

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ БЕЗПЕЧНОСТІ НАНОЧАСТОК МЕТАЛІВ НА МОДЕЛІ ІЗОЛЬОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ КЛІТИН РОДУ *Salmonella*

Романько М.Е.

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», м. Харків*

Отримані результати досліджень основних фізіолого-біохімічних маркерів безпечності наночастинок Ауруму і Аргентуму у певному діапазоні концентрацій на моделі клітин *S. Dublin* штаму № 12, *S. Typhimurium* штаму № 16 та *S. Enteritidis* штамів № 34 і М та їх мембранних фракцій вказують на відсутність токсичного впливу наночастинок обох металів щодо стабільності біологічного потенціалу прокаріотичних клітин промислово значимих штамів. Так, за умов контактної взаємодії з дослідними наночастиками металів посилення функціональної активності клітин *Salmonella* дослідних штамів супроводжувалось значною стимуляцією активності АТФ-ази та ендогенного дихання в межах (20,8 – 51,7) % та (14,1 – 32,3) % ($P < 0,05$), та вказує на генерацію величини трансмембранного потенціалу клітин бактерій за рахунок енергетичних ресурсів.

Ключові слова: активність АТФ-ази, дихальна активність, клітина, маркери, мембранні фракції, наночастки металів, проникність клітинної оболонки, штам.

Physiological & biochemical markers of safety of metal nanoparticles on the model of isolated bacterial cells of *Salmonella* genus. Roman'ko M.E. – Results of investigation of the main physiological&biochemical markers of Aurum and Argentum nanoparticles in the full spectrum of concentrations on the model of cells of *S. Dublin* strain No 12, *S. typhimurium* strain No 16 and *S. Enteritidis* strains No 34 and M and their membrane fractions indicate the absence of toxic effect of nanoparticles of the both metals on stability of biological potential of procariotic cells of commercial strains. Thus, under the conditions of contact interaction with experimental nanoparticles of metals, amplification of functional activity of *Salmonella* cells of experimental strains was accompanied with significant stimulation of activity of ATF-ase and endogenic respiration in the range 20.8 – 51.7 % and 14.1 – 32.3 % ($p < 0.05$) and indicates the generation of the value of transmembrane potential of bacteria cells at the expense of energy resources.

Key words: ATF-ase activity, respiratory activity, cell, markers, membrane fractions, metal nanoparticles, cell membrane penetrability, strain.

ВСТУП

Вдосконалення існуючих технологічних процесів при виробництві засобів захисту тварин і людей, спрямованих на підвищення ефективності кінцевого продукту (специфічності, імуногенності, посилення імунної пам'яті тощо), залишається пріоритетним напрямком сучасної біотехнології. Одним із можливих шляхів вирішення цих проблемних питань є використання здобутків відносно нового інноваційного сегменту наукового пошуку – нанотехнологій.

Широке впровадження наноматеріалів органічної та неорганічної природи як прототипів субстанцій нових препаратів, а отже і більш тісний контакт з ними живих організмів, супроводжується відсутністю ґрунтовних знань про можливий токсичний вплив наноматеріалів. Питання біобезпечності наноматеріалів неоднозначне, багатогранне та вимагає комплексного науково-обґрунтованого підходу. Дослідження потенційних ризиків використання наноматеріалів може бути адекватним за використання ключових системних характеристик біологічних систем різного рівня організації (фізіологічних, біохімічних, імунологічних, генетичних тощо), чутливих до токсичної дії. Такі характеристики вважають системними біомаркерами.

Мета досліджень – експериментальне обґрунтування можливості безпечного використання наночасток металів у біотехнологіях отримання біомаси мікроорганізмів на моделі періодичних культур клітин сальмонел виробничих штамів за фізіолого-біохімічними маркерами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досягнення мети – визначення можливості використання наночасток металів у біотехнологіях підтримання і зберігання біомаси штамів сальмонел, проводили з використанням виробничих штамів: *Salmonella Dublin* № 12, *Salmonella Enteritidis* штаму № 34 і штаму М та *Salmonella Typhimurium* штаму № 16. Для культивування бактерій використовували стандартизоване рідке поживне середовище – м'ясопептонний бульон (МПБ), а також наночастки Ауруму (NPAu) та наночастки Аргентуму (NPAg) у діапазоні концентрацій.

Використані в дослідженнях наночастки металів були синтезовані в Інституті біоколоїдної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН України (м. Київ) та охарактеризовані за фізико-хімічними параметрами і показниками біобезпечності у попередніх дослідженнях [1 – 3]. Середній розмір наночасток Ауруму та Аргентуму становив ~ 30 нм, а вихідна концентрація – 38,6 і 86,4 мкг/мл за металом відповідно.

