

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет агротехнологій та природокористування

Кафедра біотехнології та хімії

Допущено до захисту

Завідувач кафедри Коваленко В.М.

«»2024 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
ЗА ПЕРШИМ (БАКАЛАВРСЬКИМ) РІВНЕМ ВИЩОЇ ОСВІТИ**

**Біосинтез наночастинок срібла з використанням
екстрактів рослин *R. chinensis* та *R. hybrida***

за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Виконав

.....
Підпис

Приходько М. О.

Прізвище, ініціали

Група

БІО2001

Назва групи

Науковий керівник

.....
Підпис

Коваленко В.М.

Прізвище, ініціали

Суми – 2024

АНОТАЦІЯ

Випускна кваліфікаційна робота викладена на - сторінках, ілюстрована - рисунком,- таблицями. Список використаних джерел включає - робіт.

Новизною роботи є дослідження ефективності біосинтезу наночасточок срібла за допомогою пелюсток троянди та розчину луку змінної концентрації рН. Також під час дослідної роботи було проведено кореляцію між кислотністю середовища та кількістю синтезованих наночастинок для визначення ефективного оптимуму для виробництва.

У роботі було визначено можливість використання пелюсток квітки **Rosa chinensis** для синтезу наночасточок срібла.

Було відібрано пелюстки, перед початком дослідження промити дистильованою водою. Потім пелюстки було висушено при 37 °С протягом 3 днів. Висушені пелюстки подрібнено до порошкоподібного стану, розчинено в 70% етиловому спирті у співвідношенні 1:10 і витримано 3 доби в темряві при кімнатній температурі. Після цього суміш відфільтровано за допомогою фільтрувального паперу.

Для ініціації синтезу наночасточок Ag до екстракту додано 1 мМ водний розчин AgNO₃, до якого було долито 5 мл етанольного екстракту пелюсток і 45 мл 1 мМ водного розчину AgNO₃. Значення рН змінювали 0,1 М розчином гідроксиду натрію та 0,1 М соляною кислотою до рН 4, 5, 8, 9. Дослідне значення рН без змін становило 4,5. Зразок був відцентрифугований протягом 15 хвилин при 15000 об/хв, щоб відокремити наночастинок від домішок. Супернатант, що утворився у верхній частині суміші, відокремили, і додали нову дистильовану воду. Процедура очищення повторювали дві

Результативність методу було перевірено за допомогою просвічуючого електронного мікроскопа (ТЕМ) і рентгенівської спектроскопії (EDX). Сильний сигнал спостерігався на EDX для срібла в спектрі 3 keV, і це є характеристикою

наночастинок срібла. Структуру та морфологію наночастинок було досліджено методами електронної мікроскопії, описаними вище.

Таким чином, обраний метод зеленого синтезу вважається придатним для отримання наночастинок срібла. Подальші дослідження властивостей AgNP можуть бути більш зосереджені на вивченні антибактеріальних і цитотоксичних ефектів і залежності цих властивостей від розміру наночастинок.

Ключові слова: біосинтез, “зелений” синтез, наночастинок срібла (AgNPs), трансмісійна електронна мікроскопія, інфрачервона спектроскопія Фур’є.

ANNOTATION

Graduation qualification work is laid out on - pages, illustrated - with a picture, - tables. The list of used sources includes - works.

The novel work is a study of the efficiency of the biosynthesis of silver nanoparticles using rose petals and an alkali solution of variable pH concentration. Also, during the research work, a correlation was made between the acidity of the environment and the choice of synthesized nanoparticles to determine the effective optimum for production.

The paper determined the possibility of using *Rosa chinensis* flower petals for the synthesis of silver nanoparticles.

Petals were selected and washed with distilled water before starting the study. The petals were then dried at 37 °C for 3 days. The dried petals were crushed to a powdery state, dissolved in 70% ethyl alcohol in a ratio of 1:10 and kept for 3 days in the dark at room temperature. After this mixture was filtered using filter paper. To initiate the synthesis of Ag nanoparticles, 1 mM AgNO₃ aqueous solution was added to the extract, to which 5 ml of the ethanol extract of the petals and 45 ml of 1 mM AgNO₃ aqueous solution were added. The pH value was changed with 0.1 M sodium hydroxide solution and 0.1 M hydrochloric acid to pH 4, 5, 8, 9. The experimental pH value without change was 4.5. The sample was centrifuged for 15 minutes at 15,000 rpm to separate the nanoparticles from the impurity. The supernatant formed in the upper part of the mixture was separated and new distilled water was added. The cleaning procedure was repeated twice

The performance of the method was verified using transmission electron microscope (TEM) and X-ray spectroscopy (EDX). A strong signal was observed on EDX for silver in the 3 keV spectrum, and this is characteristic of silver nanoparticles. The structure and morphology of the nanoparticles were investigated by the electron microscopy methods described above.

Thus, the selected method of green synthesis will be suitable for obtaining silver nanoparticles. Further research on the properties of AgNPs can be more focused on studying the antibacterial and cytotoxic effects and the relationship of these properties to the size of the nanoparticles.

Key words: biosynthesis, "green" synthesis, silver, nanoparticles, TEM, EDX.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

EDX – (X-ray spectroscopy) рентгенівська спектроскопія;

TEM – трансмісійна електронна мікроскопія;

FTIR – (Fourier-transform infrared spectroscopy) інфрачервона спектроскопія Фур'є;

НЧ – наночастинки;

AgNPs – (Argentum nanoparticles) наночастинки срібла;

IGC – (inert-gas condensation) конденсація інертним газом.

ЗМІСТ

ВСТУП

РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА НАНОЧАСТИНОК ТА МЕТОДІВ ЇХ ОТРИМАННЯ

1.1. Методи синтезу наночастинок

1.1.1. Фізичний синтез

1.1.2. Хімічний синтез

1.2. Біологічний синтез

1.2.1. Синтез за допомогою грибів

1.2.2. Синтез за допомогою бактерій

1.2.3. Отримання наночастинок за допомогою рослин або їх екстрактів (“зелений синтез”)

1.3. Використання наночастинок срібла

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Рослинний матеріал

2.2. Підготовка екстрактів

2.3 Особливості отримання срібних наночастинок

2.4 Аналіз реакційної суміші інфрачервоною спектроскопією Фур’є

2.5 Аналіз наночастинок за допомогою методу EDX та трансмісійної електронної мікроскопії

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Отримання AgNPs з екстракту

3.2 Визначення хімічного складу реакційної суміші методом інфрачервоної спектроскопії Фур’є

3.3 Аналіз наночасток синтезованих з екстракту *R. chinensis* за допомогою трансмісійної мікроскопії

3.4 Аналіз наночасток синтезованих з екстракту *R. hybrida* за допомогою трансмісійної мікроскопії

3.5 Аналіз AgNPs за допомогою методики EDX

ВИСНОВКИ

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

ВСТУП

Наночастинки металів викликають великий науковий та практичний інтерес через свої унікальні властивості. Протягом довгого часу синтез наночасток відбувався хімічним або фізичними методами, що дозволяють покривати потреби в цих матеріалах на ринку. Але суттєвим недоліком фізичного та хімічного синтезу - є їхній негативний вплив на довколишнє середовище, потенційна небезпека при виробництві наночастинок для працівників. Саме тому, існує велика потреба у впровадженні екологічно безпечних та дешевших методів отримання наночастинок.

На даний момент науковцями досліджено багато біологічних об'єктів, що можуть використовуватись як системи для синтезу наночастинок: рослини, гриби, бактерії, тощо. Їхня здатність утворювати наночастинки пов'язана з спроможністю до відновлення іонів металу за допомогою протеїнів, флавоноїдів, феноли, фенольні кислоти, тощо [Factors Influencing the Green Synthesis of Metallic Nanoparticles Using Plant Extracts: A Comprehensive Review].

Метою роботи є показати переваги синтезу наночастинок за допомогою рослинних екстрактів: низька вартість матеріалу, швидкість синтезу, екологічність на всіх етапах, можливість коригувати кількість продукту залежно від потреб застосування.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА НАНОЧАСТИНОК ТА МЕТОДІВ ЇХ ОТРИМАННЯ

Наночастинка являє собою частинку речовини розміром від 1-100 нм малої дисперсійності, який є однорідним за своїми транспортними та фізичним властивостями.

Розробка нових матеріалів є невід'ємною частиною наукового прогресу, особливо велику роль мають розробки у галузі наноматеріалів.

Основною **задачею** досліджень у галузі нанотехнологій є розробка оптимальних методик для ефективного синтезу наночастинок.

Наночастинки за хімічним складом є неорганічними та органічними.

До **неорганічних** наноматеріалів можна віднести: керамічні, метали, сплави; для **органічних**: полімери, біологічні наноструктури (ліпосоми, целосоми), вуглецеві (нанотрубки, фулурени); **неорганічно-органічні** — метал-полімерні, метал-органічні. Завдяки своїм розмірам ці матеріали можуть виявляти унікальні властивості та застосовуватись у галузях медицини, сільського господарства, екології, тощо.

Найбільше використовуються НЧ таких металів як: золото, кальцій, срібло.

- 3 **Золото.** Наночастинки цього металу застосовуються в імунотерапії через свої властивості проникати у тканини та атакувати клітини імунітету (лімфоїдні тканини), можуть використовуватись у хімічній терапії проти ракових пухлин та цільовій доставці ліків у організмі. Також важливим напрямком використання НЧ даного типу є проведення імунохімічних досліджень (ELISA) для визначення наявності певних антигенів ^[13].
- 4 **Кальцій.** Дані НЧ представлені кальцій карбонатом та кальцій фосфатом, викликають великий інтерес в галузі медицини, а саме в остеосинтезі кісток та зубів. Завдяки своїм властивостям остеопровідності та біодеградації НЧ кальцію

можуть виступати як гарна система заміщення пошкодженої частини кістки при заживленні, а також як система доставки ліків та цільових генів^[1,28].

5 **Срібло.** НЧ срібла гарно себе демонструють у виявленні антибактеріальних та напівпровідникових властивостей. Срібні НЧ можуть індукувати утворення вільних радикалів, що мають змогу змінювати проникність мембран, утворюючи пори, що може призвести до загибелі бактерії.^[26].

Галузь створення НЧ та їх продуктів ставить собі за мету створення ефективних та довгострокових рішень у різних сферах. Гарний рух розвитку прослідковується у світовому сільському господарстві, завдяки створенню нанодобрив та систем їх цільової доставки. Так було синтезовано наночастинки гідроксоапатиту (ГА), який було модифіковано сечовиною для забезпечення поетапного вивільнення азоту у ґрунті ^[22].

1.1. Методи синтезу наночастинок

Для синтезу наночастинок існують три методи, що мають різні параметри синтезу. До них відносять: метод лазерної абляції, гідротермальний синтез, гель-золь метод, конденсація інертного газу, метод мікроемульсії, біологічний синтез.

1.1.2 Метод лазерної абляції

Процес лазерної абляції зосереджений на екстракції матеріалу з поверхні твердого тіла шляхом опромінення лазерним променем. Залежно від налаштувань випромінення змінюється фізичні характеристики. При високій інтенсивності випромінення матеріал переходить у стан плазми, при низькому випроміненні відбувається поступове розігрівання за рахунок поступового поглинання енергії лазера — матеріал випаровується або сублімується.^[30].

Переваги методу лазерної абляції:

- 1) **висока чистота продукту:** Оскільки метод не вимагає використання хімічних реагентів, отримані наночастинки мають високу чистоту.
- 2) **контроль розміру та форми:** Параметри лазерного імпульсу та умов абляції дозволяють точно контролювати розмір і форму наночастинок.
- 3) **універсальність:** Метод може бути застосований до широкого спектру матеріалів, включаючи метали, напівпровідники, діелектрики тощо.
- 4) **швидкість та ефективність:** Метод дозволяє швидко отримувати великі кількості наночастинок.

1.1.3 Гідротермальний синтез

Гідротермальний синтез базується на проходженні хімічних перетворень всередині розчину з високим температурним режимом та тиском, які вище ніж в навколишньому середовищі. Перевагами даного методу є зниження лужної концентрації, що позитивно впливає на перехід до кристалічної фази. Висока лужність при гідротермальном синтезі є недоцільною, так як це може спричинити корозію реакційної суміші, що має негативний вплив при промисловому синтезі. Ще однією перевагою даного методу є зменшення енергії процесу утворення НЧ, що позитивно впливає у промисловому виробництві через зменшення кількості процесів під час синтезу.^[9]

Переваги гідротермального синтезу:

- 1) **синтез термодинамічно стабільних фаз:** Високі температури та тиски дозволяють отримувати кристалічні фази, які є термодинамічно стабільними і можуть бути важко доступними іншими методами.
- 2) **висока чистота продукту:**закрита система реактора запобігає забрудненню простору та додатковим втратам матеріалу і здатна забезпечувати високий стандарт чистоти отриманих наноматеріалів;
- 3) **універсальність:**метод підходить для синтезу широкого спектра матеріалів, включаючи оксиди, фосфати, сульфіди та інші сполуки;

- 4) **контроль морфології:** метод дозволяє точно контролювати форму і розміри частинок шляхом регулювання температури, тиску, концентрації і тривалість проходження реакції.

1.1.4 Гель-золь метод

Гель-золь метод заснований на отримання золя із подальшим переходом до стану гелю, тобто колоїдної системи, за рахунок гідролізу або конденсації, яка складається з рідкої дисперсійної системи. Цей метод дозволяє отримувати матеріал однакової розмірності, також метод дозволяє отримувати два і більше типів НЧ. Таким чином продукти зі сплавів синтезуються в одну стадію за рахунок змішування потрібних нам металів або їх оксидів у певній пропорції. Також особливістю гель-золь методу є висока гомогенність отриманих НЧ та низька температура проходження реакцій відносно інших методик.^[20]

Переваги гель-золь методу:

- 1) **однорідність:** метод забезпечує високу однорідність розподілу частинок за розмірами;
- 2) **висока чистота продукту:** методика дозволяє отримувати наночастинки з високою хімічною чистотою;
- 3) **однорідність:** Метод забезпечує високу однорідність розподілу частинок за розмірами;
- 4) **гнучкість:** цей метод підходить для синтезу широкого спектра матеріалів, включаючи оксиди, метали, сульфідні та композити;
- 5) **контроль розмірів частинок:** Розміри частинок можна точно контролювати шляхом зміни умов синтезу, таких як температура, концентрація рН середовища.

