

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології**

«На правах рукопису»
УДК _____

До захисту допущено:
В.о. завідувача кафедри
_____ Наталія ГОЛУБ
« ____ » _____ 2021 р.

Магістерська дисертація

на здобуття ступеня магістра

**за освітньо-професійною програмою «Біотехнології»
зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»**

**на тему: «Біотехнологія вирощування рослин *Nicotiana tabacum* на
середовищах з магнітними наночастинками»**

Виконала:

студентка VI курсу, групи БМ-01мп
Богаєвська Дарина Олександрівна _____

Науковий керівник:

д.т.н., професор кафедри біоенергетики,
біоінформатики та екобіотехнології
Горобець Світлана Василівна _____

Консультант з розробки стартап проекту:

к.е.н., доцент кафедри економіки
та підприємництва
Ткаченко Тетяна Петрівна _____

Рецензент:

д.ф.-м.н., професор Інституту хімії
поверхні ім.О.Чуйка
Горбик Петро Петрович _____

Засвідчую, що у цій магістерській
дисертації немає запозичень з праць
інших авторів без відповідних
посилань.
Студентка _____

Київ – 2021 року

Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Факультет біотехнології і біотехніки
Кафедра біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Спеціальність – 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології»

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. завідувача кафедри

_____ Наталія ГОЛУБ

«__» _____ 2021 р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студенту

Богаєвській Дарині Олександрівні

1. Тема дисертації «Біотехнологія вирощування рослин *Nicotiana tabacum* на середовищах з магнітними наночастинками», науковий керівник дисертації Горобець Світлана Василівна, д.т.н., професор кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології, затверджені наказом по університету від «__» _____ 20__ р. № _____
2. Термін подання студентом дисертації _____
3. Об'єкт дослідження – рослини тютюну *Nicotiana tabacum*.
4. Предмет дослідження: морфологічні особливості рослин *Nicotiana tabacum*, вирощених з додаванням магнетиту різних концентрацій та кадмію.
5. Перелік завдань, які потрібно розробити: проаналізувати вплив різних концентрацій магнітних наночастинок на ріст та розвиток рослин *Nicotiana tabacum*; раціоналізувати режим внесення магнітних наночастинок при вирощуванні *Nicotiana tabacum*; дослідити динаміку накопичення заліза у органах рослин *Nicotiana tabacum* за допомогою реакції Перлса; дослідити

вплив кадмію на ріст та розвиток рослин *Nicotiana tabacum*, вирощених на середовищах з магнітними наночастинками; розробити стартап-проект.

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: презентація.

7. Орієнтовний перелік публікацій:

1.Bohaievskia D.O., Gorobets S.V. Investigation of the dynamics of iron accumulation in *Nicotiana tabacum* plants grown on media with magnetic nanoparticles // Results of modern scientific research and development. Proceedings of the 9th International scientific and practical conference. Barca Academy Publishing. Madrid, Spain. 2021. p. 36-38.

8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розробка стартап-проекту	Ткаченко Т.П. доцент кафедри економіки та підприємництва		

9. Дата видачі завдання 01.09.2021

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Термін виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Огляд літератури за темою	01.09.21-15.09.21	Виконано
2	Визначення об'єкту та предмету дослідження	15.09.21-01.10.21	Виконано
3	Визначення матеріалів і методів дослідження	15.09.21-01.10.21	Виконано
4	Виконання експериментальної частини	01.09.21-28.11.21	Виконано

5	Аналіз отриманих результатів	01.10.21-30.11.21	Виконано
6	Розробка стартап-проекту	02.11.21-23.11.21	Виконано
7	Оформлення магістерської дисертації	15.11.21-30.11.21	Виконано

Студент

Дарина, БОГАЄВСЬКА

Науковий керівник

Світлана, ГОРОБЕЦЬ

РЕФЕРАТ

Дипломна робота містить 123 сторінки, 33 таблиці, 45 рисунків, перелік посилань з 58 найменувань.

Останнім часом нанотехнології викликають інтерес у рослинництві. Магнітні наночастинки відіграють важливу роль у збільшенні росту, розвитку, підвищенні стійкості рослин до стресу та забезпеченні поживними речовинами. МНЧ мають високу сорбційну спорідненість до небезпечних забруднень, зокрема важких металів.

Наразі важливим завданням є зменшення споживання первинної енергії та скорочення викидів парникових газів за рахунок використання альтернативних відновлюваних джерел енергії. Тютюн *Nicotiana tabacum* – є перспективною енергетичною рослиною. Листя тютюну містить близько 1–4% жирних кислот на суху масу, що дозволяє використовувати тютюн як сировину для виробництва біопалива. Насіння тютюну містить приблизно 40% олії, з якої можна отримати біодизельне паливо. Високий вміст полісахаридів в стеблах – 60% робить тютюн значним джерелом біоетанолу. Основною проблемою є незначна урожайність насіння тютюну (близько 400–600 кг/га) та біомаси (2 т/га).

Мета даної роботи – дослідження впливу різних концентрацій магнітних наночастинок та важких металів на прикладі кадмію на ріст та розвиток рослин *Nicotiana tabacum*.

Предмет дослідження: рослини тютюну *Nicotiana tabacum*.

Об'єкт дослідження: морфологічні особливості рослин *Nicotiana tabacum*, вирощених на середовищах з додаванням магнетиту різних концентрацій та кадмію.

У роботі застосовано такі методи дослідження: методика вирощування рослин; морфологічні методи дослідження; MS Excel для обробки експериментальних даних; хімічні методи – реакція Персла; мова програмування Python та пакет OpenCV для обрахунку відсотка забарвленої

площі за реакцією Перлса на оптичному зображенні зразків рослини *Nicotiana tabacum*.

У роботі проводилося вирощування рослин *Nicotiana tabacum* на середовищах з магнітними наночастинками у концентраціях $c = 0,05$ мг/мл та $0,1$ мг/мл. Вирощування рослин *Nicotiana tabacum* протягом 48 днів показало позитивний вплив магнетиту на ріст та розвиток рослин тютюну, в результаті чого вага зеленої біомаси рослини збільшилася на 20,53 % за концентрації $c = 0,05$ мг/мл, загальна площа листя рослини на 62 % на 44,5 % та маса коренів на 94 % та 86,22 % за концентрацій $c = 0,05$ мг/мл та $c = 0,1$ мг/мл відповідно, в порівнянні з контролем. За концентрації $c = 0,1$ мг/мл магнетиту спостерігалася більша толерантність рослин тютюну до CdCl_2 .

КЛЮЧОВІ СЛОВА: МАГНІТНІ НАНОЧАСТИНКИ, ТЮТЮН, РЕАКЦІЯ ПЕРЛСА, КАДМІЙ, ВАЖКІ МЕТАЛИ.

ABSTRACT

This thesis contains 123 pages, 33 tables, 45 figures, a list of links from 58 titles.

Recently, nanotechnology is of interest in crop production. Magnetic nanoparticles play an important role in increasing growth, development, increasing plant resistance to stress and providing nutrients. Magnetic nanoparticles have a high sorption affinity for hazardous contaminants, including heavy metals.

Its current primary energy inputs and greenhouse gas emission rates are important for the use of alternative energy sources. Tobacco *Nicotiana tabacum* is a promising energy plant. Tobacco leaves contain about 1-4% of fatty acids by dry weight, which allows the use of tobacco as a raw material for biofuel production. The legacy of tobacco is suitable for 40% of the oils from which biodiesel can be obtained. High content of polysaccharides in the stems – 60% makes tobacco a significant source of bioethanol. The main problem is the low yield of tobacco seeds (about 400-600 kg / ha) and bios (2 t / ha).

The purpose of this work is to study of the influence of different concentrations of magnetic nanoparticles and heavy metals on the example of cadmium on the growth and development of *Nicotiana tabacum* plants.

Subject of research: *Nicotiana tabacum* plants.

Object of research: morphological features of *Nicotiana tabacum* plants grown with the addition of magnetite of different concentrations and cadmium.

The following research methods have been used in the work: methods of growing plants; morphological research methods; MS Excel for experimental data processing; chemical methods – Persl method; Python programming language and the Opencv package for calculating the percentage of colored area by the Perls reaction on the optical image of samples of the plant *Nicotiana tabacum*.

Nicotiana tabacum plants were grown on media with magnetic nanoparticles at concentrations of $c = 0.05$ mg/ml and 0.1 mg/ml. Growing *Nicotiana tabacum* for 48 days showed a positive effect of magnetite on the growth and development of tobacco plants, resulting in the weight of green plant biomass increased by 20.53%

at a concentration of $c = 0.05$ mg/ml, the total leaf area of the plant by 62% and 44.5% and root mass by 94% and 86.22% at concentrations $c = 0.05$ mg/ml and $c = 0.1$ mg/ml, respectively, compared to the control. At a concentration of $c = 0.1$ mg/ml of magnetite, greater tolerance of tobacco plants to CdCl_2 was observed.

KEY WORDS: MAGNETIC NANOPARTICLES, TOBACCO, PERLS REACTION, CADMIUM, HEAVY METALS.