З метою вивчення впливу наночасток металів на активність АТФ-ази, дихальну активність та проникність клітинної оболонки біомасу періодичних культур клітин сальмонел дослідних штамів культивували у колбах з стандартизованим середовищем МПБ за температури $(37,0 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$ впродовж 24 год. Після 24 год культивування клітини, що знаходились у стаціонарній фазі росту, осаджували центрифугуванням за 6000 об/хв впродовж 10 хв з подальшим відмиванням від поживного середовища 5 мМ Трис-НСІ буфером (рН 7,5), концентрували та використовували в експериментах.

Ізольовані мембранні фракції бактеріальних клітин сальмонел отримували шляхом обробки суспензії клітин ультразвуком з подальшим диференційним центрифугуванням. Для цього клітини двократно відмивали 5 мМ Трис-НСІ буфером (рН 7,5) від МПБ за центрифугуванням при 6000 об/хв впродовж 10 хв;

осад клітин ресуспендували у середовищі виділення наступного складу: 25 мМ Трис-НСІ, 0,25 М сахароза, 2 мМ ЕДТА (рН 7,4). Суспензію обробляли ультразвуком із охолодженням протягом 3 хв ((6×30) сек) (дезінтегратор УЗДН-1, 22 кГц, сила анодного струму 0,4-0,7 А, резонансні умови). Отриманий диспергат клітин осаджували центрифугуванням за 6000 об/хв впродовж 15 хв. Осад ресуспендували у середовищі зберігання наступного складу: 20 мМ Трис-НСІ, 3 мМ MgCl₂ (рН 7,4) та використовували у подальших експериментах.

Отримані препарати мембранних фракцій бактеріальних клітин кількісно характеризували за вмістом білка, визначеного за методом Лоурі [4]. Як стандартний білок для побудови калібрувальної кривої використовували BSA (бичачий сироватковий альбумін).

Величину питомої H⁺-АТР-ної активності (КФ 3.6.3.6) мембранних фракцій клітин сальмонел реєстрували за накопиченням неорганічного фосфату (Pi), концентрацію якого в середовищі інкубації такого складу (об'єм – 1 мл): 10 мМ трис-НСІ, 3 мМ MgCl₂, 3 мМ АТР (рН 7,5) визначали методом Фіске–Суббароу [5]. Тривалість інкубації – 10 хв. Реакцію оніціювали введенням до середовища інкубації аліквоти мембранної фракції і зупиняли, додаючи 1 мл 10%-го розчину ТХОК. Отримані препарати мембранних фракцій клітин сальмонел дослідних штамів піддавали інкубації з наночастками металів у відповідній концентрації у співвідношенні 3:1 впродовж 3–4 хв, після закінчення чого проводили дослідження питомої H⁺-АТР-ної активності.

Проникність клітинної оболонки бактеріальних клітин сальмонел оцінювали за вмістом у зовнішньому середовищі клітинних метаболітів, які поглинають світло за довжини хвилі 250 – 290 нм із кроком 10 нм [6]. Отриману суспензію відмитих клітин у 5 мМ Трис-НСІ буфері піддавали інкубації з наночастками металів у відповідній концентрації у співвідношенні (9:1) впродовж 40 хв, після закінчення чого клітини осаджували за 6000 об/хв впродовж 15 хв та реєстрували зміни показників оптичної густини (SHIMADZU UV-1800, Японія, кювета 1 см) надосадової рідини на вміст внутрішньоклітинних метаболітів.

Дихальну активність клітин сальмонел реєстрували за допомогою O₂-чутливого електроду (АЖА101.1М, Білорусь). У вимірювальну кювету вносили 4,0 мл 5 мМ Трис-НСІ буферу, потім додавали 0,5 мл суспензії клітин та 0,5 мл наночасток металів у відповідній концентрації. У «контрольну» пробу замість наночасток металів додавали 0,5 мл 5 мМ Трис-НСІ буферу. Реєстрацію показників здійснювали кожні 30 сек, у подальшому обчислюючи середню швидкість поглинання O₂ бактеріальними клітинами за одну хвилину із розрахунку на 1 мг сухої біомаси.

Як «контроль» у дослідженнях використовували суспензію відмитих або препарати ізольованих мембранних фракцій клітин сальмонел дослідних штамів.

У роботі застосовували АТР, трис-гідроксиметиламінометан (Gibco RBL, Шотландія), інші реактиви — вітчизняного виробництва кваліфікації «ч. д. а.».