1.1.5 Конденсація інертного газу

Конденсація інертного газу (IGC) є доволі популярним методом промислового синтезу. Під час IGC метали поміщаються у камеру з вакуумом, що заповнена газами гелію або аргону. Атоми металу випаровується з втратою кінетичної енергії при зіткненні з газом утворюють НЧ з подальшим ростом за рахунок коалесценції. На розмір отриманих частинок можуть впливати загальна тривалість процесу, тиск та вид газів, швидкість випаровування матеріалу. [17,29]

Переваги методу конденсації інертного газу:

- 1) **контроль розмірів та морфології:** метод дозволяє точно контролювати розмір і морфологію наночастинок шляхом регулювання параметрів процесу, таких як температура випаровування, тиск інертного газу та температура конденсації;
- 2) **висока чистота продукту:** Використання інертного газу запобігає небажаним хімічним реакціям, що забезпечує високу чистоту отриманих наночастинок;
- 3) **універсальність:** Метод підходить для синтезу наночастинок з широкого спектру матеріалів, включаючи метали, оксиди, напівпровідники та інші сполуки;
- 4) **швидкість і ефективність:** конденсація інертного газу є відносно швидким методом і дозволяє отримувати великі кількості наночастинок за короткий проміжок часу.

1.1.6 Метод мікроемульсії

Метод мікроемульсії ще недостатньо гарно вивчений, але має доволі гарний потенціал для промислового виробництва. Під час синтезу за даною методикою матеріал для НЧ змішується з реагентами, а під час зіткнення реагентів з водою відбувається утворення мікроемульсії. Обмін відбувається доволі швидко, що в краплях відбуваються процеси нарощування, в результаті чого кінцеві наночастинки стабілізовані поверхнево активними речовинами. [19]

Переваги методу мікроемульсії:

- 1) **м'які умови синтезу:** синтез наночастинок може проходити при відносно низьких температурах і м'яких умовах, що важливо для термочутливих матеріалів.
- 2) **висока однорідність:** мікроемульсії забезпечують високий ступінь гомогенності розміру та форми наночастинок завдяки контролю параметрів мікрореакторів.
- 3) **широкий вибір матеріалів:** метод підходить для синтезу наночастинок різних матеріалів, включаючи метали, оксиди, сульфідні та полімери.
- 4) **висока стабільність:** мікроемульсії є термодинамічно стабільними системами, і дає змогу зберегати матеріал протягом довгого часу.

1.1.7 Гель-аерозольний метод

Гель-аерозольний метод є доволі гарним інструментом синтезу НЧ і забезпечує отримання однорідного за розміром та хімічним складом матеріалу. Приготування золю є початковим етапом і представляє собою колоїдний розчин, що містить прекурсори наночастинок. Зазвичай використовуються металоорганічні сполуки, солі металів або неорганічні комплекси.

При розпиленні розчину утворюються краплі, які кристалізуються після випаровування розчинника, утворення аерозольних парів відбувається за рахунок іскрового розряду. Пара пропускається через термічний реактор де відбувається осадження парової фази та отримують НЧ.^[11]

Переваги гель-аерозольного методу:

- 1) **однорідність та контроль розмірів:** Завдяки точному контролю над процесом формування аерозолю та теплової обробки можна отримувати наночастинки з вузьким розподілом розмірів.
- 2) **гнучкість у виборі матеріалів:** Метод підходить для синтезу наночастинок широкого спектра матеріалів, включаючи оксиди, метали, сульфідні та інші сполуки.

- 3) **висока продуктивність:** Метод дозволяє отримувати великі об'єми наночастинок у відносно короткі терміни.
- 4) **можливість масштабування:** процес можна легко примінити до вимог промисловості.

1.2 Біологічний синтез

Широке використання наноматеріалів має свої побічні ефекти, однією з головних проблем є вивільнення наночастинок у навколишнє середовище, а точніше їх відходів. Тому є доцільним впровадження екологічно чистих технологій синтезу є важливим завданням для забезпечення впровадження нанотехнологій в галузі медицини, сільського господарства.^[5]

Для подолання проблем токсичності використання промислових методів синтезу НЧ, науковцями було запропоновано “зелений” синтез. Ця методика забезпечує використання живих організмів в якості систем безпосереднього синтезу НЧ, що безумовно відображається на екологічній та фінансовій стороні. Через свою невисоку вартість та доведену результативність, даний метод є перспективним для впровадження у промисловість. Основними об'єктами синтезу є бактерії, гриби та рослини.^[4]

Переваги біологічного синтезу:

- 1) **біосумісність:** наночастинки, синтезовані біологічним методом, часто мають кращу біосумісність, що важливо для використання у біомедичній галузі;
- 2) **екологічна чистота:** метод не використовує токсичні хімічні речовини та не потребує високих температур або тисків, що знижує екологічний вплив;
- 3) **стабільність наночастинок:** біологічні агенти забезпечують природну стабілізацію наночастинок, запобігаючи їх агломерації;
- 4) **низька вартість:** використання природних біологічних агентів та відсутність складного обладнання роблять метод економічно вигідним.

1.2.1 Бактеріальний синтез

Бактерії є гарними біологічними об'єктами для синтезу НЧ через здатність до утворення неорганічних сполук як в клітині, так і за її межами. Утворення НЧ відбувається за рахунок біовідновлення, НАДФ-залежний фермент - редуктаза. В процесі дисоціації відщепленні електрони переходять від відновлених органічних до окислених неорганічних сполук через дисиміляційне анаеробне дихання мікроорганізмів, таким чином сприяючи утворенню металічних НЧ. Проходження процесу утворення НЧ не залежить від обраного середовища для інкубації розвитку бактерій. [15]

Основною вимогою до бактеріального організму є **біосумісність**, разом з тим після утворення НЧ бактерії продовжують розвиватись, що має негативний вплив на стадії виділення цільових продуктів синтезу. Поміж тим головним недоліком даного методу є обмеженість форм, розмірності та кількості НЧ. [3]

Переваги використання бактерій для синтезу наночастинок:

- 1) **Екологічність**: метод є екологічно чистим, оскільки не потребує використання токсичних хімічних речовин і високих енергозатрат.
- 2) **Біосумісність**: Наночастинки, синтезовані за допомогою бактерій, мають покращену біосумісність, що є важливим для медичних застосувань.
- 3) **Стабільність**: наночастинки часто мають високу стабільність через природні стабілізатори, присутні у бактерійній суспензії.
- 4) **Ефективність**: бактерії можуть синтезувати наночастинки швидко та у значних обсягах завдяки своїм активним ферментативним системам.

1.2.2 Синтез на основі грибів

Гриби є доволі поширеними на Землі та займають доволі високу екологічну ланку, будучи хемо-органотрофами вони є не вибагливими у отриманні поживних речовин. Ці організми є гарними системами для синтезу НЧ через високу металостійкість та здатність до біоаккумуляції металів. [12]

Синтез може відбуватись як в середині клітини так і за її межами. Різниця між ними полягає в тому, що НЧ отримані за допомогою внутрішньоклітинного синтезу

є меншими за розмірами, на відміну від позаклітинного. Також перевагою позаклітинного методу є економічна складова, так як не вимагає екстенсивної обробки при відділенні НЧ від субстрату. [8]

Загалом, перевагами синтезу НЧ за допомогою грибів є простота обробки біомаси та високий рівень виділення ферментів, що позитивно корелює з рентабельністю виробництва відносно бактеріального методу.

Переваги використання грибів для біосинтезу:

- 1) **Екологічність:** метод є екологічно чистим, оскільки не потребує використання токсичних хімічних речовин і високих енергозатрат;
- 2) **Ефективність:** гриби можуть синтезувати наночастинки швидко та у великих кількостях завдяки своїм активним ферментативним системам;
- 3) **Стабільність:** наночастинки часто мають високу стабільність через природні стабілізатори, присутні у грибному екстракті;
- 4) **Біосумісність:** наночастинки, синтезовані за допомогою грибів, мають покращену біосумісність, що є важливим для медичних застосувань.

1.2.3 Синтез на основі рослин та рослинних екстрактів, “зелений” синтез

Синтез на основі рослин та рослинних екстрактів або “зелений” синтез є перспективним розвитком екологічно чистих розробок в сфері нанотехнологій. За останній час було проведено дуже багато експериментів з рослинами, через свою економічну вигідність, простоті синтезу, швидкості утворення НЧ та великій кількості активних речовин. [25]

Утворення металічних НЧ за даної методики є доволі швидким і динамічним процесом, на який впливають концентрація та кількість екстракту, рН середовища. Не маловажливим фактором є вибір самого матеріалу, так як кожна рослина може відрізнитись за кількісними та якісними показниками речовин, що індукують синтез НЧ. [2]

Речовинами, які впливають на стабілізацію та відновлення солей металів є молекули різного біологічного спектру: флавоноїди, феноли, фенольні кислоти, протеїни, білки та полісахариди. [24]

Перевагами використання рослин над бактеріями та грибами для синтезу НЧ проявляються в швидкості та меншій енергетичній затратності процесу. Також дана методика є більш економічно доцільною через простоту синтезу, який може відбуватись в одну стадію без залучення додаткового обладнання, що створює специфічний температурний режим, тиск. Отримання чистих НЧ відділених від субстрату відбувається доволі легко з використанням методу центрифугування. [6]

1.3 Наночастинки срібла, їх використання

НЧ срібла є перспективними матеріалами через свої унікальні властивості, зокрема антибактеріальні та протипухлинні властивості на організм, що робить їх гарним матеріалом в галузі біомедичних досліджень: діагностика та лікування раку, цільова доставка ліків, молекулярні маркери для виявлення ракових пухлин, біосенсори для дослідження рівня цукру в крові, покращення параметрів загоєння ран. [27]

Антиканцерогенна дія виникає за рахунок здатності AgNPs проникати через мембрани пухлин та сприяти утворенню всередині їхніх клітин радикалів кисню, що в свою чергу впливає на пошкодження структури ДНК з подальшим виникненням апоптозу. Також може припинятись розвиток інвазій пухлин та метастазів в організмі через інгібування процесу ангиогенезу. [21]

AgNPs також можуть використовуватись як елемент очищення стічних вод, а саме гібриди з такими матеріалами, як целюлоза, активоване вугілля, хітозан, альгінат, оксиди графену, діоксид титану. Антимікробна дія та підвищена адсорбційна здатність є гарною екологічною альтернативою в галузі регулювання чистоти води. [7]

На даному етапі розвитку нанотехнологій промисловий синтез використовує токсичні речовини та складні багатоетапні процеси хімічного та фізичного

перетворення, що вимагають високих затрат енергії та ресурсів для отримання чистих НЧ. Створення екологічно чистих та фінансово привабливих альтернатив, таких як “зелений” синтез є важливим завданням, тому що ці технології забезпечують стабільний вихід НЧ з різною варіативністю розмірів. [10,16]

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Рослинний матеріал

В якості матеріалу для досліджень було взято пелюстки рослин *Rosa chinensis* та *R. hybrida*. Пелюстки відділяли від пагона та промивали двічі дистильованою водою з подальшим просушуванням в інкубаторі протягом 3 днів при температурі +37 °С.

2.2 Приготування екстрактів

При приготуванні екстрактів було використано висушені пелюстки, які подрібнювали за допомогою ступки до стану гомогенізованого порошку. Далі до матеріалу додавали 70% етиловий спирт у співвідношенні 1:10 і тримали протягом 3 днів у темряві при кімнатній температурі. Після цього суміш фільтрували за допомогою фільтрувального паперу. Для ініціації синтезу AgNPs до екстракту додавали 1 мМ водного розчину AgNO₃, до якого додавали до 5 мл етанольного екстракту пелюсток і 45 мл 1 мМ водного розчину AgNO₃. Значення рН змінювали 0,1 М розчином гідроксиду натрію та 0,1 М соляною кислотою до рН 4, 5, 8, 9.

Дослідне значення рН без змін становило 4,5 для *R. chinensis* та 4,7 для *R. hybrida*. Ми центрифугували зразок протягом 15 хвилин при 15000 об/хв, щоб

відокремити наночастинки від домішок. Супернатант, що утворився у верхній частині суміші, відокремлювали, і додавали нову дистильовану воду. Процедуру очищення повторювали двічі.



Рис. 2.1 Пелюстки *R. chinensis* та *R.hybrida*



Рис. 2.2 Пелюстки після інкубації при +37 °С

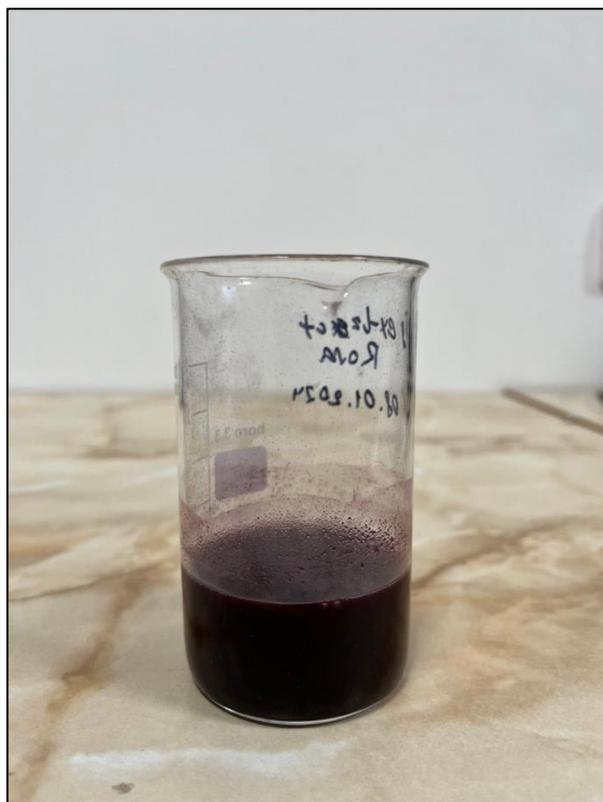


Рис. 2.3 Отримання екстракту пелюсток

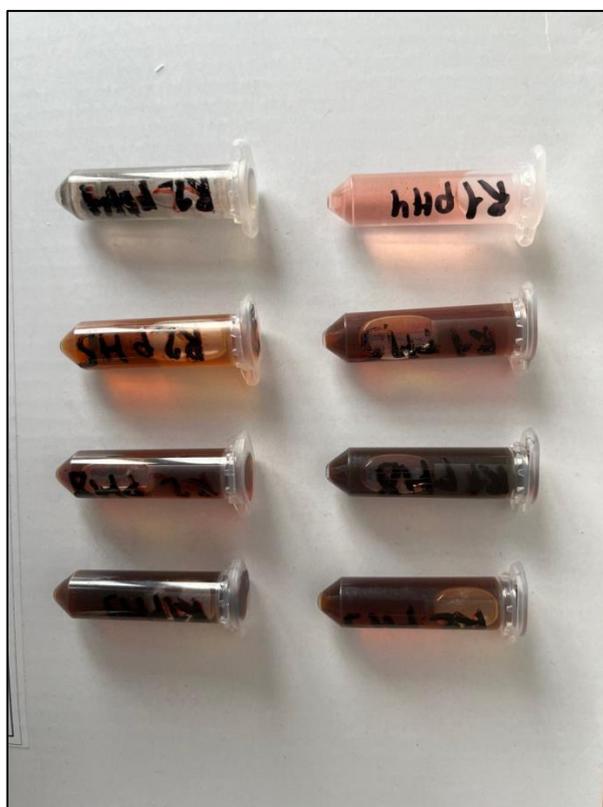


Рис 2.4 Очищений водний розчин AgNO_3 та екстракту

2.3 Особливості отримання срібних наночастинок

Для приготування AgNPs було використано водний розчин AgNO₃ у концентрації 1 мМ (див. Таблицю 2.1). Об'єм екстракту становив 1 мл та доводили до значення рН 4, 5, 8, 9 за допомогою 0,1 М NaOH та HCl.