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	11
ВСТУП.....	12
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	15
1.1. Загальна характеристика рослин виду <i>Nicotiana tabacum</i> та галузі їх застосування	15
1.2 Вплив наночастинок магнетиту на вирощування рослин	20
1.2.1. Механізм взаємодії рослин та штучних магнітних наночастинок ..	23
1.3. Біогенні магнітні наночастинки в рослинних організмах	27
1.4. Вплив важких металів на ріст і розвиток рослин	31
1.5. Вплив магнітних наночастинок на послаблення токсичного впливу важких металів на рослини	37
2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	40
2.1. Матеріали та методи	40
2.1.1. Методика приготування магнітної рідини	40
2.1.2. Методика вирощування <i>Nicotiana tabacum</i>	41
2.1.3. Визначення наявності заліза за реакцією Перлса	44
2.1.4 Методика вирощування <i>Nicotiana tabacum</i> з одночасним додаванням розчинів магнетиту та кадмій хлориду	46
2.2. Результати та обговорення	47
2.2.1. Аналіз впливу магнетиту на ріст і розвиток рослин <i>Nicotiana tabacum</i>	47
2.2.2 Дослідження наявності заліза у формі окисних сполук за реакцією Перлса	58
2.2.3 Обрахунок відсотка забарвленої площі зразків рослини <i>Nicotiana tabacum</i> за реакцією Перлса	64
2.2.4 Дослідження впливу кадмій хлориду на рослини <i>Nicotiana tabacum</i>	67
3 РОЗРОБКА СТАРТАП ПРОЕКТУ	71
3.1 Резюме: конкретизація бізнес ідеї, мети стартапу, об'єкту дослідження, місця розробки у інноваційному ланцюжку цінності	71
3.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартап-проекту	76
3.3 Визначення ключових факторів успіху проекту	84

	10
3.4 Визначення потенційних споживачів.....	87
3.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку.....	92
3.5.1 Основні фонди підприємства.....	94
3.5.2 Оборотні фонди підприємства.....	95
3.5.3 Розрахунок собівартості виробництва	98
3.6 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту.....	102
3.7 Ризики стартап-проекту та методи управління ними.....	107
ВИСНОВКИ	116
СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	118

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

МНЧ – магнітні наночастинки;

БМН – біогенні магнітні наночастинки;

АСМ – атомно-силова мікроскопія;

МСМ – магніто-силова мікроскопія;

АФК – активні форми кисню;

МДА – малоновий діальдегід;

ВМ – важкі метали.

ВСТУП

Актуальність: різноманітне застосування наночастинок (НЧ) призвело до революції в різних секторах суспільства. В останнє десятиліття особливо магнітні наночастинок (МНЧ) викликали величезний інтерес завдяки їх застосуванню в медицині, наприклад для доставки лікарських препаратів та біоактивних речовин в клітини, для гіпертермії при лікуванні раку, для розробки біосенсорів та в сільському господарстві [1]. Магнітні наночастинок реагують на зовнішні подразники, досягаючи просторово-часового контрольованого вивільнення макромолекул. Саме тому протягом останніх двох десятиліть сконструйовані наноматеріали були успішно застосовані в медицині та фармакології, особливо в діагностичних або терапевтичних цілях [2, 3].

Останнім часом нанотехнології викликають інтерес також у рослинництві. Магнітні наночастинок відіграють важливу роль у збільшенні росту, розвитку та підвищенні стійкості рослин до стресу та забезпеченні поживними речовинами. МНЧ мають високу сорбційну спорідненість до небезпечних забруднень, зокрема важких металів [4, 5].

Тютюн (*Nicotiana tabacum*) – технічна культура, яка традиційно використовується для виробництва сигарет і сигар. Тютюн є перспективним модельним об'єктом для дослідження генетики та фізіології рослин родини пасльонових. Проте існують і інші альтернативні шляхи застосування тютюну. Із суцвіття тютюну добувають ефірну олію, яку використовують у парфумерній та хімічній галузях промисловості [6]. Рафінована олія з насіння *Nicotiana tabacum* використовується як заміник олії арахісу чи рапсу при створенні біопалива та у виробництві олійних фарб і лаків [6]. Макуха з насіння тютюну, яка є побічним продуктом екстракції олії, виявляється придатним джерелом амінокислот для комбікормів для тварин [6]. Алкалоїд нікотин широко використовується в сільському господарстві як інсектицид для боротьби з комахами-шкідниками [6]. Нікотинова кислота – один з

вітамінів групи В – РР – яку отримують з нікотину використовується для медичних цілей [6].

Листя, основний урожай тютюну, містить близько 1–4% жирних кислот на суху масу, хоча їх вміст можна збільшити до 7% за допомогою метаболічної інженерії (експресії генів інших видів рослин), що дає можливість використовувати тютюн як сировину для виробництва біопалива. Крім того, насіння тютюну містить близько 40% олії, яку можна використовувати як дизельне паливо [6]. Тютюн також має високий вміст полісахаридів. Стебла на 60% складаються з полісахаридів, що може зробити тютюн значним джерелом біоетанолу. Урожайність насіння тютюну, однак, незначна (близько 400–600 кг/га) [6].

До 2030 року Європейський союз повинен задовольнити щонайменше 32% своїх загальних потреб в енергії за допомогою відновлюваних джерел енергії в рамках національних планів кожної країни, скорочуючи 20% викидів парникових газів і споживання первинної енергії. Крім того, щонайменше 10% транспортного палива має надходити з відновлюваних джерел [6]. Реалізація цих завдань підвищить попит на сільськогосподарські субстрати, призначені для використання в якості джерела енергії. Біопаливо для транспорту становить основну частину світового виробництва біоенергії, а рослини є одним з основних джерел відновлюваної сировини [6].

Незважаючи на те, що біомаса тютюну та олія з його насіння є перспективною рослинною сировиною для біоенергетики, їх промислове використання гальмується через низький рівень урожаю насіння з гектара [7]. Застосування магнітних наночастинок в якості добрива при вирощуванні тютюну може призвести до збільшення урожаю та відповідно збільшення виробництва біопалива, що посприє досягненню цілей сталого розвитку і відповідатиме цілям біоекономіки [7].

Мета роботи: дослідження впливу різних концентрацій магнітних наночастинок та важких металів на прикладі кадмію на ріст та розвиток рослин *Nicotiana tabacum*.

Завдання:

1. Проаналізувати вплив різних концентрацій магнітних наночастинок на ріст та розвиток рослин *Nicotiana tabacum*.
2. Раціоналізувати режим внесення наночастинок магнетиту при вирощуванні рослин *Nicotiana tabacum* з урахуванням етапів органогенезу рослин *Nicotiana tabacum*.
3. Дослідити динаміку накопичення заліза у органах рослин *Nicotiana tabacum* за допомогою реакції Перлса.
4. Дослідити вплив кадмію на ріст та розвиток рослин *Nicotiana tabacum*, вирощених на середовищах з магнітними наночастинами.
5. Розробити стартап-проект.

Об'єкт дослідження:

- рослини тютюну *Nicotiana tabacum*.

Предмет дослідження:

- морфологічні особливості рослин *Nicotiana tabacum*, вирощених з додаванням магнетиту різних концентрацій та кадмію

Наукова новизна:

- показано збільшення рівня накопичення заліза в листках рослин *Nicotiana tabacum* за допомогою реакції Перлса при збільшенні концентрації наночастинок магнетиту, внесеного в ґрунт;
- раціоналізовано режим внесення наночастинок магнетиту в ґрунт при вирощуванні рослин *Nicotiana tabacum* з урахуванням етапів органогенезу *Nicotiana tabacum*.

Апробація:

1. Bohaievskia D.O., Gorobets S.V. Investigation of the dynamics of iron accumulation in *Nicotiana tabacum* plants grown on media with magnetic nanoparticle // Results of modern scientific research and development. Proceedings of the 9th International scientific and practical conference. Barca Academy Publishing. Madrid, Spain. 2021. Pp. 36-38.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальна характеристика рослин виду *Nicotiana tabacum* та галузі їх застосування

Nicotiana tabacum, або тютюн – вид трав'янистих рослин родини Пасльонові (*Solanaceae*). Найбільш поширений з усіх рослин роду *Nicotiana*, вирощується для отримання сировини, що використовується в тютюнових виробках. Нещодавні дослідження демонструють потенціал тютюну (*Nicotiana tabacum*) в якості джерела енергії.

Тютюн – це однорічна культурна рослина, що досягає висоти до 3 м. Стебло тверде, гіллясте. Листя почергове, цілісне, продовгувате, з ворсинчатою та смолистою поверхнею. Число листків на стеблі у різних сортів – від 20 до 50. Суцвіття вузькі, квітки трубчасті або лійкоподібні, правильні, зрослопелюсткові, з п'ятьма лопатями, рожево-білі (рис.1.1.).



Рис. 1.1. Загальний вигляд рослин *Nicotiana tabacum* [8]

Віночок завдовжки до 5-6 см. Коренева система добре розгалужена і складається зі стрижневого кореня і великої кількості придаткових мичкуватих коренів. Найбільшої потужності коренева система досягає в період цвітіння. Основна маса коренів розташована на глибині ґрунтового горизонту 25-30 см. Деяка частина кореня проникає в ґрунт на 1,5-2 м, завдяки чому рослини можуть засвоювати вологу і поживні речовини з глибоких шарів ґрунту. У горизонтальному напрямку коренева система тютюну простягається на 25-80 см. У коренях утворюється нікотин, який переміщується і

акумулюється в листі, частково в стеблі і незначно – в репродуктивних органах.

Батьківщиною тютюну вважаються Болівія і Перу, в Європу його завезли експедиції Христофора Колумба. Основні райони культурного обробітку – Північна Америка, Китай, Індія, Мала Азія, Передкавказзя, Закавказзя, Середня Азія, Придністров'я, Крим [8].

Тютюн – рослина теплолюбна, оптимальна температура вирощування близько 30 °С. Для нього підходять сильно зволожені, легкі, сипучі піщані ґрунти з легко кислою реакцією. Розмножують насінням, вирощуючи з нього розсаду, яку потім висаджують в ґрунт.

Тютюновий дим складається з більш ніж 4000 хімічних сполук і приблизно 60 відомих канцерогенів. Половина цих сполук зустрічається в зеленому тютюновому листі, а решта утворюється при спалюванні тютюну. Складна суміш хімікатів у тютюновому димі включає окис вуглецю, ціанистий водень, бензол, формальдегід, нікотин, фенол, поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ) та специфічні для тютюну нітрозаміни (ТСНА). Основна активна речовина – нікотин, міститься у всіх частинах рослини, крім зрілого насіння, але найбільша концентрація – в листках (0,75-2,88%).

