* є факультативними анаеробами, які здатні до росту як в аеробних, так і в анаеробних умовах. Проте найефективніше відновлення селеніту та подальше виведення елементарного селену у позаклітинний простір відбувається за мікроаерофільних умов (1,0-1,5 мг/л розчиненого кисню). Надлишок кисню, так само як і його повна відсутність, знижує ефективність процесу (Zhang та ін., 2021). Синтез SeNPs не залежить від освітлення (Pereira, Gerolis, Gonçalves, Pedrosa, & Neves, 2018).

Біосинтезовані SeNPs характеризуються аморфною структурою та природним органічним кепуванням – вони вкриті білками та іншими біомолекулами, які одночасно виконують функції відновлювальних, стабілізуючих і захисних агентів. Інфрачервона спектроскопія (FTIR) підтверджує наявність функціональних груп, характерних для білків – амінних, амідних і карбоксильних. Органічна оболонка підвищує стабільність

частинок та запобігає їх переходу в інертні форми сірого або чорного селену. Високий негативний зета-потенціал (наприклад, $-22,4$ або $-34,0$ мВ) забезпечує стійкість колоїдного розчину наночастинок селену та перешкоджає їх агрегації (Fath-Alla, Khalil, Mohamed, El-Ghany, & Mohamed, 2024).

Наночастинки селену, що утворилися всередині клітин, з часом транспортуються у позаклітинний простір. Передбачається, що дріжджі екструдують надлишковий елементарний селен у формі наночастинок через везикулоподібні структури, особливо за мікроаерофільних умов. Процес екструзії відбувається без порушення цілісності клітинної мембрани та без ознак лізису (Pereira, Gerolis, Gonçalves, Pedrosa, & Neves, 2018).

Внутрішньоклітинний біосинтез наночастинок селену є складним і багатофакторним процесом, що залежить від специфічних ферментативних систем мікроорганізмів. Розуміння цих механізмів є важливим для подальшого розвитку біотехнологічних підходів до синтезу наночастинок селену з регульованими характеристиками для медичних, екологічних та промислових застосувань.

Наукові результати даного розділу кваліфікаційної роботи висвітлені у статті (Skrotska, Protsenko, Zholobko, & Marynin 2025).

ВИСНОВКИ

Біосинтез наночастинок селену за участю бактерій є перспективним, екологічно безпечним та ефективним методом отримання наноматеріалів із різними фізико-хімічними властивостями та біологічною активністю. Використання різних родів бактерій та дріжджів дозволяє формувати наночастинки різної форми та розміру, що визначає їх потенційну функціональність. Біогенні SeNPs проявляють широкий спектр біологічної активності, включаючи антибактеріальну, протигрибкову, антиоксидантну та протипухлинну дію, а також здатність стимулювати ріст рослин і забезпечувати біофортифікацію. Основні механізми біосинтезу передбачають ферментативне відновлення селеніту чи селенату та стабілізацію наночастинок завдяки білкам, полісахаридам, ліпідам та іншим біомолекулам, що гарантує їх колоїдну стабільність.

У ході роботи проведено аналіз наукової літератури щодо застосування бактерій та дріжджів для біосинтезу SeNPs, зокрема їх внутрішньоклітинних механізмів. Експериментально підтверджено можливість внутрішньоклітинного синтезу наночастинок селену з використанням *Saccharomyces cerevisiae* M437. Встановлено, що на початковому етапі наночастинок формуються всередині клітин, а згодом вивільняються у розчин, що спрощує їх виділення та очищення. Зміна кольору реакційної суміші свідчить про утворення SeNPs, що підтверджується спектрофотометричним аналізом із максимумом поглинання при 252 нм. Характеристика отриманих наночастинок показала середній гідродинамічний діаметр 179,3 нм, індекс полідисперсності 0,229 та дзета-потенціал -16,2 мВ, що підтверджує їх стабільність і дисперсність.

Отримані результати демонструють високий потенціал біогенних наночастинок селену для подальшого застосування у медицині, харчовій промисловості, агробіотехнологіях та екологічній інженерії. Використання як бактерій, так і дріжджів дозволяє отримувати стабільні наноматеріали з відтворюваними характеристиками, що відкриває широкі можливості для розробки функціональних продуктів та біотехнологічних рішень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Скροцька О. І., Проценко М. Д., Жолобка О. В. (2025). Біосинтез наночастинок селену при використанні бактерій: характеристика, властивості та механізми. Наукові праці НУХТ, 31(3), 88-105. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2025-31-3-8>

Abbas, H., & Abou Baker, D. (2020). Biological evaluation of selenium nanoparticles biosynthesized by *Fusarium semitectum* as antimicrobial and anticancer agents, *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(4), pp. 1119-1133. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.15618.1945>

Abdel-Moneim, A. M. E., El-Saadony, M. T., Shehata, A. M., Saad, A. M., Aldhumri, S. A., Ouda, S. M., & Mesalam, N. M. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1197-1209. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.046>

Abdollahnia, M., Makhdoumi, A., Mashreghi, M., & Eshghi, H. (2020). Exploring the potentials of halophilic prokaryotes from a solar saltern for synthesizing nanoparticles: The case of silver and selenium. *PLoS One*, 15(3), e0229886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229886>

Afzal, B., Yasin, D., Naaz, H., Sami, N., Zaki, A., Rizvi, M. A., Kumar, R., Srivastava, P., & Fatma, T. (2021). Biomedical potential of *Anabaena variabilis* NCCU-441 based Selenium nanoparticles and their comparison with commercial nanoparticles, *Scientific Reports*, 11(1), 13507. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91738-7>

Ahmad, M. S., Yasser, M. M., Sholkamy, E. N., Ali, A. M., & Mehanni, M. M. (2015). Anticancer activity of biostabilized selenium nanorods synthesized by *Streptomyces bikiniensis* strain Ess_ amA-1. *International journal of nanomedicine*, 3389-3401.

Akçay, F. A., & Avcı, A. (2020). Effects of process conditions and yeast extract on the synthesis of selenium nanoparticles by a novel indigenous isolate *Bacillus* sp. EKT1 and characterization of nanoparticles. *Archives of Microbiology*, 202(8), 2233-2243. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01942-8>

Al-Hagar, O. E., Abol-Fotouh, D., Abdelkhalek, E. S., Elsoud, M. M. A., & Sidkey, N. M. (2021). *Bacillus niabensis* OAB2: Outstanding bio-factory of selenium nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 273, 125147. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.125147>

Al-Shemmary, A. J., Malallah, H. A., Al-Mashhadi, A. R., Jaber, A. H., & Shaker, Z. B. (2022). Biosynthesis of selenium nanoparticles using probiotic *Bacillus clausii* and their antibacterial efficacy against multidrug-resistant bacteria (MDR). *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 1011-1019. <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.S07.142>

Alam, H., Khatoon, N., Khan, M. A., Husain, S. A., Saravanan, M., & Sardar, M. (2020). Synthesis of selenium nanoparticles using probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* and their enhanced antimicrobial activity against resistant bacteria. *Journal of Cluster Science*, 31, 1003-1011. <https://doi.org/10.1007/s10876-019-01705-6>