Обчислено середні значення параметрів не менш ніж 3 повторів у серії з 5 незалежних експериментів. Статистичну обробку результатів проводили згідно з [7] із використанням критерію Стьюдента ($P < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

АТФ-аза є одним з ключових ферментів енергетичного метаболізму клітини, завдяки якому відбувається формування різниці електрохімічних потенціалів на мембрані [8]. Фермент локалізується у плазматичній мембрані таким чином, що його субодиниці експоновані як до цитоплазми, так і до зовнішнього середовища, тому його активність може бути використана як індикатор будь-якого стресорного впливу. Одним з факторів, що спричинює інгібіцію клітинної активності агресивними агентами довкілля, є їх дія на цілісність мембрани та/або активність мембранних ферментів, насамперед – *АТФ*-ази.

Результати визначення рівня активності *АТФ*-ази ізольованих мембранних фракцій клітин *Salmonella* дослідних штамів наведені в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

Активність *АТФ*-ази ізольованих мембранних фракцій клітин *Salmonella* дослідних штамів за контактної взаємодії з наночастками Ауруму із середнім

розміром ~30 нм, $\frac{\text{мкмоль}Pi}{\text{мгб.} \cdot \text{хв}}$ ($M \pm m$; $n=5$)

<i>S. Dublin</i> штам № 12					
«Контроль»	«Дослід»: концентрація NP_{Au} у середовищі інкубації, нг металу/мкг білка				
	241,00	121,00	60,30	30,20	15,10
234,48±0,28	245,71±0,188	249,82±0,90	263,38±0,31	286,81±0,13*	215,47±0,63
<i>S. Typhimurium</i> штам № 16					
43776±433	32,00	16,00	8,00	4,00	2,00
	48955±163	53835±96*	45501±46	49158±43	41703±169
<i>S. Enteritidis</i> штам № 34					
26277±13	88,50	44,30	11,10	0,69	0,17
	34198±85	38177±70*	33037±76	32952±77	37128±71
<i>S. Enteritidis</i> штам М					
23705±22	54,80	27,40	3,40	0,43	0,21
	24351±113	27598±97	26075±66	26975±57	25386±20

Так, встановлено, що наночастки NP_{Ag} за контактної взаємодії з мембранними фракціями *S. Dublin* штаму № 12 у концентрації 30,20 нг металу/мкг білка індукують посилення величини АТФ-ної активності на 22,3 %, *S. Typhimurium* штаму № 16 у концентрації 16,00 нг металу/мкг білка – на 23,0 % та *S. Enteritidis* штаму № 34 у концентрації 44,30 нг металу/мкг білка – на 45,3 % ($P < 0,05$) відповідно відносно її значень у контролі.

Інкубація NP_{Ag} з препаратами мембранних фракцій клітин *S. Dublin* штаму № 12 приводило до активації АТФ-ази у концентрації 59,70 нг металу/мкг білка на 14,2 %, *S. Typhimurium* штаму № 16 у концентрації 18,00 нг металу/мкг білка – на 20,8 % та *S. Enteritidis* штаму № 34 і М у концентраціях (0,39 – 198,00) і (0,24 – 0,48) нг металу/мкг білка – у середньому на 51,7 і 20,8 % ($P < 0,05$) відповідно.

Таблиця 2

Активність АТФ-ази мембранних фракцій клітин *Salmonella* дослідних штамів за контактної взаємодії з наночастками Аргентуму із середнім розміром ~30

$$\text{нм, } \frac{\text{мкмольРi}}{\text{мгб.} \cdot \text{хв}} \quad (\text{M} \pm \text{m}; \text{n}=5)$$

<i>S. Dublin</i> штаму № 12					
«Контроль»	«Дослід»: концентрація NP _{Ag} у середовищі інкубації, нг металу/мкг білка				
	478,00	239,00	119,50	59,70	29,90
234,48±0,28	252,41±0,2 51	251,09±0,2 2	249,16±0,4 8	267,80±0,95 *	231,92±0,5 6
<i>S. Typhimurium</i> штаму № 16					
43776±433	72,00	36,00	18,00	9,00	4,50
	47161±70	48881±187	52870±36*	48942±89	49487±334
<i>S. Enteritidis</i> штаму № 34					
26277±13	198,00	99,00	1,55	0,77	0,39
	37136±119 *	41110±108 *	34631±114	35708±94	41317±100 *
<i>S. Enteritidis</i> штаму М					
23705±22	61,4	30,7	15,3	0,48	0,24
	26427±41	27941±69	26407±20	28739±20*	28514±78*

Слід відзначити, що за контактної взаємодії наночасток обох металів з мембранними фракціями клітин *Salmonella* дослідних штамів в інших випадках не було встановлено пригнічення активності АТФ-ази, а величина її значень у цілому вірогідно не відрізнялась від її рівня в контролі, що вказує на відсутність гальмування швидкості гідролізу АТФ у мембранах бактеріальних клітин.