Таблиця 2.1

Екстракти використані для синтезу

№	Зразок
R1-4	Пелюстки <i>R. chinensis</i> у 70% етанолу з рівнем рН=4
R2-4	Пелюстки <i>R. hybrida</i> у 70% етанолу з рівнем рН=4
R1-5	Пелюстки <i>R. chinensis</i> у 70% етанолу з рівнем рН=5
R2-5	Пелюстки <i>R. hybrida</i> у 70% етанолу з рівнем рН=5
R1-8	Пелюстки <i>R. chinensis</i> у 70% етанолу з рівнем рН=8
R2-8	Пелюстки <i>R. hybrida</i> у 70% етанолу з рівнем рН=8
R1-9	Пелюстки <i>R. chinensis</i> у 70% етанолу з рівнем рН=9
R2-9	Пелюстки <i>R. hybrida</i> у 70% етанолу з рівнем рН=9

Зміна кольору на темно коричневий відбувалась в кожному з зразків в не залежності від рівня рН, що свідчить про ініціацію синтезу срібних НЧ.

Таблиця 2.2

Склад суміші для синтезу AgNPs

Компоненти суміші	Об'єм, мл
-------------------	-----------

1 мМ водного AgNO ₃	45
Екстракт	5

2.4 Аналіз реакційної суміші інфрачервоною спектроскопією Фур'є

Інфрачервона спектроскопія Фур'є є потужним аналітичним інструментом для визначення хімічного складу речовини. Дослідження було проведено на Nicolset IS20 у центрі колективного користування науковим обладнанням «Лабораторія матеріалознавства геліоенергетичних, сенсорних та наноелектронних систем» Сумського державного університету.

2.5 Аналіз наночастинок за допомогою методу EDX та трансмісійної електронної мікроскопії

Метод EDX дозволяє проводити якісний та кількісний аналіз металічних матеріалів, а TEM — є потужним інструментом для дослідження розмірності та форми отриманих AgNPs. Дослідження було проведено на Elva x Light SSD та ПЕМ-125К у центрі колективного користування науковим обладнанням «Лабораторія матеріалознавства геліоенергетичних, сенсорних та наноелектронних систем» Сумського державного університету.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Отримання AgNPs з екстракту

Матеріалом для досліджень виступали пелюстки рослин *R. chinensis* та *R. hybrida*. Для приготування екстрактів, було гомогенізовано пелюстки, які екстрагували за допомогою етилового спирту, через 3 дні додавали водний розчин AgNO_3 і через деякий час центрифугували та збирали супернатант, який і використовувався для подальших досліджень.

3.2 Визначення хімічного складу реакційної суміші методом інфрачервоної спектроскопії Фур'є

Інфрачервона спектроскопія Фур'є (FTIR) є методом аналізу, який використовується для отримання інфрачервоних спектрів поглинання або випромінювання твердих тіл, рідин або газів. Основна мета FTIR-спектроскопії - ідентифікувати хімічні речовини або визначити їх концентрацію в зразках.

Екстракт з пелюсток для синтезу AgNPs демонструє сильні пікові значення в 3331 cm^{-1} , 1048 cm^{-1} , 1644 cm^{-1} , що відповідає O-H, C=O та C-O відповідно. Також спостерігається невеликий пік 2963 cm^{-1} відповідає C-H зв'язку. Сильний сигнал в районі значення 1084 cm^{-1} відповідає за C-N зв'язок, що може означати про наявність тетрапірольного кільця хлорофілу або флавоноїдів, у випадку пелюсток — флавоноїдів. При всіх значення pH було продемонстровано великі піки $3230\text{--}3323\text{ cm}^{-1}$ та 1620 cm^{-1} , що відповідає O-H та C=O зв'язкам відповідно.

Отримані дані, демонструють домінуючі зв'язки, які можуть впливати на синтез AgNPs..