Ali, B. A., Allam, R. M., Hasanin, M. S., & Hassabo, A. A. (2024), Biosynthesis of selenium nanoparticles as a potential therapeutic agent in breast cancer: G2/M arrest and apoptosis induction, *Toxicology Reports*, 13, 101792. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101792>

Aminisough, S. A., Daneshjou, S., & Khajeh, K. (2024). Biosynthesis, characterization, and investigation of cytotoxic activities of selenium nanoparticles utilizing *Limosilactobacillus fermentum*. *Green Processing and Synthesis*, 13(1), 20240030. <https://doi.org/10.1515/gps-2024-0030>

Ao, B., Du, Q., Liu, D., Shi, X., Tu, J., & Xia, X. (2023). A review on synthesis and antibacterial potential of bio-selenium nanoparticles in the food industry, *Frontiers in microbiology*, 14, 1229838. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1229838>

Arunthirumeni, M., Veerammal, V., & Shivakumar, M. S. (2022). Biocontrol efficacy of mycosynthesized selenium nanoparticle using *Trichoderma* sp. on insect pest *Spodoptera litura*. *Journal of Cluster Science*, 33(4), pp. 1645-1653. <https://doi.org/10.1007/s10876-021-02095-4>

Ashengroph, M., & Hosseini, S. R. (2021). A newly isolated *Bacillus amyloliquefaciens* SRB04 for the synthesis of selenium nanoparticles with potential antibacterial properties. *International Microbiology*, 24(1), 103-114. <https://doi.org/10.1007/s10123-020-00147-9>

Bafghi, M. H., Darroudi, M., Zargar, M., Zarrinfar, H., & Nazari, R. (2021). Biosynthesis of selenium nanoparticles by *Aspergillus flavus* and *Candida albicans* for antifungal applications. *Micro & Nano Letters*, 16(14), 656-669. <https://doi.org/10.1049/mna2.12096>

Baggio, G., Groves, R. A., Chignola, R., Piacenza, E., Presentato, A., Lewis, I. A., Lampis, S., Vallini, G., & Turner, R. J. (2021). Untargeted metabolomics investigation on selenite reduction to elemental selenium by *Bacillus mycoides* SeITE01, *Frontiers in Microbiology*, 12, 711000. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.711000>

Bharathi, S., Kumaran, S., Suresh, G., Ramesh, M., Thangamani, V., Pugazhvendan, S. R., & Sathiyamurthy, K. (2020). Extracellular synthesis of nanoselenium from fresh water bacteria *Bacillus* sp., and its validation of antibacterial and cytotoxic potential. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101655. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101655>

Borah, S. N., Goswami, L., Sen, S., Sachan, D., Sarma, H., Montes, M., ... & Narayan, M. (2021). Selenite bioreduction and biosynthesis of selenium nanoparticles by *Bacillus paramycoides* SP3 isolated from coal mine overburden leachate. *Environmental Pollution*, 285, 117519. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117519>

Bravo, F., Moraga, R., Valenzuela, C., Aguayo, P., Smith, C. T., Contreras, F., ... & Campos, V. L. (2024). Arsenic biomineralization and selenium nanoparticles biosynthesis by *Halomonas boliviensis* strain H-10 isolated from the high-altitude Salar de Huasco salt flat (Chile). *Environmental Technology & Innovation*, 34, 103575. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2024.103575>

Chandramohan, S., Sundar, K., & Muthukumaran, A. (2018). Monodispersed spherical shaped selenium nanoparticles (SeNPs) synthesized by

Bacillus subtilis and its toxicity evaluation in zebrafish embryos. *Materials Research Express*, 5(2), 025020. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aaabeb>

Cremonini, E., Boaretti, M., Vandecandelaere, I., Zonaro, E., Coenye, T., Lleo, M. M., ... & Vallini, G. (2018). Biogenic selenium nanoparticles synthesized by *Stenotrophomonas maltophilia* Se ITE 02 loose antibacterial and antibiofilm efficacy as a result of the progressive alteration of their organic coating layer. *Microbial biotechnology*, 11(6), 1037-1047. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13260>

Cremonini, E., Zonaro, E., Donini, M., Lampis, S., Boaretti, M., Dusi, S., ... & Vallini, G. (2016). Biogenic selenium nanoparticles: characterization, antimicrobial activity and effects on human dendritic cells and fibroblasts. *Microbial biotechnology*, 9(6), 758-771. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12374>

Duan, Y., Li, M., Zhang, S., Wang, Y., Deng, J., Wang, Q., ... & Wang, Z. (2022). Highly efficient biotransformation and production of selenium nanoparticles and polysaccharides using potential probiotic *Bacillus subtilis* T5. *Metabolites*, 12(12), 1204. <https://doi.org/10.3390/metabo12121204>

Dutta, N., & Ray, S. (2024). An Overview on Bioinspired Selenium Nanoparticles Synthesis Using Various Natural Sources with its Mechanism of Action, *Journal of Agriculture and Education Research*, 2(3), pp. 1-6.

El-deeb, B. A., Asem, E., & Mohammed, K. (2023), Biosynthesis and optimization of Selenium nanoparticles using *Streptomyces* Sp, *Sohag Journal of sciences*, 8(1), pp. 1-6. <https://doi.org/10.21608/sjsci.2022.164668.1034>

El-Mahallawy, D. S., Allam, N., El-Kemary, M., & Azab, M. (2023). Acceleration and retrieval of selenium nanoparticles synthesized from *Lactobacillus acidophilus*. *Egypt. J. Exp. Biol. (Botany)*, 19(2), 179-179. <https://doi.org/10.5455/egyjebb.20231028021003>

El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Taha, T. F., Najjar, A. A., Zabermawi, N. M., Nader, M. M., AbuQamar, S. F., El-Tarabily, K. A., & Salama, A. (2021). Selenium nanoparticles from *Lactobacillus paracasei* HM1 capable of antagonizing animal pathogenic fungi as a new source from human breast milk, *Saudi Journal of*

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.059>

El-Sayed, E. S. R., Abdelhakim, H. K., & Ahmed, A. S. (2020). Solid-state fermentation for enhanced production of selenium nanoparticles by gamma-irradiated *Monascus purpureus* and their biological evaluation and photocatalytic activities, *Bioprocess and biosystems engineering*, 43, pp. 797-809.

<https://doi.org/10.1007/s00449-019-02275-7>

Elahian, F., Reisi, S., Shahidi, A., & Mirzaei, S. A. (2017). High-throughput bioaccumulation, biotransformation, and production of silver and selenium nanoparticles using genetically engineered *Pichia pastoris*, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(3), pp. 853-861.

<https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.10.009>

Eydelkhani, M., Kiabi, S., & Nowruzi, B. (2024). *In vitro* assessment of the effect of magnetic fields on efficacy of biosynthesized selenium nanoparticles by *Alborzia kermanshahica*. *BMC biotechnology*, 24(1), 27.