Окрім того, високий рівень енергізації бактеріальних клітин є визначальним фактором їхньої здатності активно акумулювати наночастинки металів [9].

Оскільки дихальна активність є однією з основних фізіологічних реакцій мікроорганізмів [10], її можна використовувати як інтегральний критерій оцінки стабільності біологічного потенціалу бактеріальної клітини. Дослідженнями встановлено (табл. 3 і 4), що дослідні наночастки металів також впливали індукуючим чином на інтенсивність процесів ендogenousного дихання клітин *Salmonella*.

Таблиця 3

Дихальна активність ізольованих клітин *Salmonella* дослідних штамів за контактної взаємодії з наночастками Ауруму із середнім розміром ~30 нм, мг O₂/л·хв·мг_{біомаси} (M±m; n=5)

<i>S. Dublin</i> штаму № 12						
«Контроль»	«Дослід»: концентрація NPAu у середовищі інкубації, мкг/мл за металом					
	1,93	0,97	0,24	0,03	0,015	0,008
14,10±0,06	17,9±0,0 7	18,3±0,03	18,9±0,03	10,7±0,05	14,5±0,0 7	17,7±0,0 9
<i>S. Typhimurium</i> штаму № 16						
	1,93	0,97	0,48	0,06	0,03	0,015
6,17±0,01	5,83±0,0 1	5,98±0,01	6,03±0,01	6,03±0,01	6,03±0,0 1	6,01±0,0 1
<i>S. Enteritidis</i> штаму № 34						
	1,93	0,97	0,48	0,12	0,06	0,03
6,26±0,01	6,82±0,0 1	7,13±0,01	7,15±0,01	7,12±0,01	7,16±0,0 1	7,02±0,0 1
<i>S. Enteritidis</i> штаму М						
	1,93	0,97	0,48	0,12	0,06	0,03
5,78±0,03	5,97±0,0 1	5,93±0,01	5,95±0,02	5,89±0,03	5,84±0,0 3	5,83±0,0 1

Так, під впливом NPAu і NPAg у діапазоні концентрацій (0,24 – 1,93) і (0,035 – 1,08) мкг/мл за металом реєстрували суттєве підвищення інтенсивності дихальної активності клітин *S. Dublin* штаму № 12 у середньому на 29,8 і 32,3 % відповідно ($P<0,05$) відносно її значень у контролі.

Внаслідок контакту лише з NPAu у діапазоні концентрації (0,06 – 0,97) мкг/мл за металом також встановлювали посилення ендogenousного дихання клітин *S. Enteritidis* штаму № 34 у середньому на 14,1 % ($P<0,05$).

За інкубації дослідних наночасток металів у інших концентраціях та з клітинами *S. Typhimurium* штаму № 16 і *S. Enteritidis* штаму М не спостерігали

значних відхилень інтенсивності дихання від рівня такого інтактних клітин (контроль), що вказує на безпечність наночасток Аурому та Аргентуму в певному діапазоні концентрацій щодо фізіологічного стану бактеріальних клітин роду *Salmonella*.

Таблиця 4

Дихальна активність клітин *Salmonella* дослідних штамів за контактної взаємодії з наночастками Аргентуму із середнім розміром ~30 нм, мг O₂/л·хв·мг біомаси (M±m; n=5)

<i>S. Dublin</i> штам № 12						
«Контроль»	«Дослід»: концентрація NPAg у середовищі інкубації, мкг/мл за металом					
	1,08	0,54	0,27	0,14	0,07	0,035
14,10±0,06	18,7±0,0 3	18,4±0,04	18,4±0,03	18,6±0,03	18,9±0,0 6	18,5±0,0 7
<i>S. Typhimurium</i> штам № 16						
	2,16	1,08	0,54	0,07	0,035	0,017
6,17±0,01	5,89±0,0 1	5,84±0,01	5,75±0,01	5,58±0,01	5,60±0,0 5	5,72±0,0 4
<i>S. Enteritidis</i> штам № 34						
	2,16	1,08	0,54	0,14	0,07	0,035
6,26±0,01	6,92±0,0 1	6,97±0,01	6,89±0,01	6,93±0,01	6,97±0,0 1	6,92±0,0 1
<i>S. Enteritidis</i> штам M						
	2,16	1,08	0,54	0,14	0,07	0,035
5,78±0,03	6,05±0,0 1	6,07±0,01	6,06±0,03	6,09±0,02	6,06±0,0 1	6,06±0,0 1