Тютюн вирощують задля отримання листя, з якого виготовляють сигарети, сигари, люльковий і курильний тютюн. Проте тютюн може використовуватися і в інших галузях [9, 10]:

- зелена біомаса тютюну використовується для отримання біодизелю, біоетанолу та біовугілля;
- зелене листя тютюну є сировиною для одержання харчового білка (1 г сухого листя містить 94-146 мг білка);
- із суцвіття тютюну добувають ефірну олію, яку використовують у парфумерній та хімічній галузях промисловості;
- насіння *Nicotiana tabacum* не містить нікотину, тож рафінована олія з нього використовується як заміник олії арахісу чи рапсу при створенні біопалива та у виробництві олійних фарб і лаків;

- з відходів тютюнової промисловості екстрагують алкалоїд нікотин, який широко використовується в сільському господарстві як інсектицид для боротьби з комахами-шкідниками;
- при окисненні нікотину хромовою кислотою утворюється ніотинова кислота – один з вітамінів групи В – РР. Вона володіє протипелагричними властивостями, використовується для лікування діареї, дерматитів, захворювань серцево-судинної системи, органів травлення, глоситу, стоматиту;
- в харчовій промисловості, оскільки тютюн містить понад 10% лимонної кислоти;
- тютюнова біомаса містить відносно велику кількість целюлози. Найбільший вміст целюлози виявлено в стеблах тютюну (35–40% сухої речовини), а головна жилка листка деяких сортів тютюну містить 10-15% целюлози. Тютюнові стебла та листкові жилки можна використовувати для виробництва паперової та картонної упаковки [9, 10].

Зупинимося на більш детальному огляді потенціалу використання тютюну звичайного в енергетичній галузі. При вирощуванні для виробництва енергії замість куріння тютюну може генерувати велику кількість недорогої біомаси більш ефективно, ніж майже будь-яка інша сільськогосподарська культура [10]. Тютюн має потужний механізм біосинтезу олії, у насінні може накопичуватися до 40% олії. Незважаючи на накопичення в насінні, первинний синтез олії відбувається в зелених фотосинтетичних тканинах. Листя тютюну містять 1,7–4 % олії на суху масу, яка екстрагується у вигляді складних ефірів жирних кислот, основного компонента біопалива. Наразі відомо, що посилення експресії деяких ферментів, які беруть участь у метаболізмі ліпідів, може призвести до збільшення накопичення олії в різних органах рослин [10]. Хоча її вміст в зеленій біомасі набагато нижчий, ніж у насінні олійних культур, вважається, що завдяки своєму потенціалу нарощування біомаси та можливостям метаболічної інженерії тютюн є

привабливою та перспективною платформою «енергетичної рослини», а також може служити як модель для використання інших рослин зі значною біомасою для виробництва біопалива [10].

В основному, для перетворення біомаси в біопаливо можна використовувати три основні методи: біохімічний (ферментативний гідроліз), термохімічний та гідротермальний. Під час ферментативної обробки целюлози та геміцелюлози виділяється целобіоза, глюкоза та інші цукри, які далі перетворюються в етанол та інші продукти [11]. У літературі [11] описано три різні методи термохімічного перетворення біомаси – піроліз, газифікація та горіння. Піроліз – це термічний розклад біомаси за відсутності кисню з утворенням конденсованих парів, газів, деревного вугілля та піролітичних масел. Газифікація – альтернативний варіант термічної обробки біомаси, що класифікується як процес часткового окислення. При газифікації в першу чергу утворюється синтез-газ. Спалювання є найпростішим методом, за допомогою якого з біомаси отримують енергію у вигляді тепла або електроенергії. Пряме спалювання можна застосовувати до біомаси з низьким вмістом вологи та золи. Під час гідротермальної переробки тютюнової біомаси відбувається гідроліз вуглеводів з подальшим утворенням як цукрів так і олії (рис. 1.2.).

В даний час деякі сорти енергетичного тютюну, оптимізовані для виробництва біомаси, можуть давати приблизно 12 тон сухих речовин на акр (0,4 га), з 60% цукру і 5-7% олії на суху масу, виробляючи приблизно 1150 галонів етанолу (4370 л) на акр [11]. Енергетичний тютюн обробляється свіжим. Після збору тютюнову біомасу віджимають за допомогою промислового преса, сік, що утворюється, використовують для екстрагування вільного цукру. Частково зневоднену біомасу, що містить целюлозу та геміцелюлозу, обробляють в субкритичному гідротермальному екстракторі на цукор, олію та біовугілля (рис. 1.2). Тютюновий сік (отриманий в процесі віджиму) містить близько 2% вільних цукрів, з яких 85% становить глюкоза, а

потім галактоза, маноза та арабіноза. З соку можна легко отримати етанол або інші цінні продукти [11].

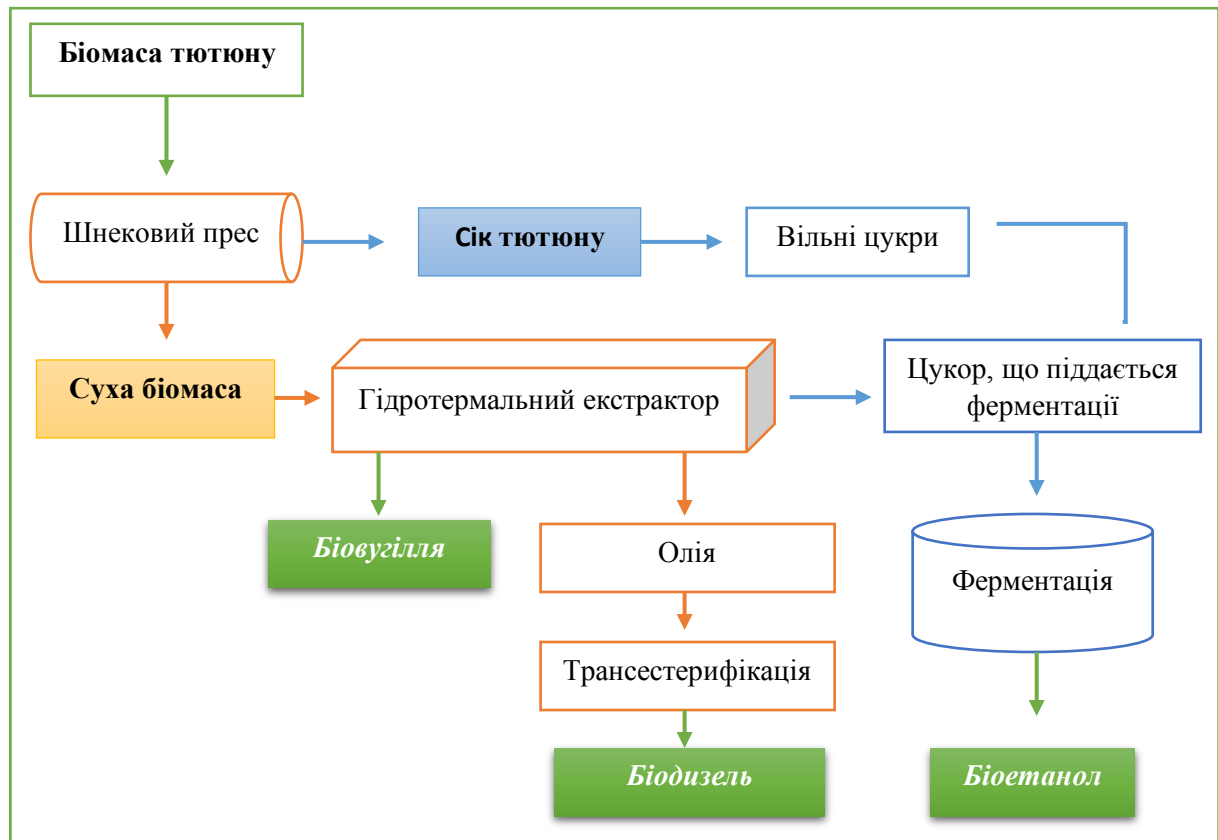


Рис. 1.2. Спрощена схема гідротермальної переробки тютюнової біомаси [11]

Зазвичай рослини тютюну дають невелику кількість насіння, лише близько 600 кг насіння на акр, проте це число може зрости до 1250 кг/акр або навіть більше. Шляхом гідротермальної обробки можна отримувати олію з насіння тютюну. У дослідженні [11] описано процес отримання біодизельного палива з олії насіння тютюну. Вихід олії становив приблизно 38% від загальної маси насіння. Етерифікацію проводили в присутності метанолу у співвідношенні спирту до олії 6:1, а в якості каталізатора використовували NaOH. Реакцію проводили на роторному випарнику при 55°C протягом 90 хв з додатковим перемішуванням ще 90 хв після вимкнення нагріву. Приблизно 86% олії було перетворено на біодизель. Коефіцієнт конверсії вважався прийнятним, оскільки масло, використане для цього експерименту, було

необробленим. Подальші експерименти показали, що такий біодизель, вироблений на основі олії насіння тютюну, можна змішувати з 25-30% викопного дизельного палива. Також досліджували виробництво метилового ефіру жирних кислот з сирі олії насіння тютюну з високою кількістю вільних жирних кислот (кислотне число вище 35). Виробництво біодизельного палива здійснювалося двоетапним процесом: кислотно-каталізована етерифікація, з наступною переетерифікацією з використанням основного каталізатора. Максимальний вихід метилового ефіру жирних кислот становив близько 91% за 30-хвилинну реакцію на другому етапі. Отримане біодизельне паливо з олії насіння тютюну відповідало вимогам американських і європейських стандартів.