<https://doi.org/10.1186/s12896-024-00855-4>

Famarzi, S., Anzabi, Y., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020). Nanobiotechnology approach in intracellular selenium nanoparticle synthesis using *Saccharomyces cerevisiae*—fabrication and characterization, *Archives of microbiology*, 202(5), pp. 1203-1209. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01831-0>

Fath-Alla, A. A., Khalil, N. M., Mohamed, A. S., El-Ghany, A., & Mohamed, N. (2024). Antiradical and anti-inflammatory activity of *Saccharomyces cerevisiae*-mediated selenium nanoparticles, *Egyptian Journal of Botany*, 64(2), pp. 773-787. <https://doi.org/10.21608/ejbo.2024.267306.2692>

Fawzi, F. H., & Ahmed, M. E. (2025). Green synthesis and characterization of selenium nanoparticles via *Staphylococcus warneri* approach: antimicrobial and on PhzM Pyocyanin gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Plasmonics*, 20(3), 1455-1471. <https://doi.org/10.1007/s11468-024-02378-2>

Fernández-Llamosas, H., Castro, L., Blázquez, M. L., Díaz, E., & Carmona, M. (2017). Speeding up bioproduction of selenium nanoparticles by using *Vibrio*

natriegens as microbial factory. *Scientific reports*, 7(1), 16046.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-16252-1>

Fischer, S., Krause, T., Lederer, F., Merroun, M. L., Shevchenko, A., Hübner, R., ... & Jain, R. (2020). *Bacillus safensis* JG-B5T affects the fate of selenium by extracellular production of colloidal less stable selenium nanoparticles. *Journal of hazardous materials*, 384, 121146.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121146>

Ghazi, S., Diab, A. M., Khalafalla, M. M., & Mohamed, R. A. (2021). Synergistic effects of selenium and zinc oxide nanoparticles on growth performance, hemato-biochemical profile, immune and oxidative stress responses, and intestinal morphometry of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Biological trace element research*, pp. 1-11. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02631-3>

Ghosh, S., Sarkar, B., Kaushik, A., & Mostafavi, E. (2022). Nanobiotechnological prospects of probiotic microflora: Synthesis, mechanism, and applications. *Science of the Total Environment*, 838, 156212,
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156212>

Goud, K. G., Veldurthi, N. K., Vithal, M., & Reddy, G. (2016). Characterization and evaluation of biological and photocatalytic activities of selenium nanoparticles synthesized using yeast fermented broth. *Journal of Materials NanoScience*, 3(2), pp. 33-40.
<https://pubs.thesciencein.org/journal/index.php/jmns/article/view/203>

Grasso G., Zane D., & Dragone R. (2020). Microbial nanotechnology: challenges and prospects for green biocatalytic synthesis of nanoscale materials for sensoristic and biomedical applications, *Nanomaterials (Basel)*, 10, 11.
<https://doi.org/10.3390/nano10010011>

Greeshma, B. C., & Mahesh, M. (2019). Biosynthesis of selenium nanoparticles from *Bacillus* species and its applications. *Journal of Applied and Natural Science*, 11(4), 810-815. <https://doi.org/10.31018/jans.v11i4.2188>

Hamza, F., Vaidya, A., Apte, M., Kumar, A. R., & Zinjarde, S. (2017). Selenium nanoparticle-enriched biomass of *Yarrowia lipolytica* enhances growth

and survival of *Artemia salina*, *Enzyme and Microbial Technology*, 106, pp. 48-54.

<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.07.002>

Hariharan, H., Al-Harbi, N., Karupiah, P., & Rajaram, S. (2012). Microbial synthesis of selenium nanocomposite using *Saccharomyces cerevisiae* and its antimicrobial activity against pathogens causing nosocomial infection. *Chalcogenide Letters*, 9(12), pp. 509-515.

Hashem, A. H., Abdelaziz, A. M., Askar, A. A., Fouda, H. M., Khalil, A. M., Abd-Elsalam, K. A., & Khaleil, M. M. (2021). *Bacillus megaterium*-mediated synthesis of selenium nanoparticles and their antifungal activity against *Rhizoctonia solani* in faba bean plants. *Journal of Fungi*, 7(3), 195.

<https://doi.org/10.3390/jof7030195>

Hashem, A. H., El-Sayyad, G. S., Al-Askar, A. A., Marey, S. A., AbdElgawad, H., Abd-Elsalam, K. A., & Saied, E. (2023). Watermelon rind mediated biosynthesis of bimetallic selenium-silver nanoparticles: characterization, antimicrobial and anticancer activities, *Plants*, 12(18), 3288.

<https://doi.org/10.3390/plants12183288>

Hassan, M. G., Hawwa, M. T., Baraka, D. M., El-Shora, H. M., & Hamed, A. A. (2024). Biogenic selenium nanoparticles and selenium/chitosan-Nanoconjugate biosynthesized by *Streptomyces parvulus* MAR4 with antimicrobial and anticancer potential. *BMC microbiology*, 24(1), 21.

<https://doi.org/10.1186/s12866-023-03171-7>

Hosseini Bafghi, M., Zarrinfar, H., Darroudi, M., Zargar, M., & Nazari, R. (2022). Green synthesis of selenium nanoparticles and evaluate their effect on the expression of ERG3, ERG11 and FKS1 antifungal resistance genes in *Candida albicans* and *Candida glabrata*, *Letters in Applied Microbiology*, 74(5), pp. 809-819.

<https://doi.org/10.1111/lam.13667>

Hu, D., Yu, S., Yu, D., Liu, N., Tang, Y., Fan, Y., Wang, C., & Wu, A. (2019). Biogenic *Trichoderma harzianum*-derived selenium nanoparticles with control functionalities originating from diverse recognition metabolites against phytopathogens and mycotoxins, *Food Control*, 106, 106748.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106748>

Hu, L., Cao, Y., Chen, X., Wang, Z., Xu, T., Xiong, D., & Zhao, Z. (2023). Efficient biosynthesis of selenium nanoparticles using *Lacticaseibacillus paracasei* SCFF20: A potential bio-factory for selenite conversion. *Authorea Preprints*. <https://doi.org/10.22541/au.169692166.60329508/v1>

Huang, S. W., Yao, Y. Y., Zhang, H. X., Guo, W. Y., Fang, M. H., Wang, H. B., ... & Li, M. H. (2025). Novel mechanisms for selenite biotransformation and selenium nanoparticles biogenesis in *Acinetobacter* sp. SX5 isolated from seleniferous soil. *Journal of Hazardous Materials*, 489, 137694. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.137694>

Huang, S., Wang, Y., Tang, C., Jia, H., & Wu, L. (2021). Speeding up selenite bioremediation using the highly selenite-tolerant strain *Providencia rettgeri* HF16-A novel mechanism of selenite reduction based on proteomic analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 406, 124690. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124690>

Huang, S., Yu, K., Wen, L., Long, X., Sun, J., Liu, Q., ... & Liu, J. (2023). Development and application of a new biological nano-selenium fermentation broth based on *Bacillus subtilis* SE201412. *Scientific Reports*, 13, 2560. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29737-z>