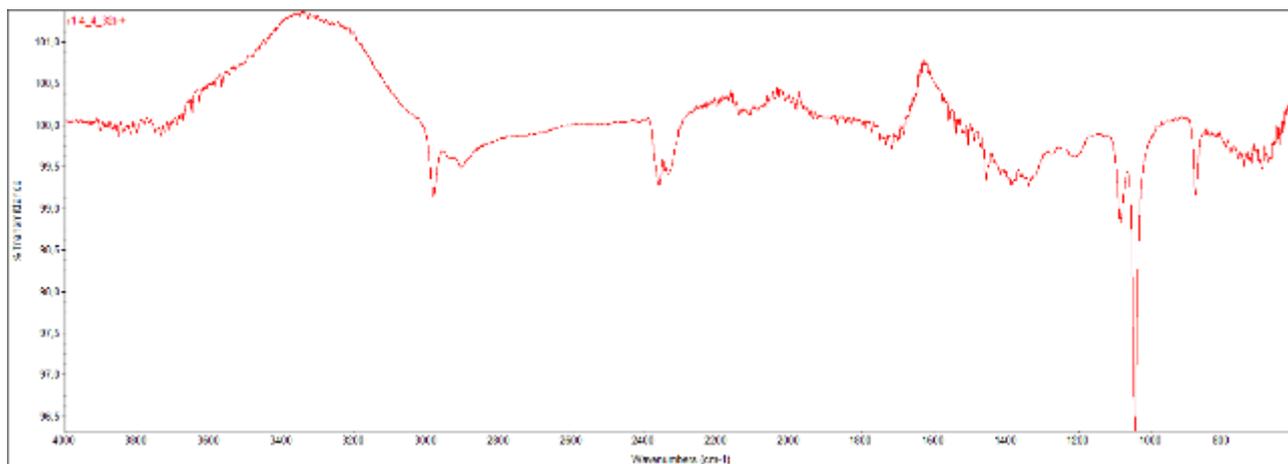


Рис. 3.1 FTIR екстракту *R. chinensis*, pH=4

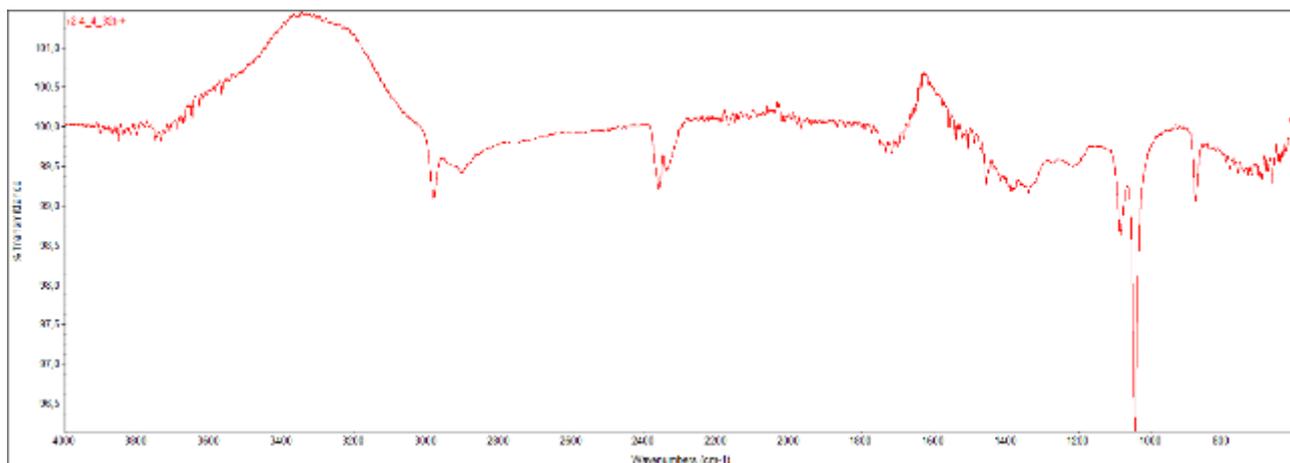


Рис. 3.2 FTIR экстракту *R. hybrida*, pH=4

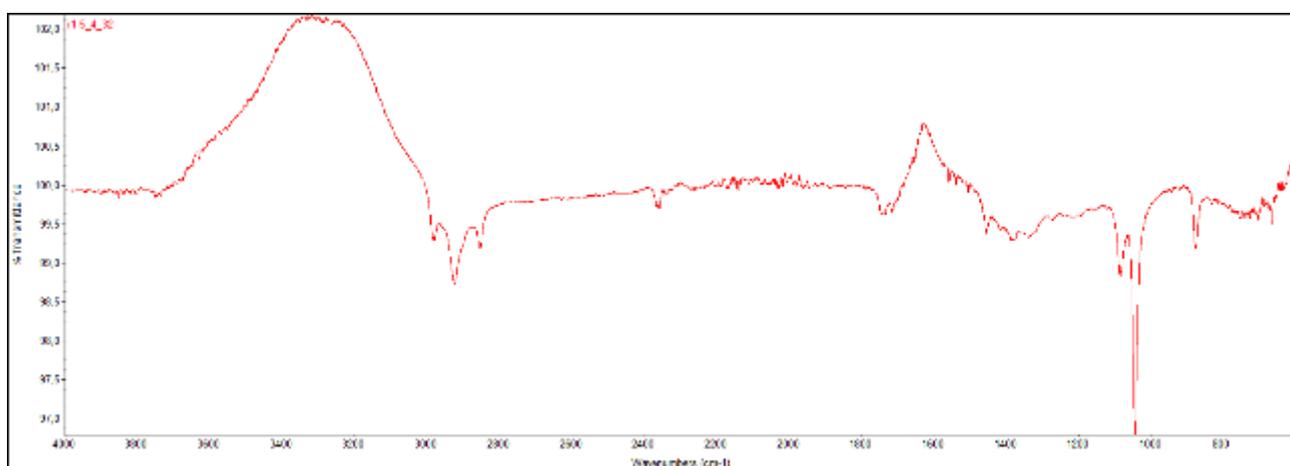


Рис. 3.3 FTIR экстракту *R. chinensis*, pH=5

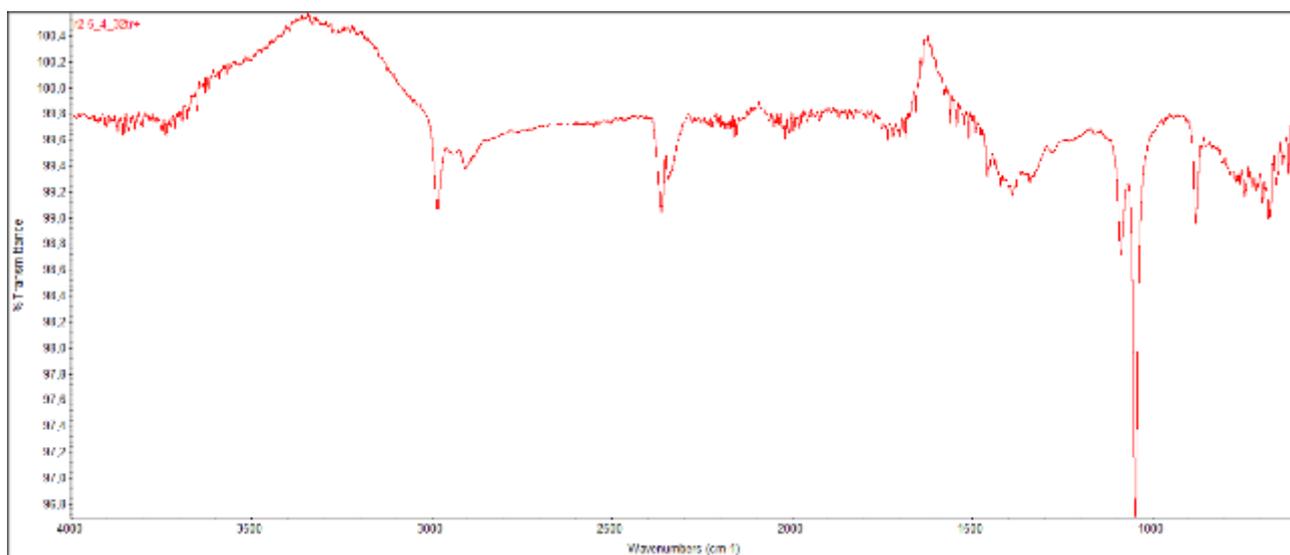


Рис. 3.4 FTIR экстракту *R. hybrida*, pH=5

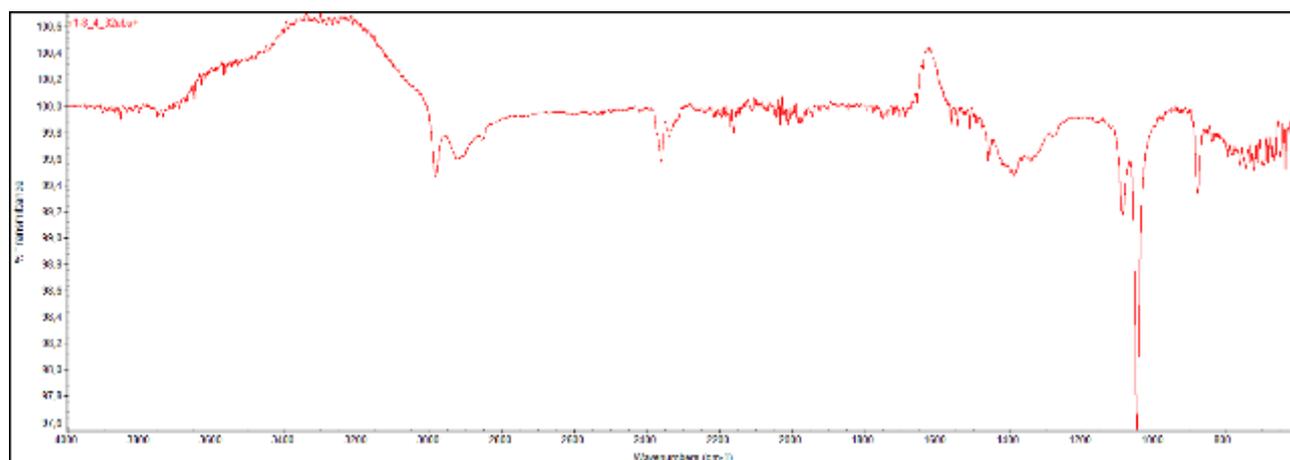


Рис. 3.5 FTIR экстракту *R. chinensis*, pH=8

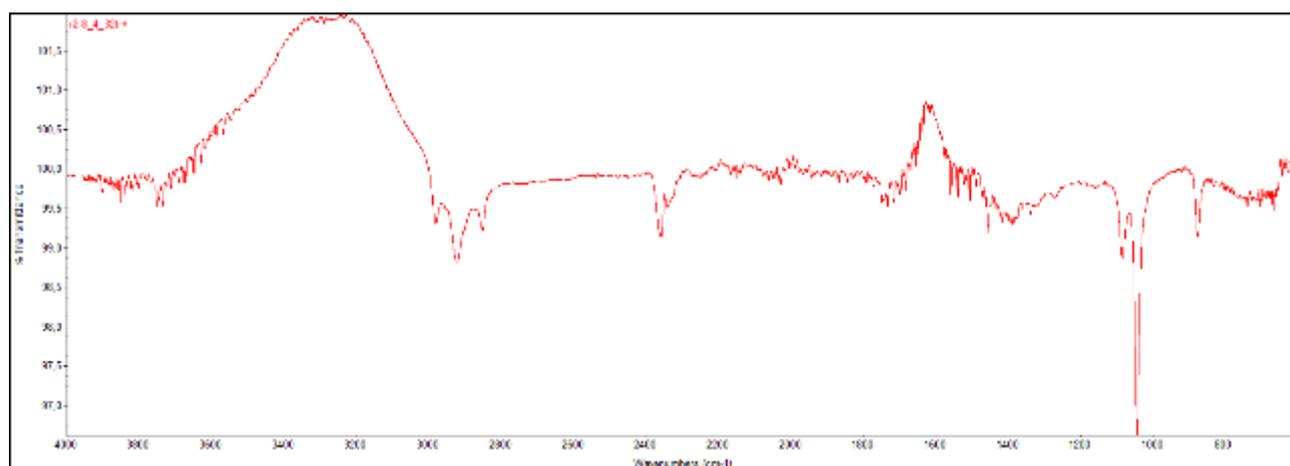


Рис. 3.6 FTIR экстракту *R. hybrida*, pH=8

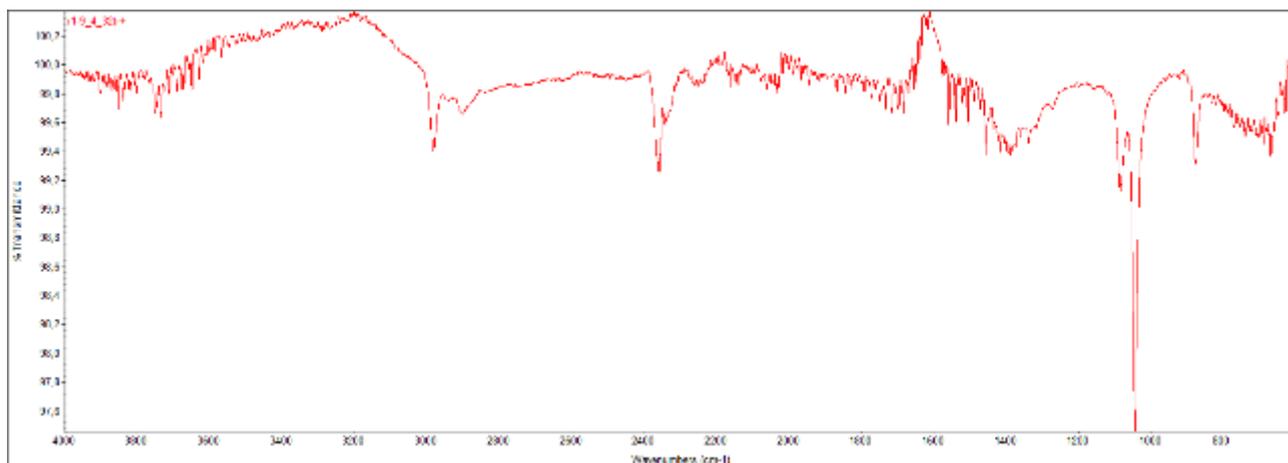


Рис. 3.7 FTIR екстракту *R. chinensis*, pH=9

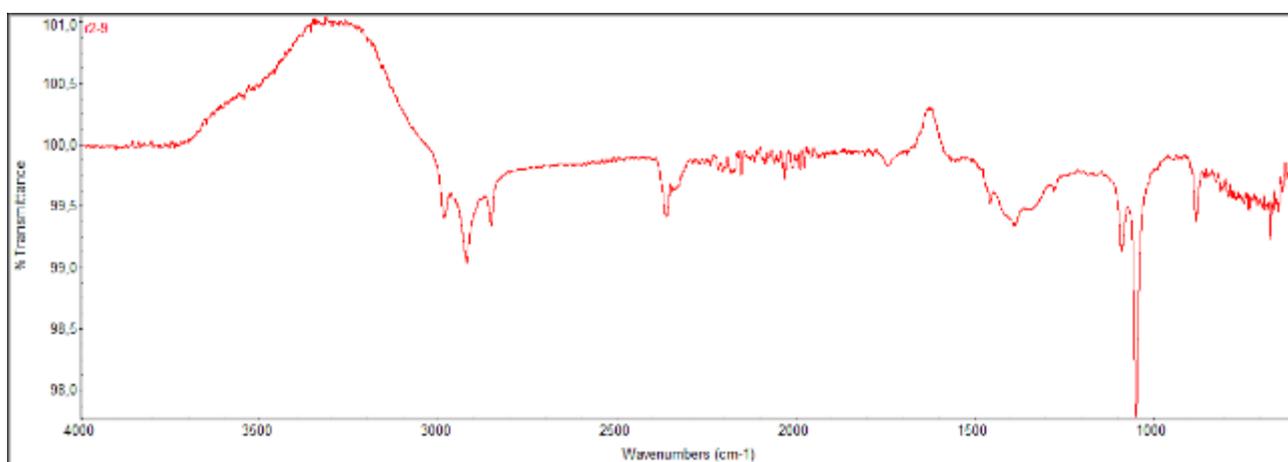


Рис. 3.8 FTIR екстракту *R. hybrida*, pH=9

3.3 Аналіз наночасток синтезованих з екстракту *R. chinensis* за допомогою трансмісійної мікроскопії

Дослідження AgNPs методом просвічуючої мікроскопії, отриманих з використанням екстрактів *R. chinensis*. Для виконання даного експерименту, на основі попереднього дослідження, була обрана стала суміш водного розчину солі AgNO_3 , яку додавали до екстрактів.

У варіанті екстракту зі значенням pH 4 було синтезовано сферичні наночастинки з розмірами 5-11 нм. При використанні реакційної суміші з pH 5 отримали наночастинки прямокутної та сферичної форм, розміром 11-25 нм. Варіант

з рН 8 містив наночастинки сферичної форми з розмірністю наночастинок 4-12 нм. У випадку використання екстракту з рН 9 отримали сферичні НЧ 7-50 нм. Середнє значення розмірів НЧ становило 6,85 нм, 19,02 нм, 8,14 нм, 12,21 нм відповідно. Отже, найменші AgNPs утворювались при показнику рН=9, а найбільші рН=5