Відомо, що за умов, наприклад, ліофілізації клітинна оболонка бактерій унаслідок втрати вільної води і частини зв'язаної зазнає ушкоджень різного рівня, наслідками яких можуть бути зміни основних функцій, таких як бар'єрна, енергогенеруюча, транспортувальна [11]. Тому рівень проникності клітинної оболонки мікроорганізмів є важливим показником в оцінюванні загального стану клітин за умов їх підтримання та довготривалого зберігання.

Показано, що рівень проникності клітинної оболонки *S. Dublin* штаму № 12 внаслідок контакту з NPAu у зазначеному діапазоні концентрацій залишався на рівні значень в контролі та/або навіть знижувався (рис. 1, А), а з NPAg – був підвищеним у діапазоні концентрацій (1,08 – 4,32) мкг/мл (рис. 1, Б, 1 – 3) та зниженим у діапазоні концентрацій (0,009 – 0,54) мкг/мл за металом (рис. 1, Б, 4 – 10) порівняно з контролем.

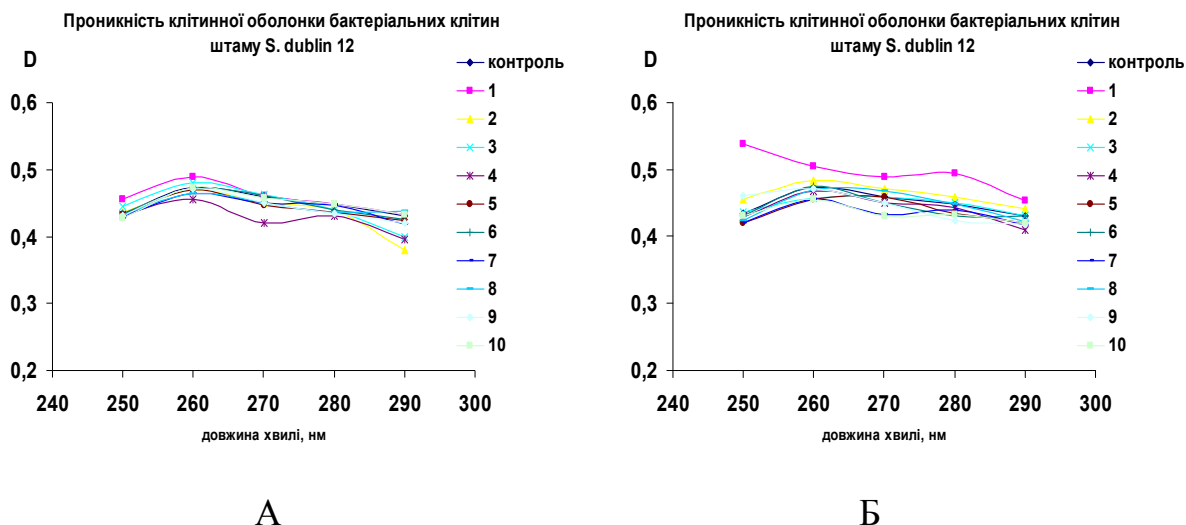


Рис. 1 Рівень проникності клітинної оболонки (D) клітин *S. Dublin* штаму № 12 за контактної взаємодії з NPAu (рис. 1, А), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 1,93; 2 – 0,97; 3 – 0,48; 4 – 0,24; 5 – 0,12; 6 – 0,06; 7 – 0,03; 8 – 0,015; 9 – 0,008; 10 – 0,004 мкг/мл за металом; та з NPAg (рис. 1, Б), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 4,32; 2 – 2,16; 3 – 1,08; 4 – 0,54; 5 – 0,27; 6 – 0,14; 7 – 0,07; 8 – 0,03; 9 – 0,017; 10 – 0,009 мкг/мл за металом відповідно

Проникність клітинної оболонки *S. Typhimurium* штаму № 16 і *S. Enteritidis* штаму № 34 під впливом наночасток обох металів у цілому залишалась на рівні її значень у контролі (рис. 2 і 3, А, Б).