Huang, T., Holden, J. A., Reynolds, E. C., Heath, D. E., O'Brien-Simpson, N. M., & O'Connor, A. J. (2020). Multifunctional antimicrobial polypeptide-selenium nanoparticles combat drug-resistant bacteria, *ACS applied materials & interfaces*, 12(50), pp. 55696-55709. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c17550>

Hussein, H. G., El-Sayed, E. S. R., Younis, N. A., Hamdy, A. E. H. A., & Easa, S. M. (2022). Harnessing endophytic fungi for biosynthesis of selenium nanoparticles and exploring their bioactivities, *AMB Express*, 12(1), 68. <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01408-8>

Ibrahim, M. S., El-gendy, G. M., Ahmed, A. I., Elharoun, E. R., & Hassaan, M. S. (2021). Nanoselenium versus bulk selenium as a dietary supplement: Effects on growth, feed efficiency, intestinal histology, haemato-biochemical and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) fingerlings, *Aquaculture Research*, 52(11), pp. 5642-5655. <https://doi.org/10.1111/are.15439>

Jahanbakhshi, A., Pourmozaffar, S., Adeshina, I., Mahmoudi, R., Erfanifar, E., & Ajdari, A. (2021). Selenium nanoparticle and selenomethionine as feed additives: effects on growth performance, hepatic enzymes' activity, mucosal immune parameters, liver histology, and appetite-related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus*), *Fish Physiology and Biochemistry*, 47, pp. 639-652. <https://doi.org/10.1007/s10695-021-00937-6>

Jamal, Q. M. S., & Ahmad, V. (2022). *Lysinibacilli*: A biological factories intended for bio-insecticidal, bio-control, and bioremediation activities. *Journal of Fungi*, 8(12), 1288 <https://doi.org/10.3390/jof8121288>

Jamróz, E., Kopel, P., Juszczak, L., Kawecka, A., Bytesnikova, Z., Milosavljevic, & V., Makarewicz, M. (2019a). Development of furcellaran-gelatin films with Se-AgNPs as an active packaging system for extension of mini kiwi shelf life, *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100339. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100339>

Jamróz, E., Kulawik, P., Kopel, P., Balková, R., Hynek, D., Bytesnikova, Z., Gagic M., Milosavljevic V., & Adam, V. (2019b). Intelligent and active composite films based on furcellaran: Structural characterization, antioxidant and antimicrobial activities, *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100405. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100405>

Jassim, T., & Al-Shibly, M. K. A. (2024). Antimicrobial effect of biosynthesis of selenium nanoparticles by *Pseudomonas aeruginosa* on bacteria isolated from wounds and burns. *Wasit Journal for Pure sciences*, 3(1), 143-151. <https://doi.org/10.31185/wjps.304>

Kieliszek, M., Bierla, K., Jiménez-Lamana, J., Kot, A. M., Alcántara-Durán, J., Piwowarek, K., Błażej, S., & Szpunar, J. (2020). Metabolic response of the yeast *Candida utilis* during enrichment in selenium, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5287. <https://doi.org/10.3390/ijms21155287>

Kora, A. J. (2018b). Gram+ ve bacterium *Staphylococcus aureus*: a potential source for the green biosynthesis of monodispersed, smaller selenium nanoparticles. *Micro & Nano Letters*, 13(8), 1155-1158. <https://doi.org/10.1049/mnl.2017.0822>

Kora, A. J. (2018a). *Bacillus cereus*, selenite-reducing bacterium from contaminated lake of an industrial area: A renewable nanofactory for the synthesis of selenium nanoparticles. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s40643-018-0217-5>

Kumar, A., Prasad, B., Manjhi, J., & Prasad, K. S. (2020). Antioxidant activity of selenium nanoparticles biosynthesized using a cell-free extract of *Geobacillus*. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 102(10), 556-567. <https://doi.org/10.1080/02772248.2020.1829623>

Kumar, R. (2021). Microscopy, working and types, *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, 11(3), pp. 245-248. <https://doi.org/10.52711/2231-5713.2021.00040>

Lampis, S., Zonaro, E., Bertolini, C., Cecconi, D., Monti, F., Micaroni, M., ... & Vallini, G. (2017). Selenite biotransformation and detoxification by *Stenotrophomonas maltophilia* SeITE02: novel clues on the route to bacterial biogenesis of selenium nanoparticles. *Journal of hazardous materials*, 324, 3-14.

Lampis, S., Zonaro, E., Bertolini, C., Cecconi, D., Monti, F., Micaroni, M., Turner, R. J., Butler, C. S., & Vallini, G. (2017). Selenite biotransformation and detoxification by *Stenotrophomonas maltophilia* SeITE02: novel clues on the route to bacterial biogenesis of selenium nanoparticles, *Journal of hazardous materials*, 324, pp. 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.02.035>

Lashani, E., Moghimi, H., Turner, R. J., & Amoozegar, M. A. (2024). Characterization and biological activity of selenium nanoparticles biosynthesized by *Yarrowia lipolytica*, *Microbial Biotechnology*, 17(10), e70013. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.70013>

Li, M., Yang, R., Li, N., Zhao, S., Wei, S., Zhang, S., ... & Cheng, S. (2024). Effect of Different Selenium Species on Indole-3-Acetic Acid Activity of Selenium Nanoparticles Producing Strain *Bacillus altitudinis* LH18. *Molecules*, 29(11), 2463. <https://doi.org/10.3390/molecules29112463>

Li, N., Yang, Y., Qi, J., Li, J., Cheng, Y., Li, Z., Yue, T., & Yuan, Y. (2024). Selenium nanoparticles biosynthesized by *Eurotium cristatum* with antimicrobial

activity, *Food Science and Human Wellness*.

<https://doi.org/10.26599/FSHW.2024.9250158>

Lian, S., Diko, C. S., Yan, Y., Li, Z., Zhang, H., Ma, Q., & Qu, Y. (2019). Characterization of biogenic selenium nanoparticles derived from cell-free extracts of a novel yeast *Magnusiomyces ingens*, *3 Biotech*, 9, pp. 1-8.

<https://doi.org/10.1007/s13205-019-1748-y>

Liu, P., Long, H., Cheng, H., Liang, M., Liu, Z., Han, Z., ... & He, S. (2023). Highly-efficient synthesis of biogenic selenium nanoparticles by *Bacillus paramycoides* and their antibacterial and antioxidant activities. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1227619.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1227619>

Long, Q., Cui, L. K., He, S. B., Sun, J., Chen, Q. Z., Bao, H. D., ... & Cui, L. Y. (2023). Preparation, characteristics and cytotoxicity of green synthesized selenium nanoparticles using *Paenibacillus motobuensis* LY5201 isolated from the local specialty food of longevity area. *Scientific Reports*, 13(1), 53.