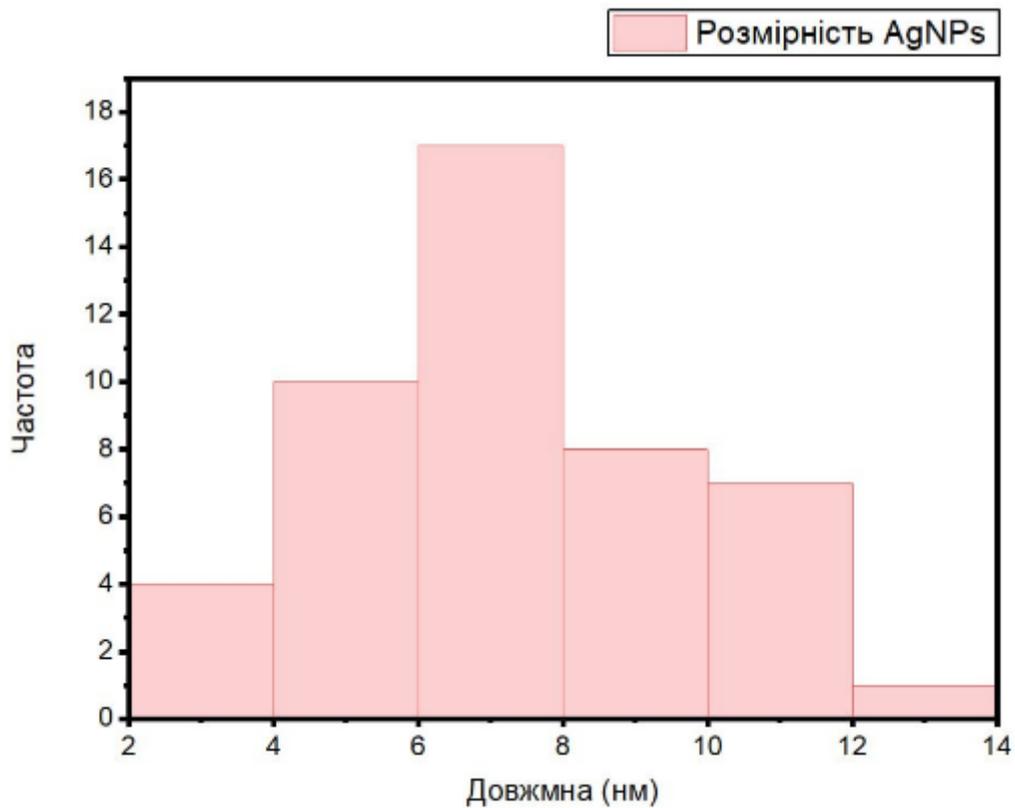


Рис. 3.9 Розподіл за розміром AgNPs рН=4

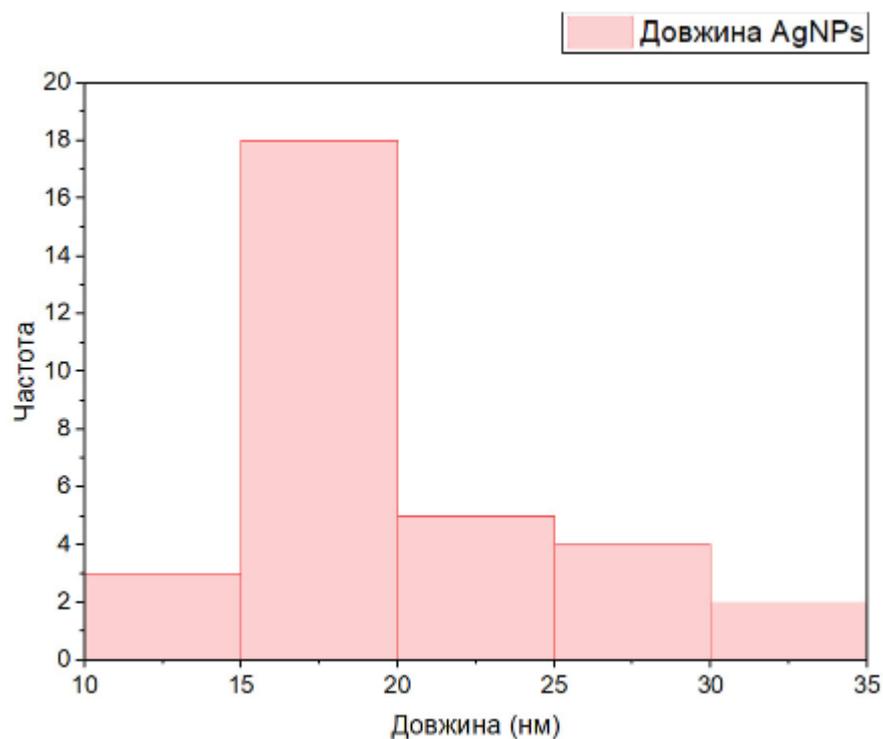


Рис. 3.10 Розподіл за розміром AgNPs рН=5

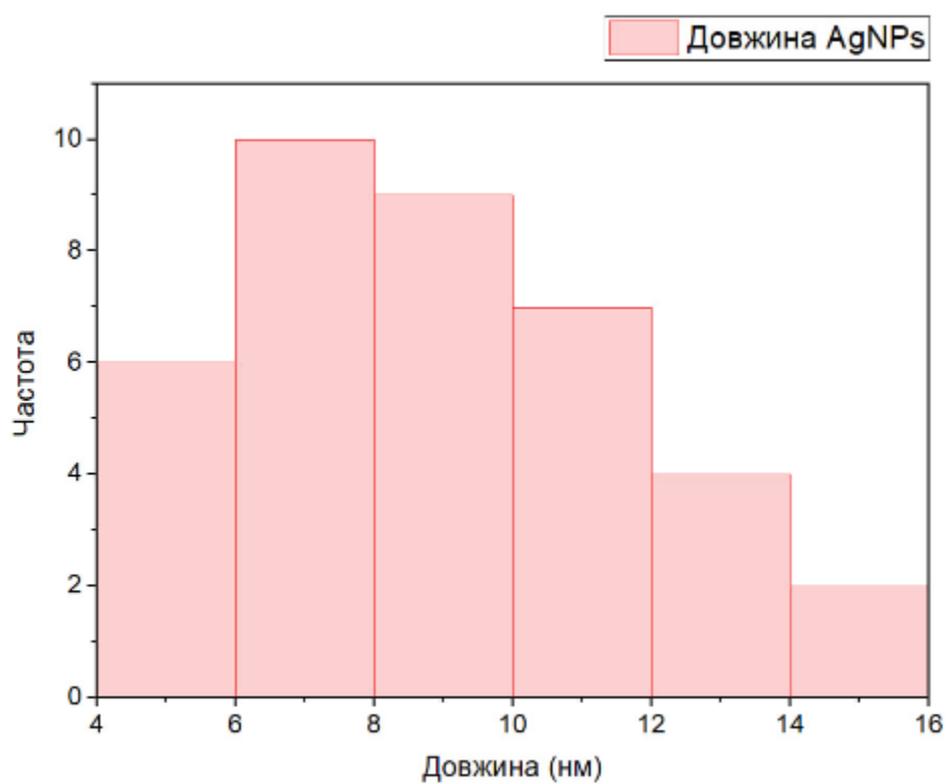


Рис. 3.10 Розподіл за розміром AgNPs рН=8

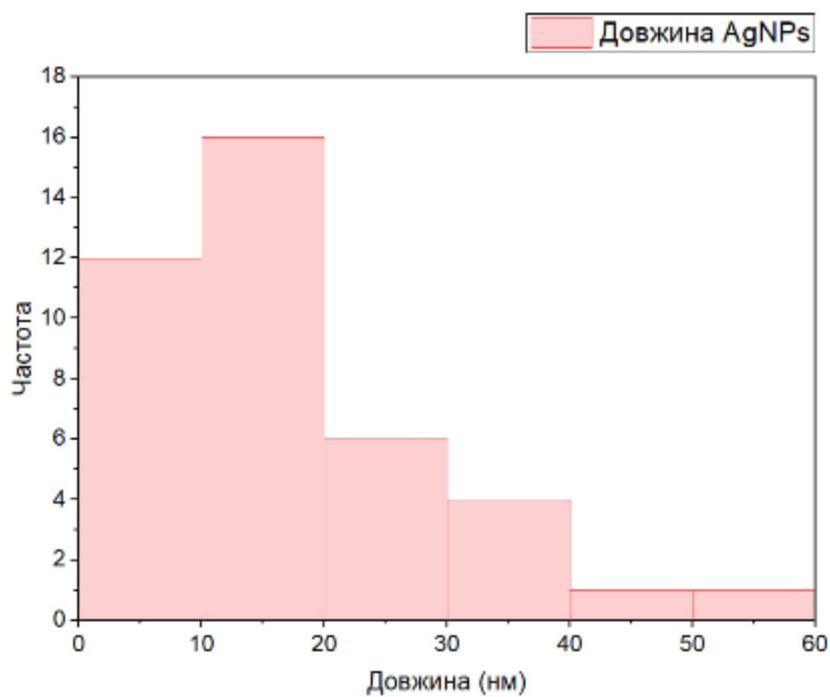


Рис. 3.11 Розподіл за розміром AgNPs pH=9

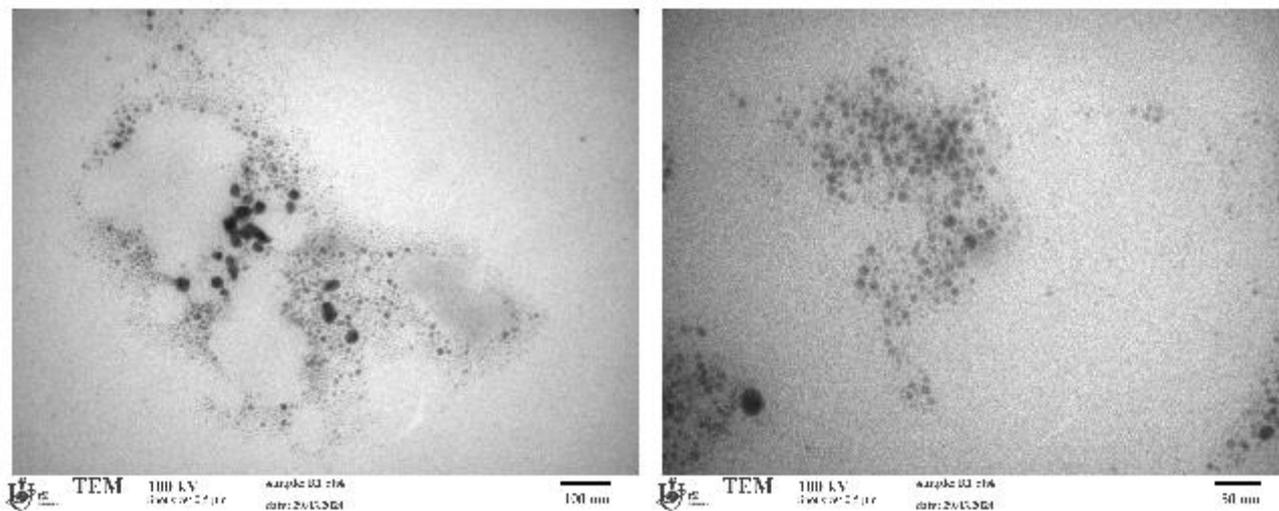


Рис. 3.12 TEM екстракту *R.chinensis*, pH=4

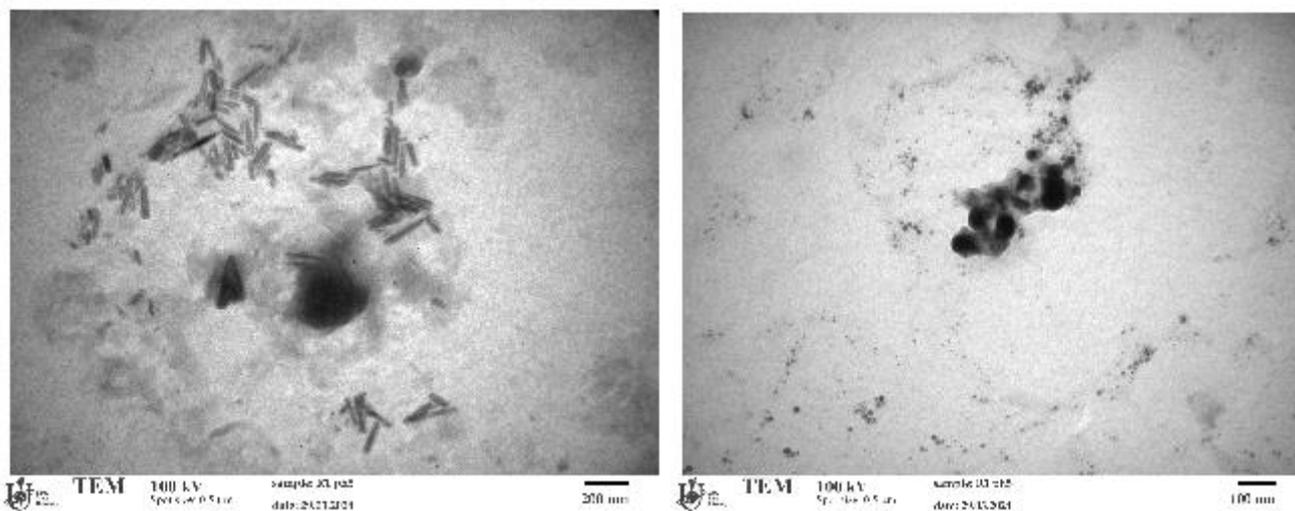


Рис. 3.13 TEM екстракту *R. chinensis*, pH=5

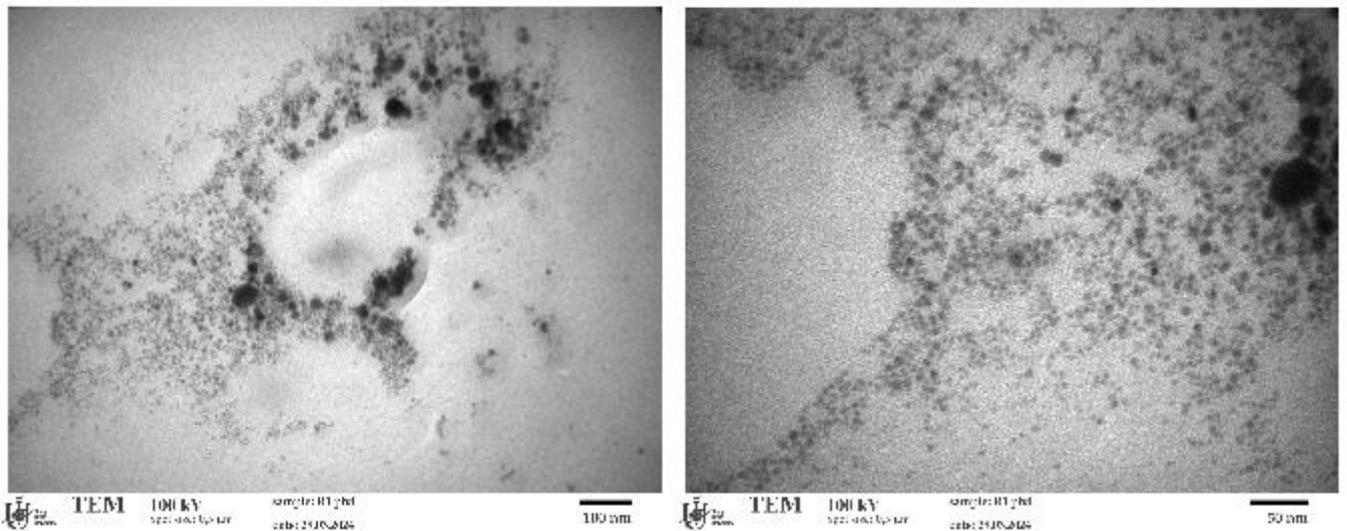


Рис. 3.14 TEM екстракту *R. chinensis*, pH=8

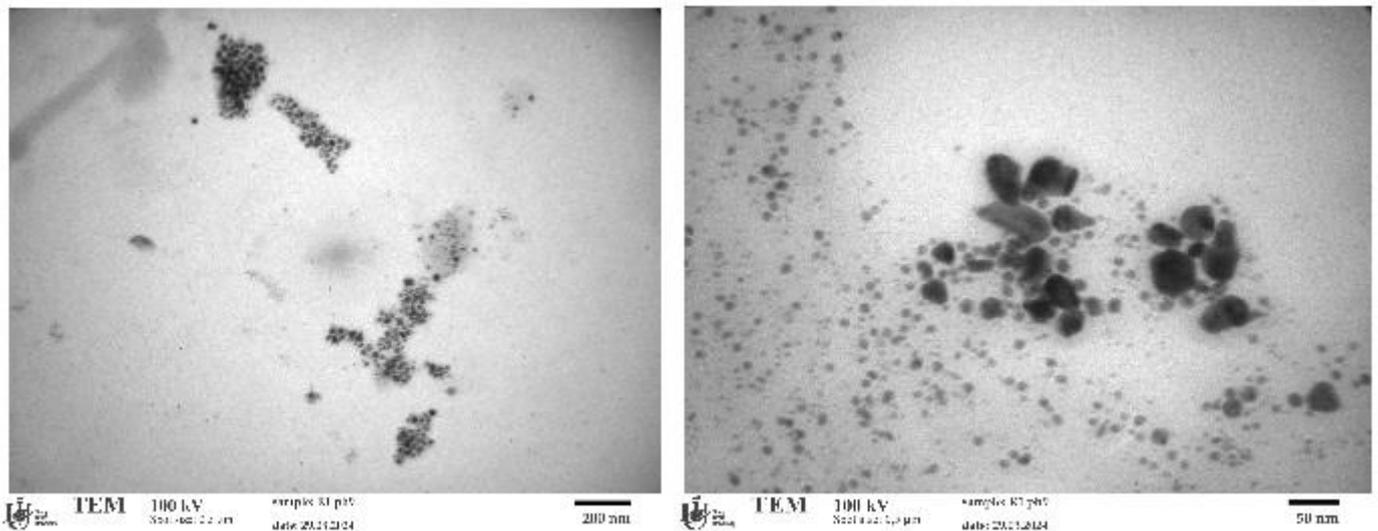


Рис. 3.15 TEM екстракту *R. chinensis*, pH=9

3.4 Аналіз наночасток синтезованих з екстракту *R. hybrida* за допомогою трансмісійної мікроскопії

Дослідження AgNPs методом просвічуючої мікроскопії, отриманих з використанням екстрактів *R. hybrida*. Для виконання даного експерименту, на основі попереднього дослідження, була обрана стала суміш водного розчину солі AgNO_3 , яку додавали до екстрактів.

У варіанті екстракту зі значенням pH 4 було синтезовано сферичні та кубічні наночастинки з розмірами 6-26 нм. При використанні реакційної суміші з pH 5 отримали наночастинки сферичної форми, розміром 6-20 нм. Варіант з pH 8 містив

наночастинки сферичної форми з розмірністю наночастинок 13-35 нм. У випадку використання екстракту з рН 9 отримали сферичні НЧ 11-45 нм. Середнє значення розмірів НЧ становило 17,35 нм, 11,82 нм, 22,03 нм, 21,59 нм відповідно. Отже, найменші AgNPs утворювались при показнику рН=5, а найбільші рН=9.