1.2 Вплив наночастинок магнетиту на вирощування рослин

Хоча залізо є одним із найпоширеніших елементів на Землі, його доступність для рослин залишається сільськогосподарською проблемою, особливо на середовищах з високим рівнем рН. При високому рН залізо утворює нерозчинні оксиди заліза – гідроксиди, що робить його недоступним для рослин. Крім того, в ґрунтах з високим рН залізо легко з'єднується з фосфатами, карбонатами, кальцієм, магнієм та гідроксид-іонами. Вважається, що 30% сільськогосподарських угідь світу є занадто лужними для оптимального рісту рослин. Останні дослідження продемонстрували потенціал використання наночастинок оксиду заліза як добрив для усунення дефіциту заліза в рослин [12].

Залізо знаходиться переважно у формі нерозчинного Fe^{3+} , особливо в ґрунтах з високим рН; тому ці ґрунти зазвичай мають дефіцит доступної форми Fe^{2+} . Оскільки рослини зазвичай поглинають Fe^{2+} з ґрунту, ґрунти з дефіцитом Fe призводять до дефіциту Fe у рослин. Поширені різновиди Fe-добрив включають неорганічні Fe-добрива, хелатні-Fe-добрива та органічні Fe-добрива. Добриво-хелат-Fe коштує дорожче, і його часто застосовують для високоцінних культур. Розчинне неорганічне добриво мало покращує

доступний вміст Fe в лужних ґрунтах. Добриво органічне-Fe легко адсорбується на частинках ґрунту, що може зменшити ефект добрива. Наночастинки оксиду заліза добре поглинаються та транспортуються різними рослинами, що робить їх здатними усунути недоліки традиційних добрив [13].

Сульфат заліза (FeSO_4) містить близько 20% заліза. Це добриво недороге і використовується в основному для позакореневого обприскування. Якщо застосовувати прикоренево, виявляється неефективним, особливо при рН вище 7,0, оскільки залізо швидко перетворюється на Fe^{3+} і випадає в осад у вигляді одного з оксидів заліза. Сфери застосування залізного купоросу – в якості добрива і отрутохімікату. Розчин для позакореневого добрива роблять з розрахунку 50 г на 10 літрів води. В основному використовується в якості інсектициду для боротьби з комахами шкідниками, проте у високих дозах досить токсичний [14].

Основне використання хлорного заліза (FeCl_3) – видалення домішок з води та очищення стічних вод. Хлорид заліза також є одним з небагатьох хімічних речовин для очищення води, які можуть поглинати запахи. Інформацію про застосування ферум хлориду у якості добрива для рослин не знайдено [15].

Зі стрімким розвитком нанотехнологій наноматеріали все частіше використовуються в промисловості та сільському господарстві. Ефективне використання магнітних наночастинок у галузі захисту рослин – це новий і перспективний підхід. Магнітні наночастинки мають широкий потенціал застосування для захисту рослин та боротьби з хворобами [16].

Нанотехнології, особливо використання наночастинок (НЧ) оксидів заліза – магнетиту, грейгіту, поступово набувають практичного застосування в сільському господарстві та рослинництві. Підвищення ефективності використання води, добрив, гербіцидів і пестицидів за рахунок бурхливого росту коренів та пагонів, модифікування обмінних процесів у рослинах, включаючи процес фотосинтезу, – деякі з наслідків використання наночастинок оксидів заліза в сільськогосподарському секторі. НЧ Fe_3O_4

широко застосовуються в каталізі, магнітних матеріалах, біомедицині, очищенні води та інших галузях [16].

У роботі [17] зазначається, що застосування магнетиту показало позитивний вплив на вегетативний ріст та врожайність перцю в умовах сольового зрошення. Крім того, при застосуванні магнетиту пришвидшився ріст рослин та збільшився вміст мінералів у листках цвітної капусти. Повідомляється, що магнітне поле індукцією 0.096 Тл позитивно вплинуло на кількість квіток та загальний урожай полуниці та гороху. Також було показано, що застосування магнітного поля з магнітною індукцією від 3 до 1000 Гс до насіння томатів збільшило відсоток схожості обробленого насіння приблизно в 1,1–2,8 рази порівняно з необробленим насінням.

У дослідженні [18] повідомляється, що насіння томатів *Lycopersicon esculentum* оброблене магнітним полем з індукцією $B = 100$ Гс демонструє кращі характеристики росту за рахунок його впливу на хімічний склад рослин (підвищення вмісту фосфору) та ґрунту (збільшення концентрації сірки та фосфору), а також шляхом активації рослинних ферментів, таких як супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза та аскорбатпероксидаза.

У статті [Ошибка! Источник ссылки не найден.] досліджувався розподіл наночастинок магнетиту (НЧ Fe_3O_4), покритих лимонною кислотою у тканинах сої та люцерни, та їх вплив на ріст рослин. Результати свідчать про те, що МНЧ Fe_3O_4 (0,05 мг/мл та 0,1 мг/мл) розміром приблизно 14 нм легко поглинаються, але не переміщуються (соя) або майже не переміщується (люцерна) від коренів до пагонів. Додавання джерела заліза періодичністю кожні 2 дні призвело до збільшення довжини коренів люцерни приблизно на 50% незалежно від концентрації магнетиту; до значного збільшення поверхні коренів (у сої приблизно на 50% за обох доз МНЧ – 0,05 мг/мл та 0,1 мг/мл; у люцерни при додаванні МНЧ 0,05 мг/мл – на 63%, МНЧ 0,1 мг/мл – на 97%); маса пагонів також значно зросла приблизно на 40% для обох рослин незалежно від доданої концентрації Fe_3O_4 . Спостерігалось підвищення вмісту хлорофілу в рослинах (максимальне збільшення у порівнянні з контролем

спостерігалось для люцерни – 26% (МНЧ 0,05 мг/мл), для сої обидві концентрації МНЧ – на 40%). Єдиним антиоксидантним ферментом, на який значно вплинула обробка магнетитом, була каталаза, активність якої збільшилася в коренях та пагонах обох видів. Однак жодні симптоми окисного стресу, такі як підвищене перекисне окислення ліпідів або накопичення активних форм кисню, не були виявлені в жодному з цих бобових. Крім того, не було виявлено жодних доказів пошкодження клітинної мембрани або загибелі клітин. Результати показують, що покриті лимонною кислотою НЧ Fe_3O_4 не токсичні для сої та люцерни; натомість вони поведуться як стимулятори росту рослин.

Результати дослідження [20] показали, що НЧ Fe_3O_4 розміром 25 нм та у концентраціях – 0,001 мг/мл, 0,002 мг/мл та 0,004 мг/мл впливають на морфологію рослин люцерни серпуватої (*Medicago falcata*). Крім того, концентрації МНЧ 0,002 мг/мл та 0,004 мг/мл значно збільшили довжину кореня з $5 \pm 0,74$ см (контроль) до $6,27 \pm 1,51$ см (25%) і $6,6 \pm 1,6$ см (32%) відповідно. Довжина пагонів змінювалася від 3,25 см для контролю до 3,35 см для зразків, оброблених 0,004 мг/мл МНЧ. На загальну довжину зразка найбільше впливала концентрація МНЧ 0,004 мг/мл ($9,95 \pm 1,09$ см) порівняно з контролем ($8,25 \pm 0,79$ см). На кількість листків суттєво впливали всі досліджені концентрації МНЧ. Контрольні зразки рослин мали приблизно 7 листків на зразок, тоді як зразки рослин, вирощені з різними концентраціями МНЧ, коливалися від 10 листків (0,004 мг/мл) до 11 листків (0,001 мг/мл). НЧ Fe_3O_4 підвищували рівень хлорофілу у всіх оброблених рослинах люцерни серпуватої. Середнє значення флуоресценції хлорофілу зросло з 404,52 нм в контрольних зразках до 784,26 нм, 840,26 нм і 1134,15 нм для концентрацій 0,001 мг/мл, 0,002 мг/мл та 0,004 мг/мл відповідно.

1.2.1. Механізм взаємодії рослин та штучних магнітних наночастинок

У дослідженні [21] описано можливий механізм взаємодії магнітних наночастинок та рослин. Наночастинки можуть проникати в тканини рослин як через корінь, так і через надземні частини. Для поглинання та транслокації наночастинок повинні пройти через різні хімічні та фізіологічні бар'єри. Коли МНЧ взаємодіє з рослиною, клітинна стінка є першим бар'єром, який вона повинна подолати. Стінка рослинної клітини – це структура, яка складається з целюлози, що дозволяє проникати дрібним частинкам (приблизно до 20 нм) і обмежує більші. Проте НЧ можуть провокувати утворення більших пор у клітинній стінці пошкоджуючи плазматичну мембрану, що додатково полегшує проникнення великих наночастинок до цитозолу. З клітинної стінки наночастинок можуть переміщатися шляхом ендоцитозу (частинки розміром до 80 нм), через утворені пори (до 10 нм), за допомогою білків-переносників (аквапорини) (до 1 нм) або через плазмодесми (до 40 нм). Варто відзначити, що наявність симбіотичних бактерій, грибів, водоростей також впливає на поглинання МНЧ рослинами.

Після того, як наночастинок проникають в рослину, є два шляхи для їх переміщення через тканини: апопластичний та симпластичний. Апопластичний транспорт відбувається за межами плазматичної мембрани через позаклітинні простори, клітинні стінки сусідніх клітин і судини ксилеми, тоді як симпластичний транспорт включає переміщення води та речовин між цитоплазмою сусідніх клітин через спеціалізовані структури – плазмодесми та ситоподібні пластини. Апопластичний шлях важливий для радіального переміщення всередині рослинних тканин і дозволяє наночастинкам досягати центрального циліндра кореня і судинних тканин для подальшого руху вгору по надземній частині. Потрапляючи всередину центрального циліндра, наночастинок можуть рухатися до надземної частини через ксилему [21]

Наночастинок можуть переміщатися до різних тканин рослин, включаючи стебла, листя, черешки, квіти та плоди. Хоча широкомасштабний розподіл наночастинок у рослинах ще не до кінця досліджений, існує кілька тенденцій [22]:

- наночастинки у пагонах розташовані переважно поблизу судинної тканини або всередині неї;
- наночастинки меншого розміру з більшою ймовірністю переміщуються в надземні частини, що знаходяться далі від коренів, ніж більші;
- концентрація наночастинок, накопичених у листі, більша, ніж у стеблах.