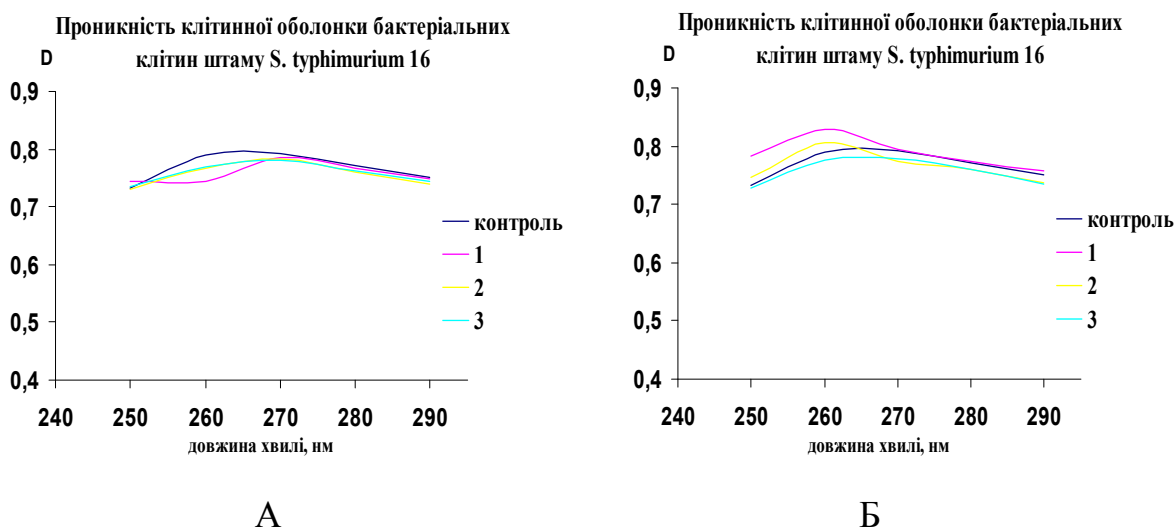


Рис. 2 Рівень проникності клітинної оболонки (D) клітин *S. Typhimurium* штаму № 16 за контактної взаємодії з NPAu (рис. 2, А), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 1,93; 2 – 0,97; 3 – 0,48 мкг/мл за металом; та з NPAg (рис. 2, Б), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 4,32; 2 – 2,16; 3 – 1,08 мкг/мл за металом відповідно

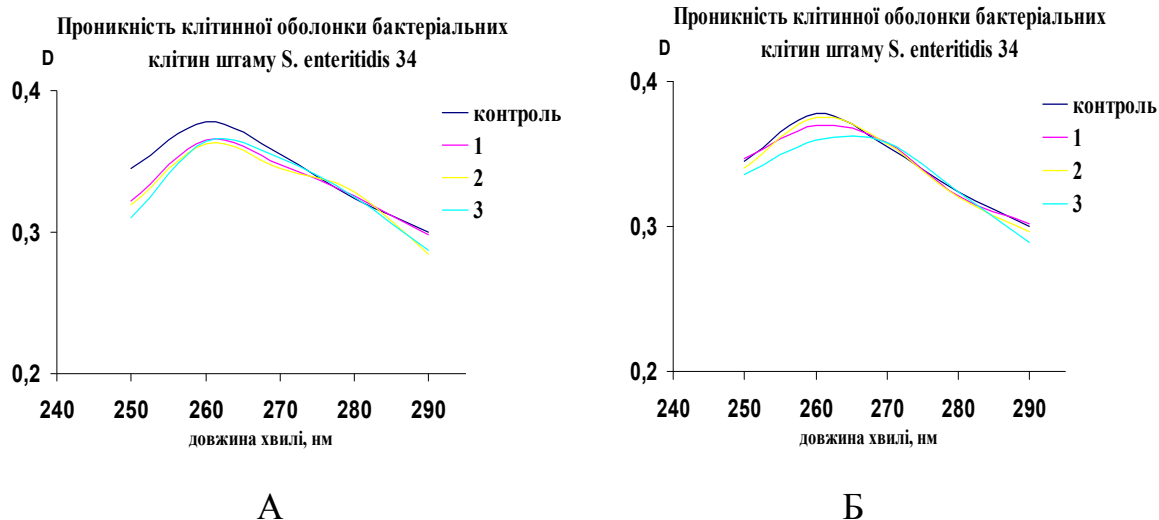


Рис. 3 – Рівень проникності клітинної оболонки (D) клітин *S. Enteritidis* штаму № 34 за контактної взаємодії з NPAu (рис. 3, А), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 1,93; 2 – 0,97; 3 – 0,48 мкг/мл за металом; та з NPAg (рис. 3, Б), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 4,32; 2 – 2,16; 3 – 1,08 мкг/мл за металом відповідно

Контактна взаємодія NPAu у дослідженому діапазоні концентрацій (рис. 4, А), а NPAg – лише у концентрації 4,32 мкг/мл за металом (рис. 4, Б, 1) з клітинами *S. Enteritidis* штаму М призводила переважно до підвищення рівня проникності клітинної оболонки, що вказує на порушення цілісності клітин цього штаму за контакту наночасток у таких концентраціях.