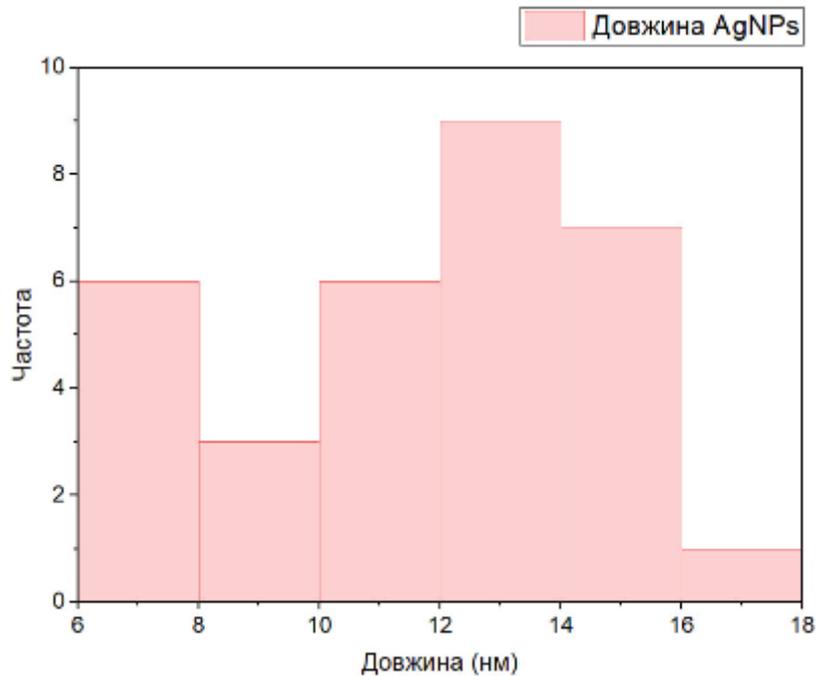


Рис. 3.16 Розподіл за розміром AgNPs рН=4

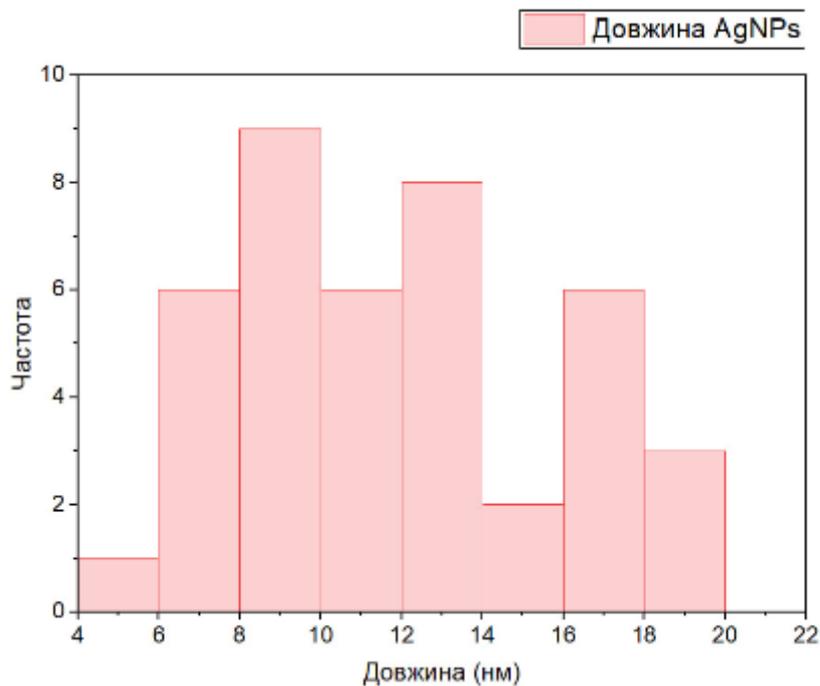


Рис. 3.17 Розподіл за розміром AgNPs рН=5

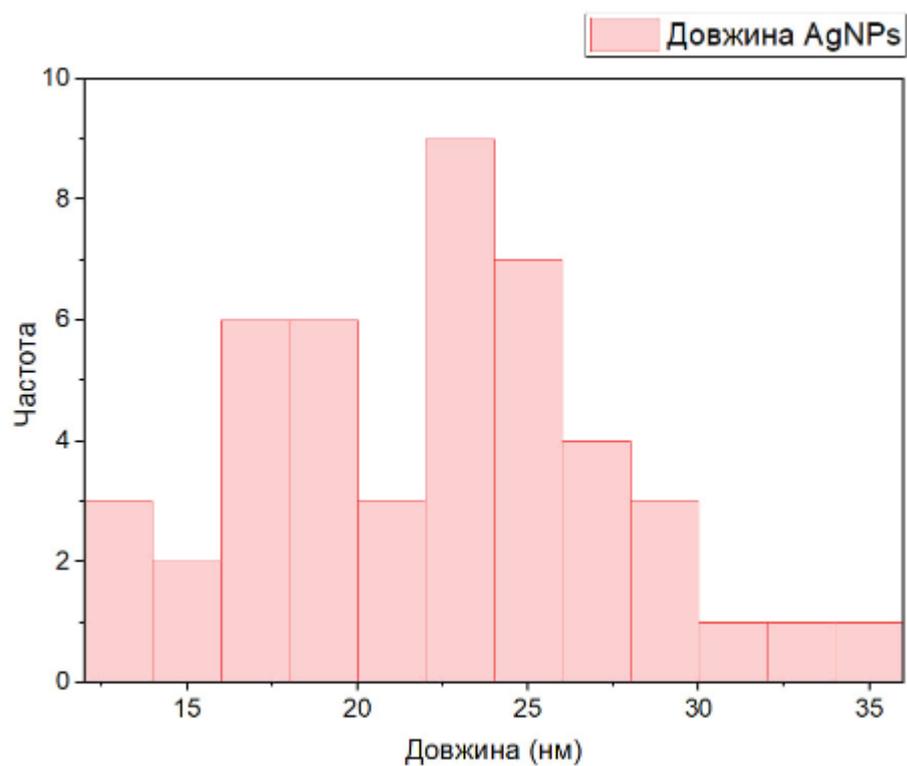


Рис. 3.18 Розподіл за розміром AgNPs рН=8

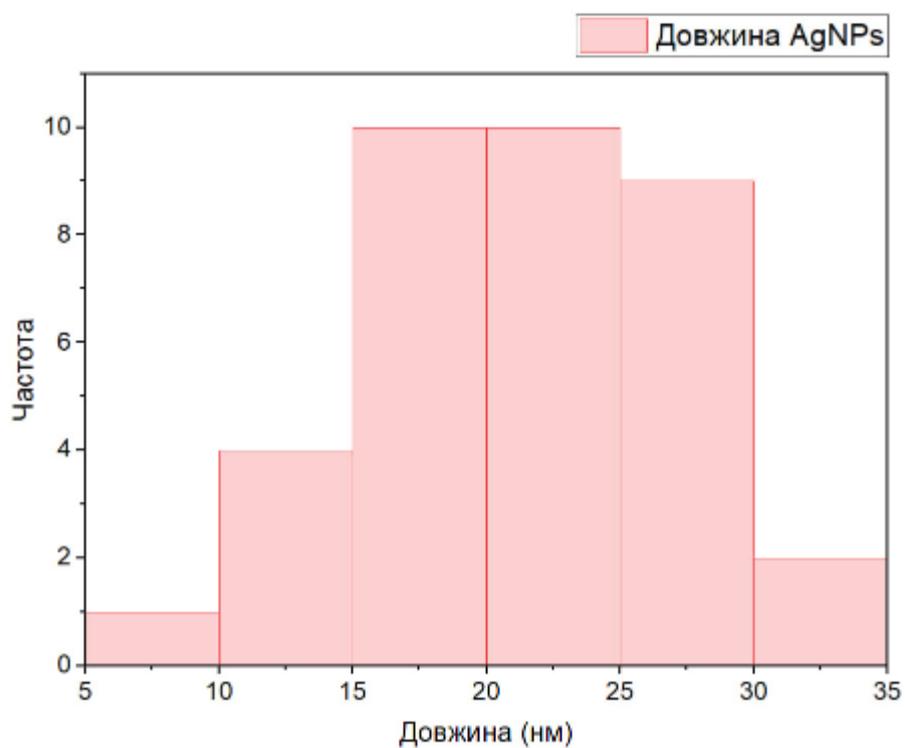


Рис. 3.19 Розподіл за розміром AgNPs pH=8

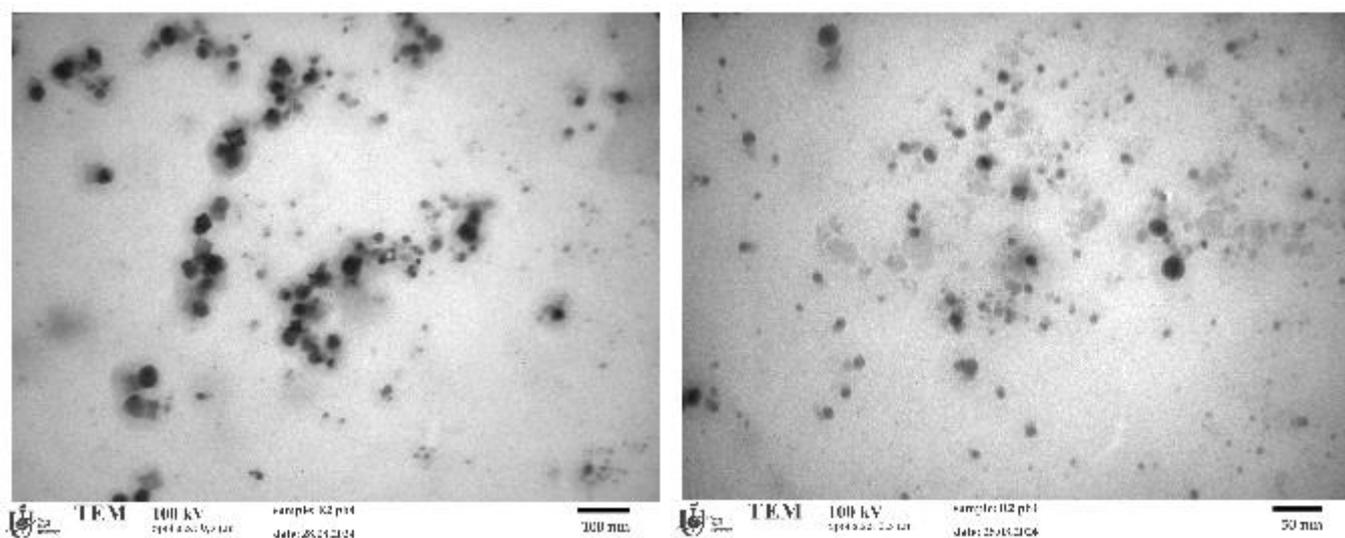


Рис. 3.20 TEMекстракту *R. hybrida*, pH=4

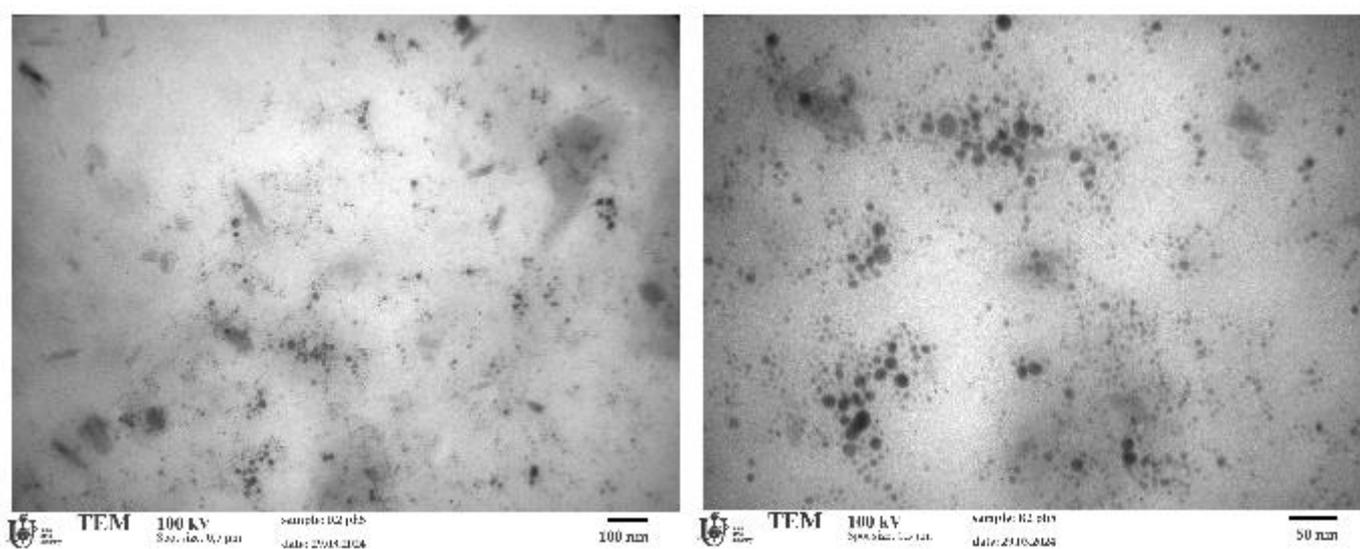


Рис. 3.21 TEMекстракту *R. hybrida*, pH=5

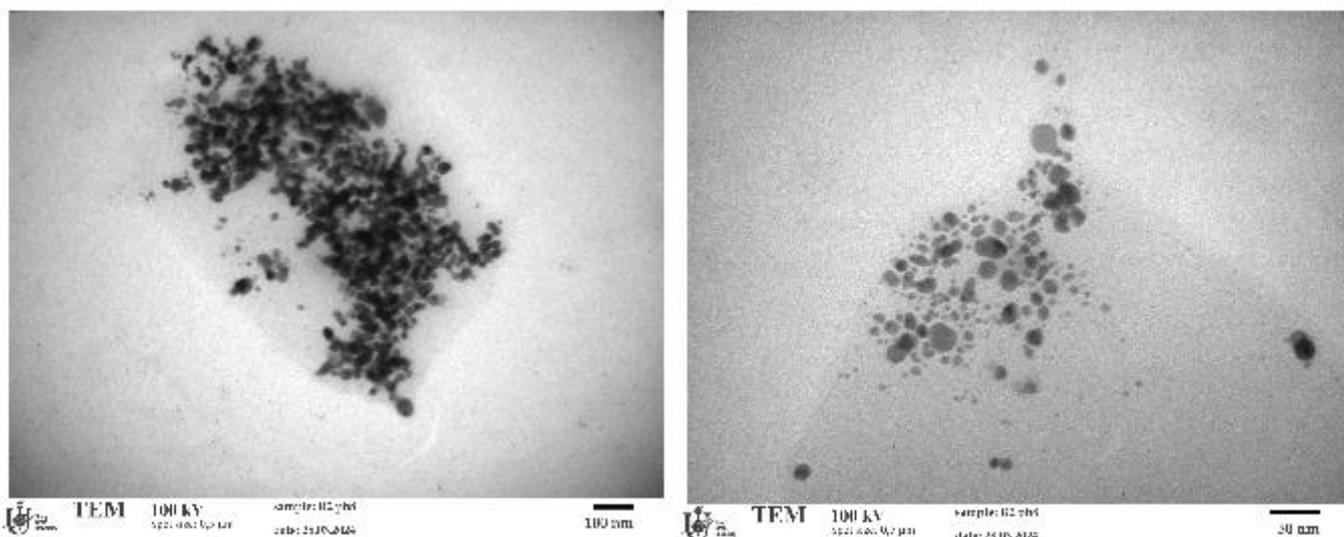


Рис. 3.22 TEMекстракту *R. hybrida*,
pH=8

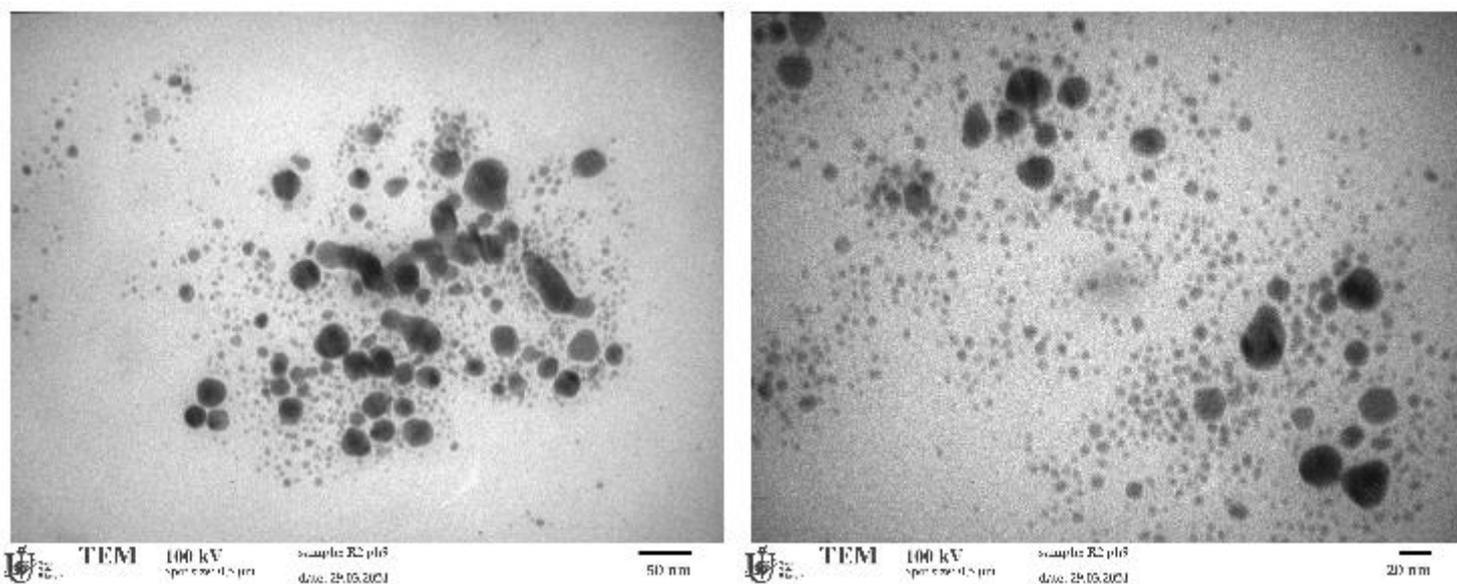


Рис. 3.23 TEMекстракту *R. hybrida*, pH=9

3.5 Аналіз AgNPs за допомогою методики EDX

Енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія (EDX), метод, який використовується для аналізу хімічного складу матеріалів.. Вона дозволяє визначити

елементний склад зразка та кількість кожного елемента в ньому. При дослідженні зразків екстрактів, було визначено піки при 3 keV, що відповідає атомам срібла.