У гарбуза (*Cucurbita maxima*), обробленого наночастинками Fe_3O_4 діаметром 20 нм, спостерігалася транслокація магнітних наночастинок у різних частинах рослини. Контрольні рослини не виявляли магнітного сигналу, тоді як більшість досліджуваних тканин демонстрували різні ступені намагніченості, що вказують на різну кількість магнітних наночастинок. Це проілюстровано на рис. 1.3, де на схемі рослини гарбуза показані різні рівні намагніченості в різних місцях відбору проб, виміряні в одиницях 10^{-3}E . Можна помітити сильні магнітні сигнали в стеблі безпосередньо біля коренів та у всіх аналізованих листках незалежно від їх відстані від коренів. Слабший магнітний сигнал зафіксовано у тканинах стебла вище від кореня. Ці результати є доказом того, що магнітні наночастинки можуть поглинатися рослинами гарбуза та транслокуватися в різних тканинах [22].

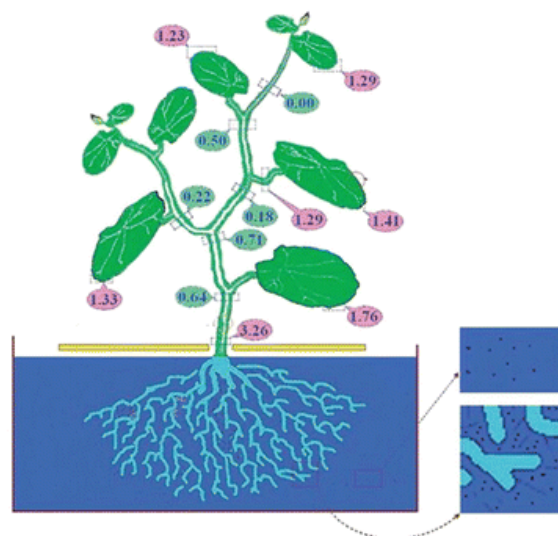


Рис. 1.3. Схематичне зображення поглинання та розподілу наночастинок Fe_3O_4 у різних тканинах гарбуза [22]

Отже, МНЧ позитивно впливають на сільськогосподарські рослини і призводять до [23].

- прискорення проростання насіння;
- збільшення довжини пагонів і коренів;
- збільшення урожайності;
- збільшення вмісту метаболітів;
- збільшення вегетативної біомаси проростків і рослин.
- забезпечення стійкості рослин до різних хвороб і абіотичних стресів.

Механізм такого впливу ще точно не встановлений і наразі досліджується. Це може бути пов'язано з впливом МНЧ на кілька біохімічних параметрів, пов'язаних з ростом і розвитком рослин, наприклад [23]:

- посилення експресії генів, що реагують на стрес, і посилення експресії генів мРНК, що призводить до синтезу білків;
- посилення експресії генів, що регулюють антиоксидантну систему;
- підвищення швидкості фотосинтезу;
- покращення поглинання поживних речовин;
- підвищення ефективності використання азоту.

МНЧ можуть спричиняти токсичні ефекти по відношенню до рослин, якщо додавалися у високих концентраціях. Як вже зазначалося вище, наночастинки у пагонах розташовані переважно поблизу судинної тканини або всередині неї і накопичуються в більших кількостях в стеблі безпосередньо біля коренів (про що свідчать сильні магнітні сигнали в стеблах гарбуза). Закупорення провідних тканин може ускладнювати транспорт поживних речовин від коренів до надземної частини рослини, що може провокувати токсичні ефекти. Саме тому важливо підбирати концентрації МНЧ для обробки рослин індивідуально в залежності від розміру провідних елементів. У табл. 1.1 наведено розміри ситоподібних отворів деяких рослин.

Діаметри ситоподібних отворів у різних рослин [24, 31]

Назва рослини	Середній діаметр ситоподібних отворів \pm SE, мкм
Томат звичайний (<i>Solanum lycopersicum</i>)	0,61 \pm 0,15
Гарбуз велетенський (<i>Cucurbita maxima</i>)	2,54 \pm 0,86
Квасоля звичайна (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	0,73 \pm 0,24
Рицина (<i>Ricinus communis</i>)	0,52 \pm 0,14
Бамбук (<i>Phyllostachys nuda</i>)	0,61 \pm 0,13
Тютюн справжній (<i>Nicotiana tabacum</i>)	0,35
Різушка Таля (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	0,26
Соя <i>Glycine max</i>	0,41

Отож, останні дослідження демонструють позитивний вплив застосування наночастинок магнетиту у якості добрива при вирощуванні рослин. Додавання магнетиту сприяє посиленню росту, збільшенню біомаси, подовженню пагонів та коренів рослин та не провокує токсичних ефектів, якщо застосовується в правильній концентрації та відповідного розміру МНЧ. Проте, визначення оптимальних концентрацій МНЧ для кожного виду рослин є ключовим фактором на який варто зважати. Тому є потреба у подальших дослідженнях.

1.3. Біогенні магнітні наночастинок в рослинних організмах

Нанокристали біологічного магнетиту (Fe_3O_4) та маггеміту ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) широко розповсюджені при низькій щільності концентрації у багатьох тканинах тварин та рослин [32]. Біомінералізація магнетиту була вперше виявлена в 1962 році Хайнцем Ловенштамом у зубах хітонів (морських молюсків класу *Polyplacophora*), де вона відбувалася для зміцнення основних бічних зубів, які тварини використовують для зіскоблювання ендолітичних

водоростей зі скелястих субстратів. Ловенштаму вдалося продемонструвати біологічне походження цього матеріалу за допомогою різноманітних досліджень радіоізотопного відслідковування та детального дослідження ультраструктури зуба. До цього відкриття вважалося, що магнетит утворюється лише в магматичних або метаморфічних породах під високими температурами та тиском [32].

Згодом в 1975 році Блейкмор відкрив магнітотаксисні бактерії, які зараз представляють найбільш інтенсивно досліджувану біомагнітну систему. Магнітотаксисні бактерії утворюють гетерогенну групу грамнегативних прокаріотів з морфологічним різноманіттям, які мають здатність синтезувати (50-100 нм) внутрішньоклітинні феримагнітні кристалічні частинки, що складаються з магнетиту (Fe_3O_4) або грейгіту (Fe_3S_4), які вкриті внутрішньоклітинною фосфоліпідною мембранною вакуолею, утворюючи структури, які називаються "магнітосомами". Ланцюжки магнітосом діють як стрілки компаса, які пасивно змушують бактеріальні клітини вирівнюватися з магнітним полем Землі і дозволяють їм шукати мікроаерофільну зону.

Біогенні МНЧ Fe_3O_4 також було виявлено у медоносних бджолах, голубах-самонавідниках, рибах і рослинах [32]. Хоча експерименти з імпульсним перемагнічуванням показують, що деякі з цих частинок беруть участь у здатності тварин виявляти геомагнітне поле, для магніторецепції потрібно лише кілька клітин, що містять магнетит. Проте, магнетит присутній практично у всіх в тканинах і органах тварин, щоб магніторецепція могла бути єдиною функцією МНЧ [33].

Спеціалізовані дослідження гірських порід з використанням надчутливих надпровідних квантово-інтерференційних магнітометрів (SQUIDS) у чистих лабораторних середовищах дозволяють виявити пікограмні кількості однодоменого магнетиту у зразках тканин. Стандартні магнітні методи демонструють, що більшість цих частинок дисперговані у вигляді окремих частинок або невеликих згустків, а не в концентрованих агрегатах, таких як зуби хітона. Типові концентрації магнетиту в тканинах

тварин, виведені з цих досліджень, коливаються від 1 до 100 нг/г, з розмірами частинок у діапазоні розмірів 10–100 нм, де вони були вилучені та досліджені за допомогою TEM (трансмісійний електронний мікроскоп) з високою роздільною здатністю [32].

У дослідженні [34] за допомогою методів порівняльної геноміки було проведено вирівнювання амінокислотних послідовностей білків групи Mat, без яких біомінералізація БМН у *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1 неможлива, з геномами рослин, розшифрованими більш ніж на 50%. Всі досліджувані види (55 рослин) виявилися потенційними продуцентами внутрішньоклітинних кристалічних БМН. Крім того, встановлено, що функції білків родини Mat (білків біомінералізації БМН) і функції гомологічних білків у рослин збігаються. Це підтверджує гіпотезу походження білків біомінералізації від спільного предка. За допомогою методів АСМ та МСМ проводилося визначення БМН у зразках рослин, результати показали, БМН у рослинах утворюють ланцюги і є частиною транспортної системи.

Ланцюги БМН є складовими клітин, які утворюють стінки судинної тканини – флоєми, що містить ситоподібні трубки. Одна і та ж локалізація ланцюгів БМН (а саме, у стінці судинної тканини, флоєми) у різних органах вищих рослин не може бути випадковою, враховуючи, що генно-інженерний механізм біосинтезу БМН з'явився на початку еволюції. Така локалізація БМН свідчить про те, що ланцюги БМН мають спільні метаболічні функції в різних органах рослин. У даному дослідженні також перевірялась локалізація БМН в різних частинах рослини *Nicotiana tabacum*. Визначено, що БМН розташовані на мембрані флоєми ситовидних трубок в листі, листковій жилці та коренях тютюну (рис. 1.4.). Флоєма – це судинна тканина рослин, яка утворює мережу ситовидних трубок, через які здійснюється транспортування органічних речовин, синтезованих листям під час фотосинтезу, до всіх органів рослини, на відміну від судинної тканини рослин – ксилеми, яка забезпечує транспортування води та мінеральних речовин із ґрунту.