<https://doi.org/10.1038/s41598-022-26396-4>

Malyugina, S., Skalickova, S., Skladanka, J., Slama, P., & Horky, P. (2021). Biogenic selenium nanoparticles in animal nutrition: a review, *Agriculture*, 11(12), 1244. <https://doi.org/10.3390/agriculture11121244>

Mohammed, E. J., Abdelaziz, A. E., Mekky, A. E., Mahmoud, N. N., Sharaf, M., Al-Habibi, M. M., Khairy, N. M., Al-Askar, A. A., Youssef, F. S., Gaber, M. A., Saied, E., AbdElgayed, G., Metwally, S. A., & Shoun, A. A. (2024). Biomedical promise of *Aspergillus flavus*-biosynthesized selenium nanoparticles: A green synthesis approach to antiviral, anticancer, anti-biofilm, and antibacterial applications. *Pharmaceuticals*, 17(7), 915. <https://doi.org/10.3390/ph17070915>

Nabi, F., Arain, M. A., Hassan, F., Umar, M., Rajput, N., Alagawany, M., Syed, S. F., Soomro, J., Somroo F., & Liu, J. (2020). Nutraceutical role of selenium nanoparticles in poultry nutrition: a review, *World's Poultry Science Journal*, 76(3), pp. 459-471. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1789535>

Nassar, A. R. A., Eid, A. M., Atta, H. M., El Naghy, W. S., & Fouda, A. (2023). Exploring the antimicrobial, antioxidant, anticancer, biocompatibility, and

larvicidal activities of selenium nanoparticles fabricated by endophytic fungal strain *Penicillium verhagenii*. *Scientific reports*, 13(1), 9054. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35360-9>

Ndwandwe, B. K., Malinga, S. P., Kayitesi, E., & Dlamini, B. C. (2021). Advances in green synthesis of selenium nanoparticles and their application in food packaging, *International Journal of Food Science and Technology*, 56(6), pp. 2640-2650. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14916>

Nie, X., Yang, X., He, J., Liu, P., Shi, H., Wang, T., & Zhang, D. (2023). Bioconversion of inorganic selenium to less toxic selenium forms by microbes: A review, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1167123. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1167123>

Nile, S. H., Thombre, D., Shelar, A., Gosavi, K., Sangshetti, J., Zhang, W., Sieniawska, E., Patil, R., & Kai, G. (2023). Antifungal properties of biogenic selenium nanoparticles functionalized with nystatin for the inhibition of *Candida albicans* biofilm formation, *Molecules*, 28(4), 1836. <https://doi.org/10.3390/molecules28041836>

Nwoko, K. C., Liang, X., Perez, M. A., Krupp, E., Gadd, G. M., & Feldmann, J. (2021). Characterisation of selenium and tellurium nanoparticles produced by *Aureobasidium pullulans* using a multi-method approach, *Journal of Chromatography A*, 1642, 462022. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462022>

Pereira, A. G., Gerolis, L. G. L., Gonçalves, L. S., Pedrosa, T. A., & Neves, M. J. (2018). Selenized *Saccharomyces cerevisiae* cells are a green dispenser of nanoparticles, *Biomedical Physics & Engineering Express*, 4(3), 035028. <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aab524>

Pouri, S., Motamedi, H., Honary, S., & Kazeminezhad, I. (2017). Biological synthesis of selenium nanoparticles and evaluation of their bioavailability. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, e17160452. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160452>

Presentato, A., Piacenza, E., Anikovskiy, M., Cappelletti, M., Zannoni, D., & Turner, R. J. (2018). Biosynthesis of selenium-nanoparticles and-nanorods as a product of selenite bioconversion by the aerobic bacterium *Rhodococcus*

aetherivorans BCP1, *New biotechnology*, 41, pp. 1-8.

<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.11.002>

Qin, X., Wang, Z., Lai, J., Liang, Y., & Qian, K. (2025). The Synthesis of Selenium Nanoparticles and Their Applications in Enhancing Plant Stress Resistance: A Review. *Nanomaterials*, 15(4), 301.

<https://doi.org/10.3390/nano15040301>

Rajkumar, K., Mvs, S., Koganti, S., & Burgula, S. (2020). Selenium nanoparticles synthesized using *Pseudomonas stutzeri* (MH191156) show antiproliferative and anti-angiogenic activity against cervical cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 4523-4540.

<https://doi.org/10.2147/IJN.S247426>

Ramya, S., Shanmugasundaram, T., & Balagurunathan, R. (2020). Actinobacterial enzyme mediated synthesis of selenium nanoparticles for antibacterial, mosquito larvicidal and anthelmintic applications. *Particulate Science and Technology*, 38(1), 63-72.

<https://doi.org/10.1080/02726351.2018.1508098>

Ranjitha, V. R., & Ravishankar, V. R. (2018). Extracellular synthesis of selenium nanoparticles from an actinomycetes *Streptomyces griseoruber* and evaluation of its cytotoxicity on HT-29 cell line. *Pharmaceutical nanotechnology*, 6(1), 61-68. <https://doi.org/10.2174/2211738505666171113141010>

Rasouli, M. (2019). Biosynthesis of selenium nanoparticles using yeast *Nematospora coryli* and examination of their anti-candida and anti-oxidant activities, *IET nanobiotechnology*, 13(2), pp. 214-218. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5187>

Ruiz-Fresneda, M. A., Eswayah, A. S., Romero-González, M., Gardiner, P. H., Solari, P. L., & Merroun, M. L. (2020). Chemical and structural characterization of Se IV biotransformations by *Stenotrophomonas bentonitica* into Se0 nanostructures and volatiles Se species. *Environmental Science: Nano*, 7(7), 2140-2155. <https://doi.org/10.1039/d0en00507j>

Ruiz-Fresneda, M. A., Martín, J. D., Bolívar, J. G., Cantos, M. V. F., Bosch-Estévez, G., Moreno, M. F. M., & Merroun, M. L. (2018). Green synthesis and

biotransformation of amorphous Se nanospheres to trigonal 1D Se nanostructures: impact on Se mobility within the concept of radioactive waste disposal. *Environmental Science: Nano*, 5(9), 2103-2116. <https://doi.org/10.1039/c8en00221e>

Saad, A. M., Sitohy, M. Z., Sultan-Alolama, M. I., El-Tarabily, K. A., & El-Saadony, M. T. (2022). Green nanotechnology for controlling bacterial load and heavy metal accumulation in Nile tilapia fish using biological selenium nanoparticles biosynthesized by *Bacillus subtilis* AS12. *Frontiers in microbiology*, 13, 1015613. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1015613>

Safaei, M., Mozaffari, H. R., Moradpoor, H., Imani, M. M., Sharifi, R., & Golshah, A. (2022). Optimization of green synthesis of selenium nanoparticles and evaluation of their antifungal activity against oral *Candida albicans* infection. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2022(1), 1376998. <https://doi.org/10.1155/2022/1376998>

Sahoo, B., Panigrahi, L. L., Jena, S., Jha, S., & Arakha, M. (2023). Oxidative stress generated due to photocatalytic activity of biosynthesized selenium nanoparticles triggers cytoplasmic leakage leading to bacterial cell death. *RSC advances*, 13(17), 11406-11414. <https://doi.org/10.1039/d2ra07827a>

Saied, E., Mekky, A. E., Al-Askar, A. A., Hagag, A. F., El-bana, A. A., Ashraf, M., Walid, A., Nour, T., Fawzi, M. M., Arishi, A. A., & Hashem, A. H. (2023). *Aspergillus terreus*-mediated selenium nanoparticles and their antimicrobial and photocatalytic activities, *Crystals*, 13(3), 450. <https://doi.org/10.3390/cryst13030450>

Sajnóg, A., Bierła, K., Szpunar, J., & Jiménez-Lamana, J. (2023). Critical evaluation of sample preparation for SP-ICP-MS determination of selenium nanoparticles in microorganisms—focus on yeast, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 38(11), pp. 2448-2457. <https://doi.org/10.1039/D3JA00181D>

Salem, S. S., Fouda, M. M., Fouda, A., Awad, M. A., Al-Olayan, E. M., Allam, A. A., & Shaheen, T. I. (2021). Antibacterial, cytotoxicity and larvicidal activity of green synthesized selenium nanoparticles using *Penicillium*

corylophilum, *Journal of Cluster Science*, 32, pp. 351-361.