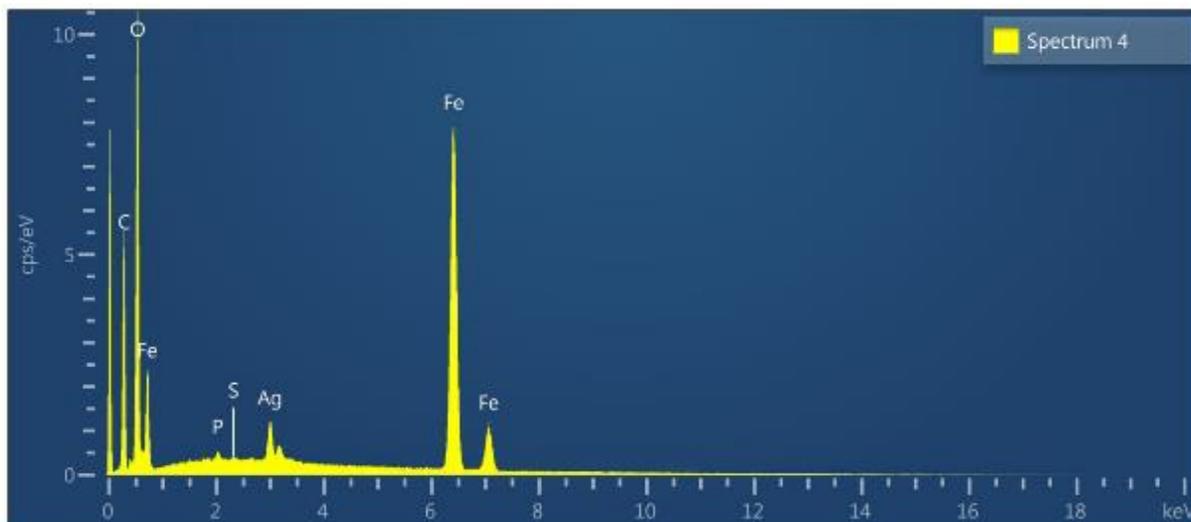


Рис. 3.25 EDX екстракту *R. chinensis*, pH=5

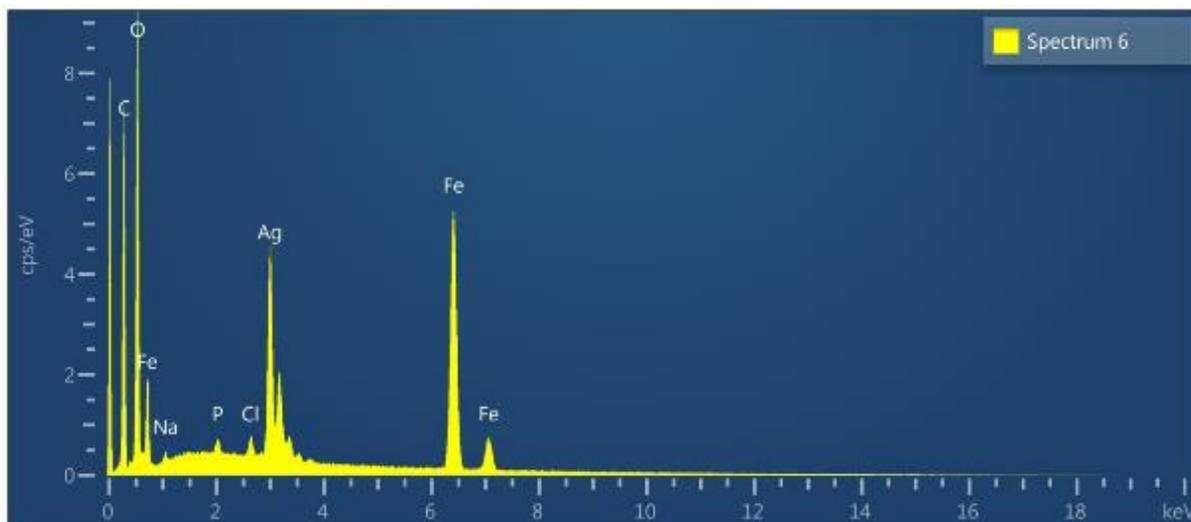


Рис. 3.25 EDX екстракту *R. chinensis*, pH=5

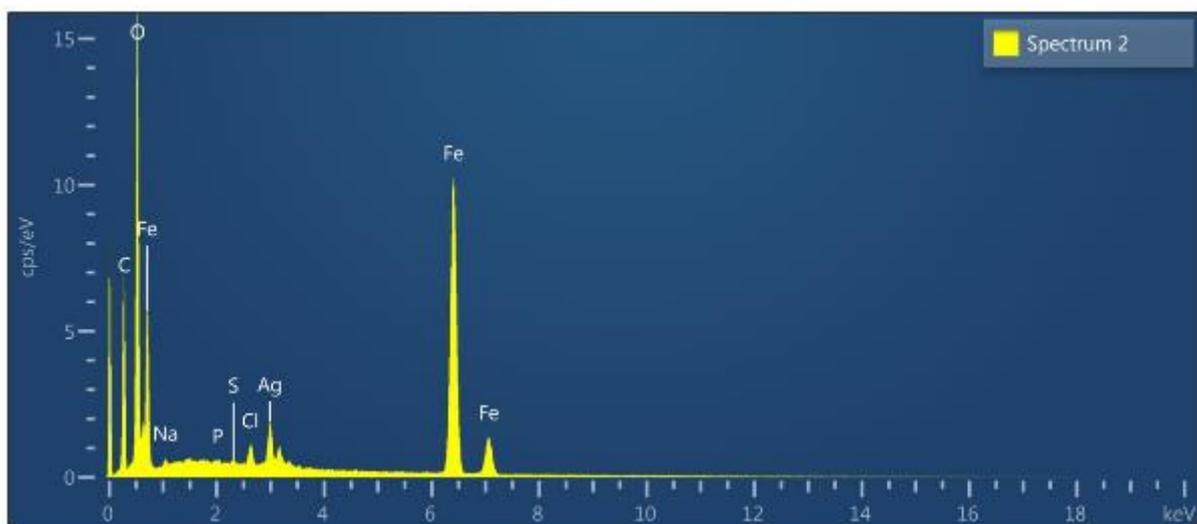


Рис. 3.26 EDX экстракту *R. chinensis*, pH=8

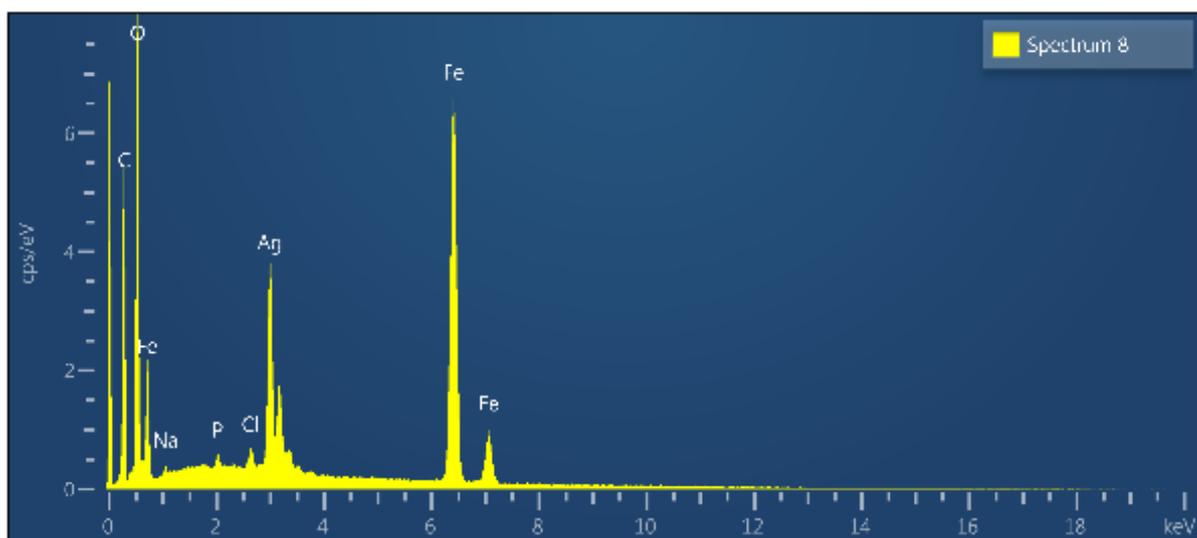


Рис. 3.27 EDX экстракту *R. chinensis*, pH=9

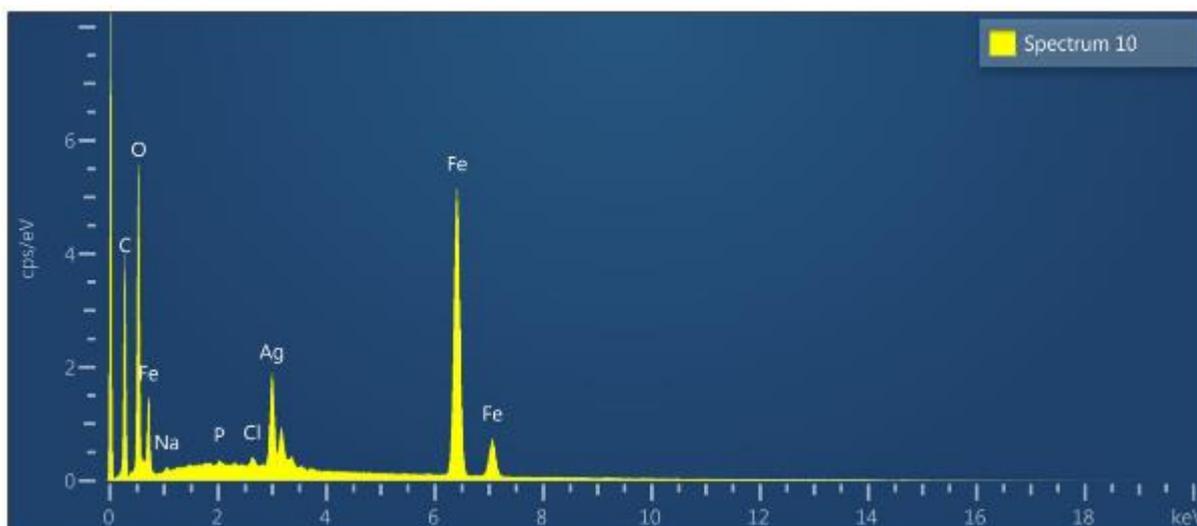


Рис. 3.28 EDX экстракту *R. hybrida*, pH=4

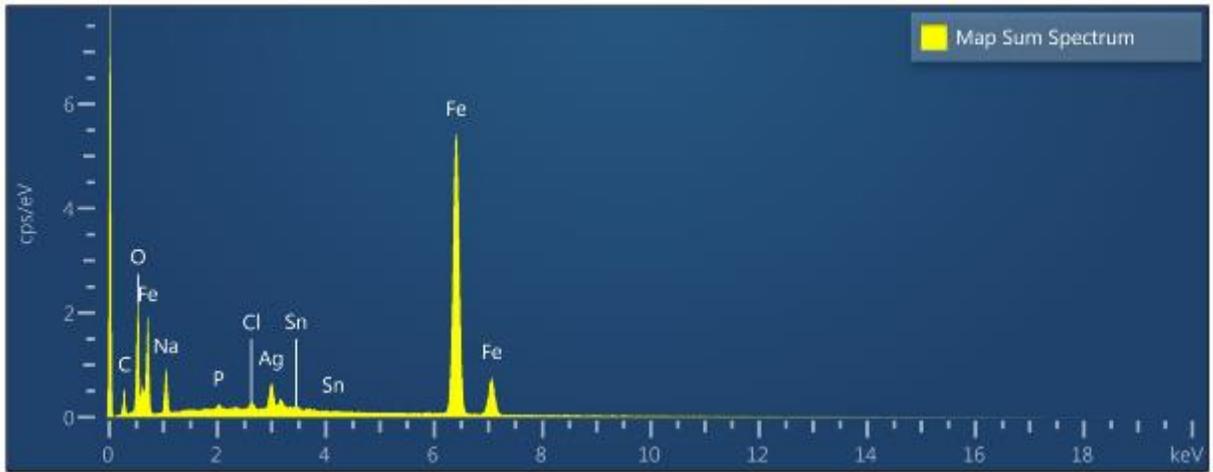


Рис. 3.29 EDX экстракту *R. hybrida*, pH=5

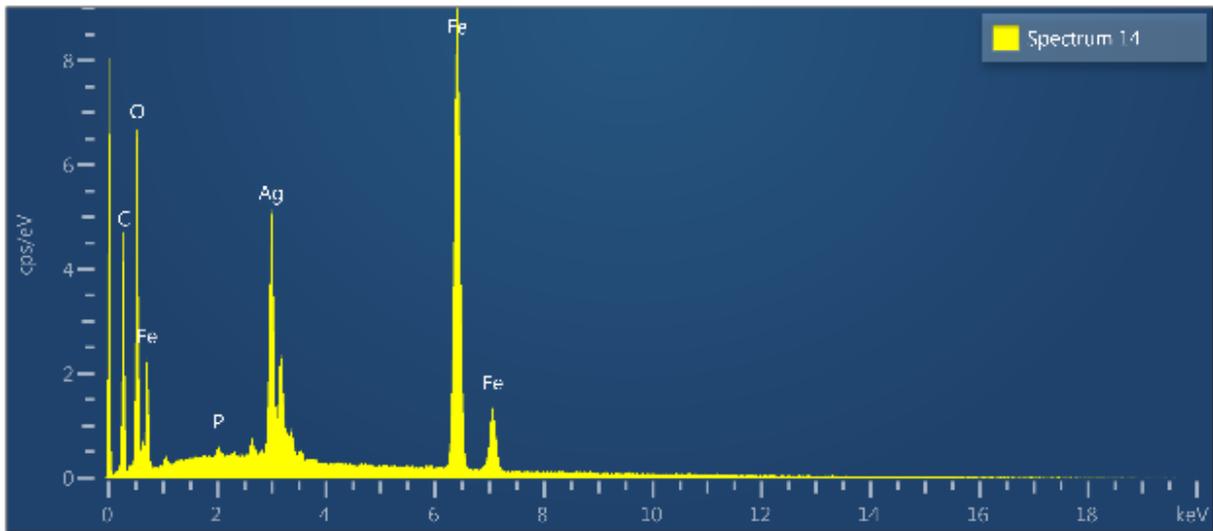


Рис. 3.30 EDX экстракту *R. hybrida*, pH=8

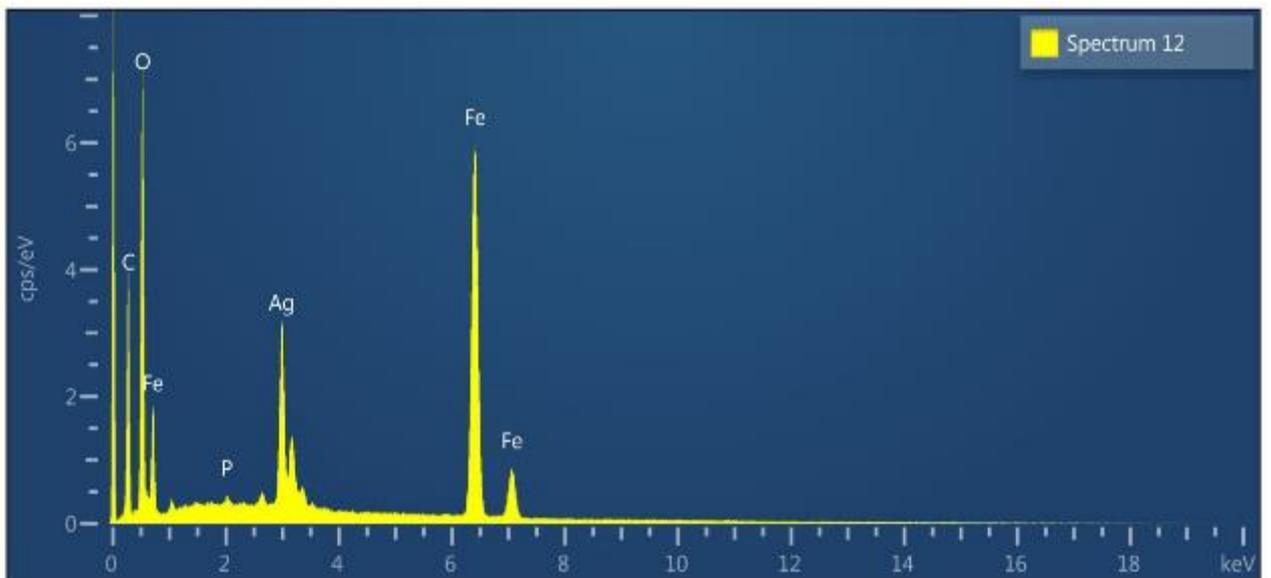


Рис. 3.31 EDX экстракту *R. hybrida*, pH=8

ВИСНОВКИ

Отже, за даної методики ми відібрали пелюстки, перед початком експерименту їх необхідно промити дистильованою водою. Потім пелюстки сушили при 37 °С протягом 3 днів. Висушені пелюстки подрібнювали до порошкоподібного стану, розчиняли в 70% етиловому спирті у співвідношенні 1:10 і витримували 3 доби в темряві при кімнатній температурі. Після цього суміш фільтрували за допомогою фільтрувального паперу.

Для ініціації синтезу AgNPs до екстракту додавали 1 мМ водний розчин AgNO₃, до якого додавали до 5 мл етанольного екстракту пелюсток і 45 мл 1 мМ водного розчину AgNO₃. Значення рН змінювали 0,1 М розчином гідроксиду натрію та 0,1 М соляною кислотою до рН 4, 5, 8, 9. Ми центрифугували зразок протягом 15 хвилин при 15000 об/хв, щоб відокремити наночастинки від домішок. Супернатант, що утворився у верхній частині суміші, відокремлювали, і додавали нову дистильовану воду. Процедура очищення повторювали двічі.

Було продемонстровано, що синтез на основі екстрактів рослин *R. chinensis* та *hybrida* може використовуватися в якості системи для синтезу НЧ. При синтезі за допомогою екстрактів *R. chinensis* ми отримали AgNPs меншого розміру, а *R. hybrida* більшого при всіх значеннях рН. Досліджуючи екстракти рослин за допомогою FTIR, було продемонстровано сильні пікові значення хімічних зв'язків, які приймають участь у реакціях відновлення попередника AgNPs. Перевагами методу є його простота у реалізації та відсутність необхідності у специфічних умовах та великій затраті енергії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. A facile magnesium-containing calcium carbonate biomaterial as potential bone graft / F. He et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015. Vol. 136. P. 845 – 852. URL: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.10.027>.
2. A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications / T. Mustapha et al. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022. Vol. 19, no. 2. P. 674. URL: <https://doi.org/10.3390/ijerph19020674>.
3. Bacteria-mediated green synthesis of silver nanoparticles and their antifungal potentials against *Aspergillus flavus* / A. A. Bharose et al. *PLOS ONE*. 2024. Vol. 19, no. 3. P. e0297870. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297870>.
4. Biological Synthesis of Nanoparticles and Their Applications in Sustainable Agriculture Production / N. Khan et al. *Natural Science*. 2022. Vol. 14, no. 06. P. 226 – 234. URL: <https://doi.org/10.4236/ns.2022.146022>.
5. Biosynthesis of Nanoparticles from Various Biological Sources and Its Biomedical Applications / G. Karunakaran et al. *Molecules*. 2023. Vol. 28, no. 11. P. 4527. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules28114527>.
6. Biosynthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts and Essential Oils / S. Antunes Filho et al. *Molecules*. 2023. Vol. 28, no. 7. P. 3060. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules28073060>.
7. Bystrzejewska-Piotrowska G., Golimowski J., Urban P. L. Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Management*. 2009. Vol. 29, no. 9. P. 2587 – 2595. URL: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.04.001>.
8. Chan Y. S., Mat Don M. Biosynthesis and structural characterization of Ag nanoparticles from white rot fungi. *Materials Science and Engineering: C*. 2013. Vol. 33, no. 1. P. 282 – 288. URL: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.08.041>.

9. Continuous Hydrothermal Synthesis of Inorganic Nanoparticles: Applications and Future Directions / J. A. Darr et al. *Chemical Reviews*. 2017. Vol. 117, no. 17. P. 11125 – 11238. URL: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00417>.
10. Environmental impacts of nanomaterials / E. Kabir et al. *Journal of Environmental Management*. 2018. Vol. 225. P. 261 – 271. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.087>.