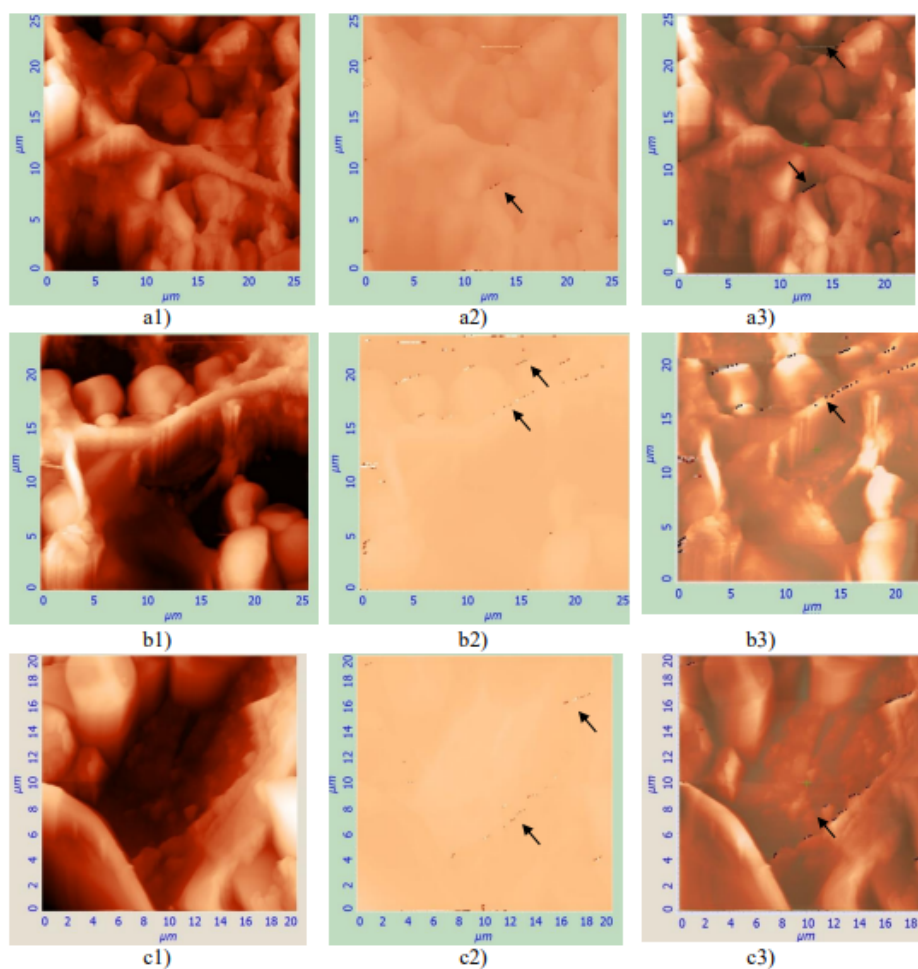


Рис. 1.4. Скануюча зондова мікроскопія *Nicotiana tabacum*: a1) – АСМ зображення листка тютюну, a2) – МСМ зображення листка тютюну (БМН показано стрілочками), a3) – накладені АСМ і МСМ зображення листка тютюну (стрілочками показано пори ситоподібної трубки); б1) – АСМ зображення жилки листка тютюну, б2) – МСМ зображення жилки (БМН показано стрілочками), б3) – накладені АСМ і МСМ зображення жилки листка тютюну (стрілочками показана мембрана ситовидних трубок); в1) – АСМ зображення кореня тютюну, в2) – МСМ зображення кореня тютюну (БМН показано стрілочками), в3) – накладені АСМ і МСМ зображення кореня тютюну (стрілочками показано первинна флоема кореня) [34]

Методами АСМ і МСМ також було досліджено ситоподібні трубки гороху *Pisum sativum*, що вирощувався на середовищах без додавання штучних магнітних наночастинок та з додаванням МНЧ у концентраціях 0,1 мг/мл та 1

мг/мл. Результати показали у рослин дослідних груп кількість та розміри наночастинок, а також кількість ланцюжків є більшими в порівнянні з контрольною групою рослин. Це може бути доказом того, що штучний магнетит може вбудовуватися в ланцюжок біогенних магнітних наночастинок або утворювати додаткові ланцюги. Утворення ланцюгів штучних наночастинок магнетиту, паралельних ланцюжку БМН, призводить до зміни просторового розподілу магнітостатичних полів поблизу природних БМН. При значному накопиченні ланцюжків штучних наночастинок магнетиту вони можуть служити магнітним ядром і спричиняти концентрацію ліній магнітного поля БМН в матеріалі ядра, що корелює з результатами росту рослин [34].

Отож, наявність біогенних магнітних наночастинок була встановлена експериментальним шляхом у рослин тютюну та гороху та методами порівняльної геноміки в інших рослин. БМН локалізуються на ситоподібних трубках провідної тканини рослин. Це узгоджується з тим, що БМН у грибів, як і у тварин, людини та ряду мікрорганізмів утворюють ланцюги та є частиною транспортної системи. Прородно ситнезований магнетит в рослинах може взаємодіяти зі штучним, шляхом добудовування останнього в ланцюги або формування окремих паралельних ланцюгів. Така взаємодія БМН та штучного магнетиту може також впливати на ріст та розвиток рослин.

1.4. Вплив важких металів на ріст і розвиток рослин

Важкі метали – це група хімічних елементів з властивостями металів (включаючи металоїди) зі значною атомною масою та густиною. До важких металів відносять близько 40 хімічних елементів, атомна маса яких більше 50 атомних одиниць (від ванадію) [35].

Важкі метали надходять у біоту ґрунту з різних джерел – природних та антропогенних. Основні метали, такі як кобальт (Co), мідь (Cu), залізо (Fe), марганець (Mn), молібден (Mo), нікель (Ni) та цинк (Zn), відіграють корисну роль у рості та розвитку рослин. На оптимальному рівні ці корисні елементи

покращують рівень живлення рослин. Рослини поглинають важкі метали у вигляді розчинних компонентів або розчиняють їх за допомогою корневих ексудатів [36].

Більшість сільськогосподарських ґрунтів у всьому світі забруднені важкими металами, такими як кадмій, миш'як, ртуть, свинець, хром та багато інших. Висока концентрація важких металів токсична для всіх форм життя, від мікроорганізмів до людини. Важкі метали цитотоксичні при низьких концентраціях і можуть призвести до різних захворювань у людей, зокрема до раку, хвороб Альцгеймера та Паркінсона, атеросклерозу та інших. Токсичні метали можуть накопичуватися в організмі при споживанні із забрудненою їжею через харчовий ланцюг і становити небезпеку для здоров'я живих організмів. Висока концентрація біодоступних форм важких металів викликає утворення вільних радикалів та активних форм кисню в клітинах рослин. Після цього відбувається неконтрольоване окислення та ініціювання ланцюгової реакції з клітинними біомолекулами, такими як нуклеїнові кислоти, білки та ліпіди, що спричиняє окислювальний стрес та пошкодження клітин. Тому чутливі рослини, що ростуть на ділянках забруднених важкими металами, демонструють змінений метаболізм, зниження росту, зменшення виробництва біомаси та зниження врожаю. Щоб уникнути наслідків токсичності важких металів, толерантні рослини розробили численні механізми, які активуються при впливі важких металів. Дві широкі стратегії щодо толерантності до важких металів включають секвестрацію/накопичення токсичних важких металів у клітинному компартменті, наприклад вакуолі або апопласті, та детоксикацію, тобто перетворення в нетоксичні форми [37, 38].

Високі та швидкі темпи урбанізації та індустріалізації збільшили кількість забруднюючих речовин у навколишньому середовищі. Кадмій і цинк є двома найпоширенішими токсичними важкими металами, що викидаються в навколишнє середовище. Свинець є одним з найпоширеніших елементів у ґрунті і, як повідомляється, обмежує проростання деяких рослин. Ртуть є одним з найбільш токсичних елементів для всіх організмів, викликає рани та

фізіологічні порушення у рослин. Рослини, вирощені на ґрунтах з високим вмістом кадмію, можуть мати видимі симптоми (наприклад, хлороз, зменшення росту коренів і стебел, а високі дози можуть спричинити навіть загибель). Високий вміст кадмію токсичний і обмежує врожайність більшості рослин. Накопичення кадмію в клітинах рослин викликає перекисне окислення ліпідів, інактивує ферменти, що беруть участь у фіксації CO₂, і порушує обмін азоту та сірки, що спричиняє загальне пошкодження тканин, уповільнення росту, хлороз, епінастію листя, зміну структури хлоропластів та інгібування проростання пилку та росту трубок [39].

Після того, як метали потрапляють у навколишнє середовище, вони можуть зберігатися протягом тривалого часу залежно від типу металу та ґрунту. Процеси ремедіації, які використовуються для очищення забруднених важкими металами ділянок, можуть бути *in-situ* (на місці) або *ex-situ* (поза місцем), а також біологічними, фізичними та хімічними. Основні режими обробки, що використовуються для деградації важких металів – коагуляція, хімічне осадження, електродіаліз, випаровування, флотація, флокуляція, іонний обмін, нанофільтрація, зворотний осмос, ультрафільтрація тощо, а також фізико-хімічні методи, такі як екстракція, стабілізація, іммобілізація, промивання ґрунту тощо. Ці методи, навіть якщо вони ефективні, досить дорогі через високі вимоги до енергії та хімічних реагентів, крім того утворюються вторинні шкідливі кінцеві продукти. Ефективним способом видалення токсичних металів із навколишнього середовища та стабілізації екосистеми є використання місцевих мікроорганізмів із механізмами, здатними розкладати такі важкі метали, або генетично створених мікроорганізмів для очищення забрудненого середовища шляхом перетворення токсичних важких металів у нешкідливі форми, а також використання рослин толерантних до важких металів [40, **Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Біоремедіація – це метод, який використовується для видалення забруднень навколишнього середовища з екосистеми. Він опосередкований

біологічними механізмами, властивими мікроорганізмам і рослинам, для знищення небезпечних забруднювачів і відновлення екосистеми до початкового стану. Основні принципи біоремедиації включають зниження розчинності цих забруднювачів навколишнього середовища шляхом зміни рН, окислювально-відновних реакцій та адсорбції забруднювачів із навколишнього середовища.