<https://doi.org/10.1007/s10876-020-01794-8>

Salimi, T., Hajarian, H., Karamishabankareh, H., & Soltani, L. (2024). Effects of sodium selenite, cysteamine, bacterially synthesized Se-NPs, and cysteamine loaded on Se-NPs on ram sperm cryopreservation. *Scientific Reports*, 14(1), 852. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50221-1>

Salman, M. F., Al-Mudallal, N. H., & Ahmed, M. E. (2025). Cytotoxic Effect of Biogenic Selenium Nanoparticles Using Bacteriocin of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Burns and Wound Infections. *Iraqi Journal of Science*. <https://doi.org/10.24996/ij.s.2025.66.4.13>

Samant, S., Naik, M., Parulekar, K., Charya, L., & Vaigankar, D. (2018). Selenium reducing *Citrobacter freundii* strain KP6 from Mandovi estuary and its potential application in selenium nanoparticle synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 88, 747-754. <https://doi.org/10.1007/s40011-016-0815-y>

San Keskin, N. O., Akbal Vural, O., & Abaci, S. (2020). Biosynthesis of noble selenium nanoparticles from *Lysinibacillus* sp. NOSK for antimicrobial, antibiofilm activity, and biocompatibility. *Geomicrobiology Journal*, 37(10), 919-928. <https://doi.org/10.1080/01490451.2020.1799264>

Senthamarai, M. D., Hillary, V. E., Rajan, M. R., & Ceasar, S. A. (2024). Biosynthesis of selenium nanoparticles and its biological applications: A systematic review. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 39, 101261. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2024.101261>

Shakeri, F., Zaboli, F., Fattahi, E., & Babavalian, H. (2022). Biosynthesis of selenium nanoparticles and evaluation of its antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2022(1), 4118048. <https://doi.org/10.1155/2022/4118048>

Shoeibi, S., & Mashreghi, M. (2017). Biosynthesis of selenium nanoparticles using *Enterococcus faecalis* and evaluation of their antibacterial activities. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 39, 135-139. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.09.003>

Skóra, B., Krajewska, U., Nowak, A., Dziedzic, A., Barylyak, A., & Kus-Liśkiewicz, M. (2021). Noncytotoxic silver nanoparticles as a new antimicrobial strategy, *Scientific Reports*, 11(1), 13451. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92812-w>

Skrotska O., Protsenko M., Zholobko M., & Marynin M. (2025). Biosynthesis and characterization of selenium nanoparticles by *Saccharomyces cerevisiae* M437, *Ukrainian Journal of Food Science*, 13(1), 91-110. <https://doi.org/10.24263/2310-1008-2025-13-1-10>

Song, X., Qiao, L., Yan, S., Chen, Y., Dou, X., & Xu, C. (2021). Preparation, characterization, and in vivo evaluation of anti-inflammatory activities of selenium nanoparticles synthesized by *Kluyveromyces lactis* GG799, *Food & Function*, 12(14), pp. 6403-6415. <https://doi.org/10.1039/D1FO01019K>

Stabnikova, O., Khonkiv, M., Kovshar, I., & Stabnikov, V. (2023). Biosynthesis of selenium nanoparticles by lactic acid bacteria and areas of their possible applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(9), 230. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03673-6>

Tabibi, M., Aghaei, S. S., Amoozegar, M. A., Nazari, R., & Zolfaghari, M. R. (2020). Antibacterial, antioxidant, and anticancer activities of biosynthesized selenium nanoparticles using two indigenous halophilic bacteria. *Archives of Hygiene Sciences*, 9(4), 275-286. <https://doi.org/10.52547/ArchHygSci.9.4.275>

Tabibi, M., Aghaei, S., Amoozegar, M. A., Nazari, R., & Zolfaghari, M. R. (2023). Characterization of green synthesized selenium nanoparticles (SeNPs) in two different indigenous halophilic bacteria. *BMC chemistry*, 17(1), 115. <https://doi.org/10.1186/s13065-023-01034-w>

Tan, L. C., Nancharaiah, Y. V., van Hullebusch, E. D., & Lens, P. N. (2018). Selenium: environmental significance, pollution, and biological treatment technologies. *Anaerobic treatment of mine wastewater for the removal of selenate and its co-contaminants*, pp. 9-71. <https://doi.org/10.1201/9780429448676-2>

Tan, Y., Yao, R., Wang, R., Wang, D., Wang, G., & Zheng, S. (2016). Reduction of selenite to Se (0) nanoparticles by filamentous bacterium *Streptomyces*

sp. ES2-5 isolated from a selenium mining soil. *Microbial cell factories*, 15, 1-10.
<https://doi.org/10.1186/s12934-016-0554-z>

Tendenedzai, J. T., Brink, H. G., & Chirwa, E. M. (2021). Formation of Elemental Selenium Nanoparticles (SeNPs) from the Reduction of Selenite (SeO₃²⁻) by a Pure Culture of *Pseudomonas stutzeri* NT-i. *Chemical Engineering Transactions*, 86, 193-198. <https://doi.org/10.3303/CET2186033>

Tendenedzai, J. T., Chirwa, E. M., & Brink, H. G. (2022). *Enterococcus* spp. cell-free extract: An abiotic route for synthesis of selenium nanoparticles (SeNPs), their characterisation and inhibition of *Escherichia coli*. *Nanomaterials*, 12(4), 658. <https://doi.org/10.3390/nano12040658>

Tian, L. J., Li, W. W., Zhu, T. T., Chen, J. J., Wang, W. K., An, P. F., Zhang, L., Dong, J. C., Guan, Y., Liu, D. F., Zhou, N. Q., Liu, G., Tian, Y. C., & Yu, H. Q. (2017). Directed biofabrication of nanoparticles through regulating extracellular electron transfer, *Journal of the American Chemical Society*, 139(35), pp. 12149-12152. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b07460>

Ullah, A., Yin, X., Wang, F., Xu, B., Mirani, Z. A., Xu, B., Chan, M. W. H., Ali, A., Usman, M., Ali, N., & Naveed, M. (2021). Biosynthesis of selenium nanoparticles (via *Bacillus subtilis* BSN313), and their isolation, characterization, and bioactivities, *Molecules*, 26(18), 5559. <https://doi.org/10.3390/molecules26185559>