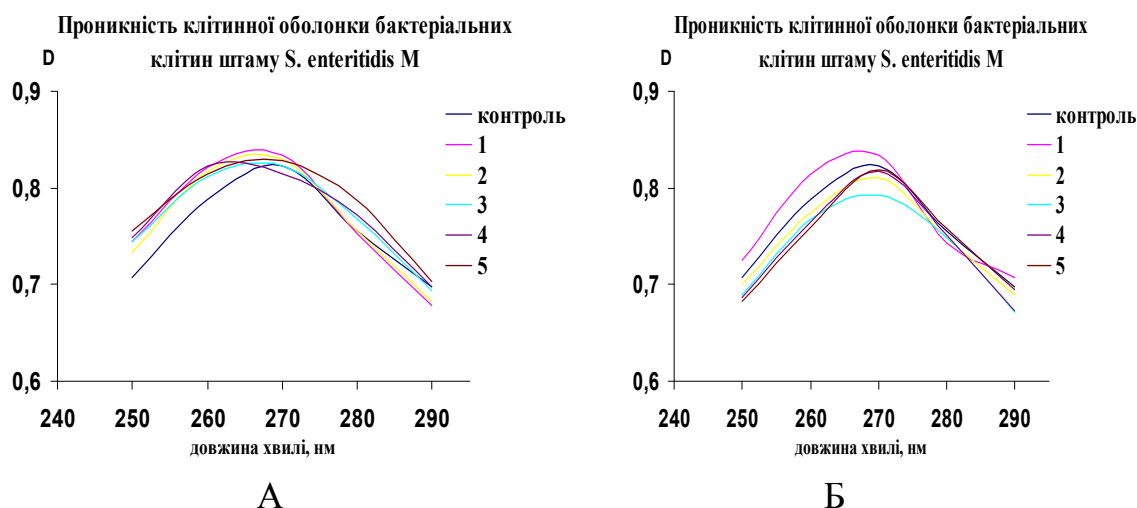


Рис. 4 Рівень проникності клітинної оболонки (D) клітин *S. Enteritidis* штаму М за контактної взаємодії з NPAu (рис. 4, А), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 1,93; 2 – 0,97; 3 – 0,48; 4 – 0,24; 5 – 0,12 мкг/мл за металом; та з NPAg (рис. 4, Б), кінцева концентрація яких в контактній суміші становила: 1 – 4,32; 2 – 2,16; 3 – 1,08; 4 – 0,54; 5 – 0,27 мкг/мл за металом відповідно

Але внаслідок інкубації NPAg у діапазоні концентрацій (0,27 – 2,16) мкг/мл за металом, рівень проникності клітинної оболонки штаму M за значеннями був близьким до контрольного (рис. 4, Б, 2 – 5).

Таким чином, отримані результати досліджень з одного боку вказують на відсутність токсичного впливу наночасток обох металів щодо стабільності біологічного потенціалу прокаріотичних клітин промислово значимих штамів, а з іншого – на прогностичність використаних у дослідях фізіолого-біохімічних маркерів безпечності на моделі бактеріальних клітин роду *Salmonella*.

З метою застосування як потенційних протекторів і стимуляторів біологічного потенціалу клітин *S. Dublin* штаму № 12, перспективними виявились обидва види наночасток. Так, під впливом NPAu і NPAg, особливо у діапазоні концентрацій (0,12 – 0,97) і (0,035 – 0,54) мкг/мл за металом, реєстрували значну стимуляцію *ATP*-ної та дихальної активностей, що вказує на активацію функціонального стану таких клітин внаслідок генерації енергії.

У результаті встановлення посилення *ATP*-ної активності мембранних фракцій клітин *S. Typhimurium* штаму № 16 перспективними можна вважати NPAu у концентраційному діапазоні (0,24 – 0,97) мкг/мл за металом.

За підсумком результатів впливу на основні фізіолого-біохімічні показники клітин *S. Enteritidis* штаму № 34, перспективними виявились NPAu у концентраційному діапазоні (0,015 – 0,97) мкг/мл за металом, на що вказує наявність стимуляції *ATP*-ної та дихальної активності разом.