Механізм біоремедиації мікроорганізмами [38]:

- ізоляція токсичних металів компонентами клітинної стінки або внутрішньоклітинними білками та пептидами, що зв'язують метали, такими як металотіонеїни і фітохелатини, а також сполуки, такі як бактеріальні сидерофори, які переважно є катехолатами, на відміну від грибів, які виробляють гідроксаматні сидерофори;
- зміна біохімічних шляхів для блокування поглинання металів;
- перетворення металів у нешкідливі форми за допомогою ферментів;
- зменшення внутрішньоклітинної концентрації металів за допомогою точних систем відкачування (активний транспорт).

Фіторемедиація – це процес очищення ґрунтів від органічних забруднювачів і важких металів за допомогою рослин і ризосферних мікроорганізмів. Це недорогий, екологічно чистий та ефективний засіб для відновлення забрудненого важкими металами середовища. Рослини, що використовуються для фіторемедиації, є гіперакумуляторами з дуже високим потенціалом накопичення важких металів і низькою ефективністю накопичення біомаси, а також негіперакумуляторами, які мають меншу екстракційну здатність, ніж гіперакумулятори, але значно вищий загальний вихід біомаси і є швидкозростаючими видами [38].

Відомо декілька процесів видалення важких металів з ґрунту за допомогою рослин [38]:

- фітоекстракція передбачає поглинання та переміщення важких металів з ґрунту через коріння рослин у надземні компоненти рослин на основі механізму гіперакумуляції;

- фітофільтрація може здійснюватися в будь-якій із трьох форм – ризофільтрації (використання коренів рослин), бластофільтрації (використання розсади) та каулофільтрації (використання вирізаних пагонів рослин). Це очищення забрудненого середовища за допомогою коріння рослин або розсади від водних відходів;
- фітостимуляція – це посилення мікробної активності для розщеплення органічних забруднень ексудатом з коренів рослин. Етилен у низькій концентрації стимулює подовження коренів, але при високих рівнях пригнічує поділ клітин і синтез ДНК;
- фітостабілізація передбачає використання коренів рослин для поглинання забруднюючих речовин із ґрунту та утримання їх у ризосфері, а також їх відділення та стабілізація, роблячи їх нешкідливими та запобігаючи поширенню забруднюючих речовин у навколишньому середовищі;
- фітоволатилізація – видалення рослинами забруднювачів ґрунту, які легко перетворюються на пару і, отже, викидаються в атмосферу. Рослини тютюну мають здатність накопичувати високотоксичну метилртуть із забруднених Hg ділянок і перетворювати її на менш токсичну елементарну ртуть у леткій формі, яка виходить через листя в атмосферу.
- фітодеградація – це розщеплення органічних забруднювачів до нешкідливих форм за допомогою рослинних ферментів. Специфічні ферменти, такі як нітроредуктази та дегалогенази, використовуються рослинами для розщеплення органічних забруднень;
- ризофільтрація – це видалення токсичних речовин або забруднюючих речовин з підземних вод шляхом фільтрації через коріння рослин.

Метали, що володіють окисно-відновною активністю викликають окислювальний стрес у рослин, який порушує клітинний гомеостаз, впливає на структуру та функцію ДНК, спричиняє пошкодження хлоропластів та додаткових пігментів, і як результат клітина руйнується внаслідок посиленого синтезу виробництва АФК. Окислювальний стрес опосередковано генерується металами, що не володіють окисно-відновною активністю за допомогою кількох механізмів, які стримують антиоксидантні ферменти або індукують ферменти, що продукують АФК.

Першою лінією захисту від важких металів у рослинах є використання фізичних бар'єрів, таких як морфологічні структури, товста кутикула, біологічно активні тканини, такі як трихоми та клітинні стінки, а також мікоризний симбіоз. Якщо іони металів долають ці бар'єри і потрапляють у тканини та клітини рослини, рослинні клітини зменшують небажану дію вільних радикалів, виробляючи ферментні антиоксиданти, такі як супероксиддисмутаза, каталаза і глутатіонредуктаза, і неферментні антиоксиданти, такі як аскорбат, глутатіон, алкалоїди, токофероли тощо, які видаляють вільні радикали. Захисні механізми, які використовуються рослинами, включають: вироблення ферменту фітохелатинсинтази, який легко зв'язується з важкими металами, виробництво металотіонеїнів і вироблення проліну, який діє як сумісний і метаболічний осмоліт, компонент клітинної стінки, поглинач вільних радикалів, антиоксидант і стабілізатор макромолекул. Накопичення та ремедіація металів рослиною проходить у 4 етапи: поглинання металів корінням, транспортування металів від коренів до інших частин рослини, комплексоутворення з хелатуючими молекулами та компартменталізація у вакуолі [38].

Тютюн (*Nicotiana tabacum*) – товарна культура, що відповідає критеріям фітоекстракції. Він швидко росте, легко збирається, генерує відносно високий вихід біомаси і може накопичувати високий рівень Cd в тканинах. Рівень Cd у більшості рослинних тканин зменшується в порядку: корінь > листя > плід > насіння; однак у тютюна концентрація вища в листках,

ніж в інших частинах рослини. Порівняно з іншими культурами тютюну здатний накопичувати більші концентрації Cd. В результаті одного експерименту було встановлено, що концентрація Cd в листі тютюну досягала 86,9 мг/кг і 271,5 мкг, коли додавалися розчини з концентраціями CdCl₂ 0,25 мг/л і 1,0 мг/л, відповідно [41].

У дослідженні [43] додавали розчини важких металів до рослин *Nicotiana tabacum*. Для визначення здатності *Nicotiana tabacum* проростати у присутності або CdCl₂, або ZnSO₄ насіння пророщували на чашках Петрі з різними концентраціями CdCl₂ або ZnSO₄, контролюючи ріст проростків. Відбувалися зміни розміру (зменшення) проростків (2-тижневих) за присутності 0,25-мМ CdCl₂ та 0,5-мМ ZnSO₄. У присутності 0,5-мМ CdCl₂ спостерігалось уповільнення росту проростків. Насіння тютюну не проростало в концентраціях CdCl₂ вище 0,5-мМ.

1.5. Вплив магнітних наночастинок на послаблення токсичного впливу важких металів на рослини

Важкі метали (ВМ) можуть поглинатися та трансформуватися магнітними наночастинами, що призводить до зниження рухливості та біодоступності ВМ. Наприклад, НЧ Fe₃O₄ знижують рухливість Cd та інших ВМ у ґрунті. Більшість НЧ накопичуються в клітинних стінках, зв'язуються з ВМ і роблять їх недоступними, утворюючи комплекси. Ці комплекси адсорбуються на поверхні клітини, тим самим перешкоджаючи міграції ВМ у рослинах та знижуючи їх біологічну активність. Крім того, органічні кислоти, що накопичуються в клітинних стінках коренів і листя рослин, можуть утворювати хелатні комплекси з ВМ, зменшуючи пошкодження рослин. Показано, що виробництво структурних захисних агентів посилюється за рахунок додавання МНЧ. Застосування НЧ Fe₃O₄, що володіють антиоксидантною ферментативною активністю може підвищити здатність рослин знижувати АФК, в кінцевому підсумку мінімізувати негативний вплив на ріст культур і втрати врожаю [44].

У роботі [45] досліджувався вплив МНЧ Fe_3O_4 на рослини томатів, вплив стресу спричиненого Cd на розвиток рослин, а також роль МНЧ Fe_3O_4 на зниження цього стресу. Ріст рослин досліджували при концентрації наночастинок Fe_3O_4 0, 10, 20, 50 та 100 мг/л з концентраціями CdCl_2 – 0, 100 або 200 мкМ CdCl_2 . Для вивчення ролі МНЧ Fe_3O_4 у регуляції окислювального стресу у рослин томату в умовах кадмієвого стресу були виміряні специфічні маркери окислювального стресу, такі як МДА (малоновий діальдегід), H_2O_2 і пролін. Обробка Cd збільшила вміст МДА на 421,4% та 409%, H_2O_2 на 202,2% та 184,4%, проліну на 89,9% та 88,2% як у стеблі так і у корені в порівнянні з контролем. Обробка МНЧ Fe_3O_4 покращила показники, оскільки комбінована обробка МНЧ Fe_3O_4 і Cd призвела до збільшення вмісту МДА на 271,4% та 193,3%, вмісту H_2O_2 на 125,7% та 116,8% та на 37,5% та 52,7% вмісту проліну як у пагонах, так і в коренях в порівнянні з контролем. Схожі результати були і з вмістом хімічних елементів – Fe, K, Mg и Ca. При додаванні Cd знизився вміст Fe на 123,3% та 110,5%, вміст K на 132,2% та 217,5%, вміст Mg на 182,3% та 518,7%, вміст Ca на 246,5% та 252,3% як у пагонах так і в коренях. Хоча додавання МНЧ Fe_3O_4 збільшувало вміст поживних елементів у пагонах і коренях, комбінована обробка МНЧ Fe_3O_4 і CdCl_2 значно пом'якшувала вплив кадмію на зниження поглинання поживних елементів, тому зниження вмісту Fe склало всього 26,4 % та 29%, вміст K 44,4% та 90,8%, вміст Mg 21,1% та 77,5%, вміст Ca 37,4% та 54,3% у пагонах та коренях відповідно. Результати цього дослідження показують, що попередня обробка МНЧ Fe_3O_4 20 мг/л була корисною для захисту рослин томатів від кадмієвого стресу. Представлено три можливі механізми зниження стресу спричиненого Cd за рахунок магнітних наночастинок: 1) зменшення накопичення кадмію в пагонах і коренях; 2) зниження окислювального стресу через зниження накопичення Cd; 3) регулювання всмоктування поживних речовин, які захищають від окислювального стресу.