11. Flame aerosol synthesis of nanostructured materials and functional devices: Processing, modeling, and diagnostics / S. Li et al. *Progress in Energy and Combustion Science*. 2016. Vol. 55. P. 1 – 59. URL: <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2016.04.002>.
12. Fungi as an efficient mycosystem for the synthesis of metal nanoparticles: progress and key aspects of research / A. Yadav et al. *Biotechnology Letters*. 2015. Vol. 37, no. 11. P. 2099 – 2120. URL: <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1901-6>.
13. Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications / I. Hammami et al. *Journal of King Saud University - Science*. 2021. Vol. 33, no. 7. P. 101560. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101560>).
14. Hayashi H., Hakuta Y. Hydrothermal Synthesis of Metal Oxide Nanoparticles in Supercritical Water. *Materials*. 2010. Vol. 3, no. 7. P. 3794 – 3817. URL: <https://doi.org/10.3390/ma3073794>.
15. Hulkoti N. I., Taranath T. C. Biosynthesis of nanoparticles using microbes – A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014. Vol. 121. P. 474 – 483. URL: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.027>.
16. Ju-Nam Y., Lead J. R. Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of The Total Environment*. 2008. Vol. 400, no. 1-3. P. 396 – 414. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.042>.
17. Lee K.-M., Park S.-T., Lee D.-J. Nanogold synthesis by inert gas condensation for immuno-chemistry probes. *Journal of Alloys and Compounds*. 2005. Vol. 390, no. 1-2. P. 297 – 300. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2004.08.047>.

18. Microbial Nano-Factories: Synthesis and Biomedical Applications / S. Ghosh et al. *Frontiers in Chemistry*. 2021. Vol. 9. URL: <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.626834>.
19. Microemulsion Synthesis of Superparamagnetic Nanoparticles for Bioapplications / M. Salvador et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, no. 1. P. 427. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms22010427>.
20. Nanomaterial by Sol-Gel Method: Synthesis and Application / D. Bokov et al. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2021. Vol. 2021. P. 1 – 21. URL: <https://doi.org/10.1155/2021/5102014>.
21. Nanoparticles as new tools for inhibition of cancer angiogenesis / N. Hashemi Goradel et al. *Journal of Cellular Physiology*. 2017. Vol. 233, no. 4. P. 2902 – 2910. URL: <https://doi.org/10.1002/jcp.26029>.
22. *Nanotechnologies in Food and Agriculture* / ed. by M. Rai et al. Cham : Springer International Publishing, 2015. URL: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14024-7> .
23. Pantidos N. Biological Synthesis of Metallic Nanoparticles by Bacteria, Fungi and Plants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. 2014. Vol. 05, no. 05. URL: <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000233>.
24. Plant - mediated synthesis of nanoparticles and their antimicrobial activity against phytopathogens / J. A. Hernández - Díaz et al. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2020. URL: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10767>.
25. Plant-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles: Their Characteristic Properties and Therapeutic Applications / I.-M. Chung et al. *Nanoscale Research Letters*. 2016. Vol. 11, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1257-4>.
26. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches / X.-F. Zhang et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17, no. 9. P. 1534. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>.

27. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety / L. Xu et al. *Theranostics*. 2020. Vol. 10, no. 20. P. 8996 – 9031. URL: <https://doi.org/10.7150/thno.45413>.
28. Sokolova V., Epple M. Biological and Medical Applications of Calcium Phosphate Nanoparticles. *Chemistry – A European Journal*. 2021. Vol. 27, no. 27. P. 7471 – 7488. URL: <https://doi.org/10.1002/chem.202005257>.
29. Studies of the growth parameters for silver nanoparticle synthesis by inert gas condensation / M. Raffi et al. *Journal of Materials Research*. 2007. Vol. 22, no. 12. P. 3378 – 3384. URL: <https://doi.org/10.1557/jmr.2007.0420>.
30. Synthesis of Nanoparticles by Laser Ablation: A Review / M. Kim et al. *KONA Powder and Particle Journal*. 2017. Vol. 34. P. 80 – 90. URL: <https://doi.org/10.14356/kona.2017009>.