Для покращення фізіолого-біохімічного стану клітин *S. Enteritidis* штаму M, навпаки, перспективними виявились NPAg у концентраціях (0,035 – 1,08) мкг/мл за металом, про що свідчить активація протонної *ATP*-ази та стабілізація клітинної оболонки.

Тобто, можна припустити, що за молекулярним (за кінетикою *ATP*-ази) та фізіологічним (процеси ендогенного дихання, проникність клітинної оболонки) механізмами генерації величини трансмембранного потенціалу, клітини *Salmonella* дослідних штамів за умов взаємодії з дисперсними колоїдами наночасток Ауруму та Аргентуму знаходяться в більш активному функціональному стані, що може бути науковим підґрунтям перспективи використання таких наночасток металів у біотехнологічних процесах, пов'язаних з накопиченням біомаси мікроорганізмів у середовищах, збагачених або лімітованих за будь-яким компонентом, та при оцінюванні ступеня небезпечності ефектів технологічного стресу.

Література

1. Дибкова С. М. Визначення генотоксичності наночастинок металів, перспективних до застосування в біотехнології / С. М. Дибкова [та ін.] // Біотехнологія. – Т. 2, № 3. – С. 80–85.

2. Ушкалов В. О. Біобезпечні та біосумісні наночастинки металів у ветеринарній медицині / В. О. Ушкалов [та ін.] // Вет. медицина України. – 2010. – № 6. – С. 30–34.
3. Roman'ko, M.Ye. Membranotropic effect of metal nanoparticles on the bacterial cells under the condition of their lyophilization / rehydration / M. Ye. Roman'ko, L. S. Rieznichenko, V. O. Uschkalov // Ukrainian-German Symposium on Physics and Chemistry of Nanostructures and on Nanobiotechnology. – Berezove, the Crimea, Ukraine 6th – 10th September, 2010. / Book of abstracts. – P6.49. – P. 256.
4. Lowry, O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – № 193. – P. 265–275.
5. Fiske, C. Measurement of inorganic phosphate / C. Fiske, J. Subbarow // J. Biol. Chem. – 1925. – Vol. 66, No. 1. – P. 375–400.
6. Грузина Т. Г. Изучение ингибирующего влияния ионов свинца на клетки некоторых штаммов бактерий рода *Pseudomonas* / Т. Г. Грузина [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 2. – С. 115–119.
7. Лакин Г. Ф. Биометрия: Уч. пособие для биологических специальностей ВУЗов // Под ред. Г. Ф. Лакина. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
8. Serrano, R. Structure and function of proton translocating ATPase in plasma membranes of plants and fungi / R. Serrano // Biochem. et biophys. acta. – 1988. – V. 947. – № 1. – P. 1–28.
9. Данилович Г. В. Вплив іонного та колоїдного золота на АТР-гідролазні ферментні системи в мембрані мікроорганізмів *Bacillus* sp. B4253 та *Bacillus* sp B4851 / Г.В. Данилович [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 4. – С. 46–51.
10. Баснакьян И. А. Патология и физиология микробов / И. А. Баснакьян, В. М. Боровкова, С. Н. Кузьмин // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1981. – № 9. – С. 14–19.
11. Харчук И. А. Анабиоз: основные понятия и сопровождающие его процессы / И. А. Харчук // Экология моря. – 2005. – Вып. 70. – С. 62–78.

Физиолого-биохимические маркеры безопасности наночастиц металлов на модели изолированных бактериальных клеток рода *Salmonella*. Романько М. – Полученные результаты исследований основных физиолого-биохимических маркеров безопасности наночастиц Аурума и Аргентума в определенном диапазоне концентраций на модели клеток *S. Dublin* штамма № 12, *S. Typhimurium* штамма № 16 и *S. Enteritidis* штаммов № 34 и М, и их мембранных фракций указывают на отсутствие токсического влияния наночастиц обоих металлов относительно стабильности биологического потенциала прокариотических клеток промышленно значимых штаммов. Так, при условии контактного взаимодействия с исследуемыми наночастицами металлов усиление функциональной активности клеток *Salmonella* исследуемых штаммов сопровождалось значительной стимуляцией активности АТР-азы и эндогенного дыхания на границе 20,8 – 51,7% и 14,1 – 32,3% ($P < 0,05$), и указывает на генерацию величины трансмембранного потенциала клеток бактерий за счет энергетических ресурсов.

Ключевые слова: активность АТР-азы, дыхательная активность, клетка, маркеры, мембранные фракции, наночастицы металлов, проницаемость клеточной оболочки, штамм.