Vera, P., Canellas, E., & Nerín, C. (2018). New antioxidant multilayer packaging with nanoselenium to enhance the shelf-life of market food products, *Nanomaterials*, 8(10), 837. <https://doi.org/10.3390/nano8100837>

Vinu, D., Govindaraju, K., Vasantharaja, R., Amreen Nisa, S., Kannan, M., & Vijai Anand, K. (2021). Biogenic zinc oxide, copper oxide and selenium nanoparticles: preparation, characterization and their anti-bacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus*, *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 11, pp. 271-286. <https://doi.org/10.1007/s40097-020-00365-7>

Wadhwani, S. A., Gorain, M., Banerjee, P., Shedbalkar, U. U., Singh, R., Kundu, G. C., & Chopade, B. A. (2017). Green synthesis of selenium nanoparticles using *Acinetobacter* sp. SW30: optimization, characterization and its anticancer

activity in breast cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 6841-6855.

<https://doi.org/10.2147/IJN.S139212>

Wadhvani, S. A., Shedbalkar, U. U., Singh, R., & Chopade, B. A. (2018). Biosynthesis of gold and selenium nanoparticles by purified protein from *Acinetobacter* sp. SW 30. *Enzyme and microbial technology*, 111, 81-86.

<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.10.007>

Wang, F., Du, M., Kai, L., Du, S., Hu, W., Wang, Y., & Cheng, Y. (2022). Exopolymer-functionalized nanoselenium from *Bacillus subtilis* SR41: Characterization, monosaccharide analysis and free radical scavenging ability.

Polymers, 14(17), 3523. <https://doi.org/10.3390/polym14173523>

Wang, M., Jiang, D., & Huang, X. (2022). Selenium nanoparticle rapidly synthesized by a novel highly selenite-tolerant strain *Proteus penneri* LAB-1. *Iscience*, 25(9). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104904>

Wang, Y., Shu, X., Zhou, Q., Fan, T., Wang, T., Chen, X., Li, M., Ma, Y., Ni, J., Hou, J., Zhao, W., Li, R., Huang, S., & Wu, L. (2018). Selenite reduction and the biogenesis of selenium nanoparticles by *Alcaligenes faecalis* Se03 isolated from the gut of *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae), *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2799. <https://doi.org/10.3390/ijms19092799>

Wang, Y., Yu, Y., Duan, Y., Wang, Q., Cong, X., He, Y., ... & Wang, Z. (2022). Enhancing the activity of carboxymethyl cellulase enzyme using highly stable selenium nanoparticles biosynthesized by *Bacillus paralicheniformis* Y4. *Molecules*, 27(14), 4585. <https://doi.org/10.3390/molecules27144585>

Wang, Z., Li, N., Zhou, X., Wei, S., Zhu, Y., Li, M., ... & Cheng, S. (2024). Optimization of fermentation parameters to improve the biosynthesis of selenium nanoparticles by *Bacillus licheniformis* F1 and its comprehensive application. *BMC microbiology*, 24(1), 271. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03410-5>

Werkneh, A. A., Gebretsadik, G. G., & Gebru, S. B. (2023). Review on environmental selenium: Occurrence, public health implications and biological treatment strategies. *Environmental Challenges*, 11, 100698.

<https://doi.org/10.1016/j.envc.2023.100698>

Wu, Z., Ren, Y., Liang, Y., Huang, L., Yang, Y., Zafar, A., Hasan, M., Yang, F., & Shu, X. (2021). Synthesis, characterization, immune regulation, and antioxidative assessment of yeast-derived selenium nanoparticles in cyclophosphamide-induced rats, *ACS omega*, 6(38), pp. 24585-24594. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03205>

Xu, C., Qiao, L., Guo, Y., Ma, L., & Cheng, Y. (2018). Preparation, characteristics and antioxidant activity of polysaccharides and proteins-capped selenium nanoparticles synthesized by *Lactobacillus casei* ATCC 393. *Carbohydrate polymers*, 195, 576-585. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.110>

Zhang, H., Li, Z., Dai, C., Wang, P., Fan, S., Yu, B., & Qu, Y. (2021). Antibacterial properties and mechanism of selenium nanoparticles synthesized by *Providencia* sp. DCX, *Environmental Research*, 194, 110630. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110630>

Zhang, J., Wang, Y., Shao, Z., Li, J., Zan, S., Zhou, S., & Yang, R. (2019). Two selenium tolerant *Lysinibacillus* sp. strains are capable of reducing selenite to elemental Se efficiently under aerobic conditions. *Journal of environmental sciences*, 77, 238-249. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.08.002>

Zhang, L., Li, D., & Gao, P. (2012). Expulsion of selenium/protein nanoparticles through vesicle-like structures by *Saccharomyces cerevisiae* under microaerophilic environment, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, pp. 3381-3386. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1150-y>

Zhang, L., Li, Z., Zhang, L., Lei, Z., Jin, L., Cao, J., & Quan, C. (2022). High-efficiency reducing strain for producing Selenium nanoparticles isolated from Marine Sediment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11953. <https://doi.org/10.3390/ijms231911953>

Zhang, T., Qi, M., Wu, Q., Xiang, P., Tang, D., & Li, Q. (2023). Recent research progress on the synthesis and biological effects of selenium nanoparticles, *Frontiers in nutrition*, 10, 1183487. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1183487>

Zhang, T., Yao, C., Hu, Z., Li, D., & Tang, R. (2022). Protective effect of selenium on the oxidative damage of kidney cells induced by sodium nitrite in grass

carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Biological Trace Element Research*, pp. 1-9.

<https://doi.org/10.1007/s12011-021-02982-x>

ДОДАТКИ

Здобутки за період навчання:

Стипендія Президента України (липень - грудень 2025 р.).

За результатами кваліфікаційної роботи опубліковано статті у журналах:

Skrotska O., Protsenko M., Zholobko M., Marynin M. (2025). Biosynthesis and characterization of selenium nanoparticles by *Saccharomyces cerevisiae* M437, Ukrainian Journal of Food Science, 13(1), 91-110. <https://doi.org/10.24263/2310-1008-2025-13-1-10>

Скроцька О. І., Проценко М. Д., Жолобка О. В. (2025). Біосинтез наночастинок селену при використанні бактерій: характеристика, властивості та механізми. Наукові праці НУХТ, 31(3), 88-105. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2025-31-3-8>

За результатами кваліфікаційної роботи опубліковано тези у збірниках міжнародних та вітчизняних конференцій:

Проценко М.Д., Скроцька О.І. Біосинтез наночастинок селену за участі бактерій роду *Bacillus* // Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції : Програма та тези матеріалів XIII Міжнародної науково-технічної конференції (21 листопада 2024 р., м. Київ) – К.: НУХТ, 2024 р. – С. 54-55.

Проценко М. Д., Скроцька О. І. Відновлення іонів селеніту у наночастинок селену за допомогою *Saccharomyces cerevisiae* M437 // Матеріали V міжнародної науково-практичної-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 28, березня 2025 р.). – С. 335-336.

Проценко М., Жолобка О., Скроцька О. Використання біомаси дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* M437 для внутрішньоклітинного біосинтезу наночастинок селену // Матеріали 91 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді

– вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 7-11 квітня 2025 р.). – Ч. 1. – С. 331.

Проценко М.Д., Жолобка О.В., Скроцька О.І. Мікробіологічний синтез та фізичні властивості наночастинок селену: роль *Saccharomyces cerevisiae* M437. Матеріали Міжнародної наукової конференції «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування» (Харків, 14-15 травня 2025 р.). Держ. біотехнол. ун-т. – Х., 2025. – С. 107.

Результати кваліфікаційної роботи представлено на конференціях:

XIII Міжнародна науково-технічна конференція «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції» (21 листопада 2024 р., Київ).

V Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (28 березня 2025 р., Харків).



91-й Міжнародна наукова конференція молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті» (7-11 квітня 2025 р., Київ).

Усна доповідь на англomовній секції «Food Science and Technology» в рамках 91-ї Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті» (м. Київ, НУХТ, 11 квітня 2025 р.).



Міжнародна наукова конференція «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування» (14-15 травня 2025 р., м. Харків).



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



СЕРТИФІКАТ
засвідчує, що

Проценко Марія Дмитрівна

брав/ла участь у роботі Міжнародної наукової конференції
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ,
ЕКОЛОГІЇ ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ»
14–15 травня 2025 року, м. Харків, Україна

Голова оргкомітету,
проректор з наукової роботи, професор

Співголова оргкомітету,
декан факультету біотехнологій, професор



Валерій МИХАЙЛОВ

Олена ЩЕРБАК

Спеціалізована XIII науково-практична конференція з міжнародною участю школи молодих науковців АТ "Фармак" «Наука, інновації та якість в сучасному фармацевтичному виробництві», присвячена 100-річчю компанії Фармак (20-21 листопада 2025 р., Київ).



6th Scientific Conference “Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology” (November 25-26, 2025, Kyiv)



CERTIFICATE

OF PARTICIPATION

The 6th Scientific Conference
"YOUTH AND MODERN PROBLEMS OF MICROBIOLOGY AND VIROLOGY"
November 25-26, 2025

Mariia Protsenko

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


Mykola Spivak

Отримано нагороди:

Всеукраїнська студентська олімпіада з біотехнології та біоінженерії,
учасник I туру (21 лютого 2024 р.).



Диплом переможця конкурсу студентських наукових робіт за
благодійної підтримки Корпорації «Артеріум» (2024 р.).



Диплом I ступеня Всеукраїнського конкурсу студентських наукових робіт зі спеціальності «Біотехнології» (2024/2025н.р.).



Диплом III місце у I етапі Всеукраїнської студентської олімпіади зі спеціальності «Біотехнології та біоінженерія» (2024/2025н.р.);



Диплом I місце за усну доповідь на Міжнародній науковій конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (7-11 квітня 2025 р.).



Активність у міжнародних та освітніх програмах:

XIX International Summer School
SUMMER SCHOOL

DAAD
Deutscher Akademischer Austausch Dienst
German Academic Exchange Service

SPONSORED BY THE
Federal Ministry
of Education
and Research

ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА УНІВЕРСИТАЕТ І.І. МЕЧНИКОВА
1865

Certificate

OF PARTICIPATION

The XIX International SUMMER SCHOOL
Molecular biology, biotechnology and biomedicine

ISSUED TO Mariia Protsenko
(1,3 ECTS)

8-19 July 2024


VOLODYMYR IVANYTSIA
VICE-RECTOR OF
ODESA NATIONAL I.I. MECHNIKOV UNIVERSITY



ERASMUS-JMO-2022-HEI-TCH-RSCH-101085198 «OSEE - Open Science and Education in Europe: success stories for Ukrainian academia»



Co-funded by
the European Union

СЕРТИФІКАТ

засвідчує, що

Марія Проценко

впродовж 16 – 20 вересня 2024 року прийняв(-ла) участь у літній школі
для здобувачів освіти
«Відкрита наука в освіті та дослідженнях: кращі практики ЄС».
Обсяг циклу інтенсивів становить 1 кредит ЄКТС, 30 годин

Член Національного агентства із забезпечення якості вищої освіти,
Член робочої групи, "Educational Materials on Academic Integrity", ENAI,
Міжнародний інженер-педагог (ING-PAED IGIP)

Артем Артюхов



Координатор проекту OSEE



Юрій Волк

OSEE-SMRSCHL2024-CRT39



СЕРТИФІКАТ

засвідчує, що

Проценко Марія

взяла участь у

#Farmak_Lab 2024

«Проблеми і перспективи розробки вітчизняних оригінальних та генеричних лікарських засобів»

Директор з персоналу Farmak

Кондрашихіна Вікторія

24.10.2024 р.



Funded by the European Union **EcoEurope ProEU** **National Office Erasmus+ UA** **EURO STUDIES**

МІЖНАРОДНА ЗИМОВА ШКОЛА ЖАНА МОНЕ
«МЕНЕДЖМЕНТ АКАДЕМІЧНИХ ПРОЄКТІВ
ТА ЕФЕКТИВНА КОМУНІКАЦІЯ – 2025»

#JM 402-2025 J

СЕРТИФІКАТ
учасника
Марія Проценко

у рамках проєктів програми ЄС Еразмус+ «Політика та краєді практики Європейського Союзу з управління академічними проєктами» (101085243 - ProEU - ERASMUS-JMO-2022-HEI-TCH-RSCH) та «Екоменеджмент та екокомунікація у Європейському Союзі: до кліматично нейтральної Європи» (101127449 - EcoEurope - ERASMUS-JMO-2023-HEI-TCH-RSCH) (24 академічні години)

Ігор ЯКИМЕНКО
координатор проєктів

Олександр ШЕВЧЕНКО
ректор

15–17 січня 2025 р.
Національний університет харчових технологій
м. Київ



МІЖНАРОДНА ШКОЛА ЖАНА МОНЕ
«ЕФЕКТИВНИЙ ЕКОМЕНЕДЖМЕНТ ДЛЯ
ЄВРОПЕЙСЬКОГО МАЙБУТНЬОГО УКРАЇНИ»

СЕРТИФІКАТ

#JM 030 2025

УЧАСНИКА

Марія Проценко

Тренінг з екологічного менеджменту (20 академічних годин)
в рамках проектів програми ЄС Еразмус+ Стратегія відновлюваної енергетики ЄС як дороговказ для
України (101083755 - JM RE - ERASMUS-JMO-2022-HEI-TCH-RSCH) та Ефективний менеджмент
відходів у ЄС - кращий вибір для України (101127175 - JM REW - ERASMUS-JMO-2023-HEI-TCH-RSCH)

Оксана САЛАВОР,
координатор
проектів



Олександр ШЕВЧЕНКО,
ректор

19-21 березня 2025 р.
Національний університет харчових
технологій
Київ, Україна