Взаємодія метал-мікроорганізм – це нова технологія, яку можна використовувати для зниження стресу спричиненого ВМ у рослин. Відомо, що

деякі ризосферні мікроорганізми відіграють важливу роль у боротьбі зі стресом ВМ у рослин. Вони можуть накопичувати, трансформувати або детоксикувати ВМ. Загалом, користь від таких мікроорганізмів може мати величезний вплив на здоров'я рослин. Асоціації рослин і мікроорганізмів, спрямовані на боротьбу зі стресом спричиненим ВМ, можуть забезпечити інший вимір існуючих видів фітореMediaції та ризореMediaції [46].

В роботі [44] досліджували ризосферу рослин тютюну і визначили, що домінуючими відділами мікроорганізмів, які присутні в ризосфері тютюну є *Actinobacteria* (27.7%) та *Proteobacteri* (37.7%). В менших кількостях було виявлено: *Chloroflexi* (7.0%), *Acidobacteria* (9.0%), *Planctomycetes* (5.3%), *Gemmatimonadetes* (4.0%), *Firmicutes* (5.7%) та *Bacteroidetes* (4.3%). Дослідження [48] показало, що *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, and *Actinobacteria* є найбільш поширеними відділами бактерій наявних в ризосфері тютюну і становлять приблизно 56% бактеріому.

У роботі [49] серед виявлених представників бактеріальних відділів здійснено пошук гомологів білків біомінералізації БМН, шляхом вирівнювання амінокислотних послідовностей білків без яких не можлива біомінералізація БМН в *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, з білками досліджуваних мікроорганізмів. Результати показали, що усі досліджувані мікроорганізми є продуцентами кристалічних внутрішньоклітинних БМН.

Отже, одним з механізмів зменшення токсичного впливу важких металів на рослини є сорбція важких металів на поверхні МНЧ та зменшення їх біодоступності та рухливості. Також, мікроорганізми ризосфери тютюну є потенційними продуцентами БМН, а отже володіють здатністю до біомінералізації. Тому іншим можливим механізмом зменшення токсичного впливу важких металів на рослини тютюну може бути біомінералізація важких металів мікроорганізмами ризосфери тютюну.

2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Матеріали та методи

2.1.1. Методика приготування магнітної рідини

Синтез магнітних наночастинок проводили шляхом співосадження солей Fe^{2+} та Fe^{3+} концентрованим розчином аміаку (реакція Елмора):



Отже, для реакції необхідно взяти розчини солей у співвідношенні $\text{Fe}^{3+} : \text{Fe}^{2+} = 2:1$, для отримання магнетиту наступного складу (31% FeO – вюстит і 69% $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ – магеміт). Отриманий у результаті реакції магнетит зазвичай має розміри 2-20 нм.

Для синтезу магнетиту використовували такі солі – заліза (III) хлорид гексагідрат ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), заліза (II) сульфат гептагідрат ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 25%-ний водний розчин аміаку NH_4OH (гідроксид амонію), та натрій олеїновокислий – для стабілізації поверхні синтезованих частинок для запобігання агрегації частинок [50].

Синтез магнітних наночастинок виконували за наступною методикою [50]:

1. Розчиняли в 200 мл дистильованої води при нагріванні ($70-80^\circ\text{C}$) і перемішуванні 10 г солі тривалентного заліза і 5 г солі двовалентного заліза.
2. Отриманий розчин фільтрували для відділення механічних домішок.
3. В чисту склянку наливали 50 мл розчину аміаку (під витяжною шафою). До розчину солей заліза зі швидкістю одна крапля в секунду додавали 50 мл водного розчину аміаку та інтенсивно перемішували. Спостерігалось утворення суспензії чорного кольору.

4. По закінченню реакції додавали 100 мл дистильованої води, розмішували суспензію і на 30 хв. ставили на постійний магніт, відмивання проводили близько 5 разів до досягнення рН \approx 7.

5. Далі надосадову рідину зливали на 2/3, а суспензію переносили на фільтрувальний папір. Магнітні наночастинки з фільтру переносили в порцелянову чашку, додавали 3,75 г олеат натрію, нагрівали при 80 °С та ретельно перемішували до отримання субстанції, схожої на «патоку».

6. Охолоджували «патоку» до кімнатної температури і вносили в неї 25-30 мл дистильованої води та центрифугували при 5 тис. rpm приблизно 5 хв для осадження великих частинок. Отриману надосадову рідину зливали в флакони з непрозорого темного скла.

2.1.2. Методика вирощування *Nicotiana tabacum*

Матеріали та обладнання: насіння тютюну сорт «Меріленд», розчини магнетиту з концентраціями – 0,05 мг/мл, 0,1 мг/мл, 2 касети для вирощування рослин, ґрунт універсальний, вода відстояна, 70% розчин етанолу, пластиковий контейнер, ватні диски, 2 фотосвітільники для рослин.

Методика вирощування *Nicotiana tabacum*:

- 1) 80 насінин тютюну було простерелізовано 70% розчином етанолу та промито дистильованою водою декілька разів;
- 2) насіння *Nicotiana tabacum* пророщували на вологих ватних дисках за кімнатної температури (20-22 °С) в умовах природного та штучного освітлення (15000 люкс) (рис.2.1.);



Рис. 2.1. Пророщене насіння тютюну «Меріленд» на ватному диску

- 3) оприскування проводилося за допомогою пульверизатора, насіння та ватні диски повинні постійно бути вологими;
- 4) насіння пророщувалося до тих пір, поки розмір дозволяв провести висадку у ґрунт. 60 паростків висаджували по одному в окремий відсік касети (рис. 2.2.);

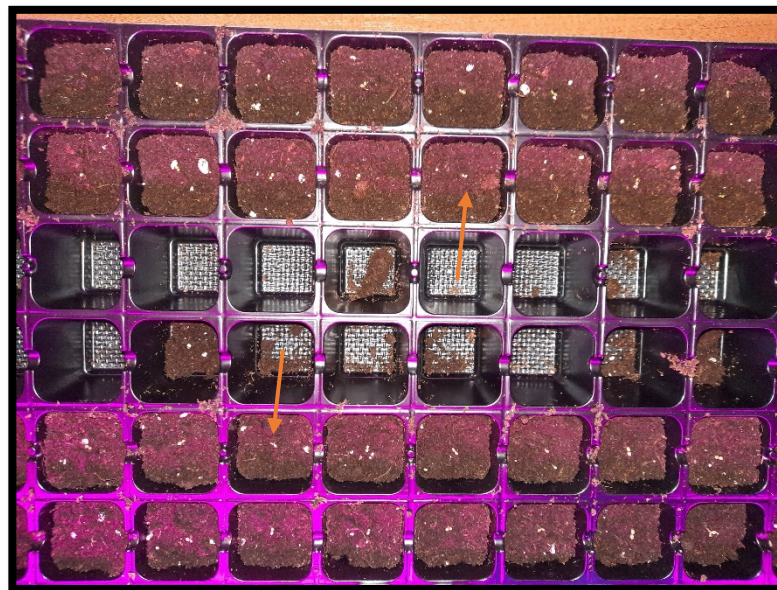


Рис. 2.2. Паростки тютюну після висадки в ґрунт (показано стрілками на рисунку)

- 5) 1 раз на 3 дні всі рослини поливали відстояною водопровідною водою та оприскували з пульверизатора, на висоті 15-20 см від рослин було встановлено 2 фотосвітільники;

- б) через 4 тижні після висадки в ґрунт рослини було розділено на 3 групи (20 рослин кожна) – контроль, дослід №1, дослід №2 (рис. 2.3.); 1 раз на 3 дні рослини двох дослідних груп підкоренево поливали розчинами магнетиту в концентраціях – 0,05 мг/мл та 0,1 мг/мл. Внесена кількість розчину – 2 мл під кожен корінь.



Рис. 2.3. Рослини *Nicotiana tabacum* перед початком додавання магнетиту до двох дослідних груп (28 доба після висадки в ґрунт)

- 7) через кожні 14 днів після початку додавання магнетиту з кожної рослини тютюну відрізали по 1 нижньому листочку для перевірки накопичення заліза у формі окисних сполук за реакцією Перлса.

У табл. 2.1 наведено календарний план вирощування тютюну.

Таблиця 2.1.

Календарний план вирощування тютюну

Дата	Етап експерименту
30.08	Початок пророщування насіння тютюну в пластиковому контейнері на вологих ватних дисках
13.09	Пророщене насіння висаджено в касету для рослин

Продовження таблиці 2.1

11.10	Початок внесення магнітної рідини
25.10	Проведено зняття показників (14 доба росту в присутності магнетиту)
08.11	Проведено зняття показників (28 доба росту в присутності магнетиту)
22.11	Проведено зняття показників (42 доба росту в присутності магнетиту)
28.11	Проведено останній раз зняття показників (48 доба росту в присутності магнетиту)

2.1.3. Визначення наявності заліза за реакцією Перлса

Реакція Перлса – це метод виявлення в гістологічних препаратах пігментів, що містять залізо в формі окисних сполук, базується на утворенні берлінської лазурі при обробці препаратів сумішшю соляної кислоти і розчином жовтої кров'яної солі [52].

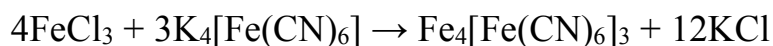
Реакція Перлса використовується для визначення "негемового" заліза в тканинах, такого як феритин та гемосидерин, при цьому не забарвлюється залізо, що зв'язане з порфіриноутворюючим гемом, таким як гемоглобін та міоглобін. Це важливе гістохімічне забарвлення, яке використовується для демонстрації розподілу та кількості відкладень заліза в тканинах печінки, часто у вигляді біопсії. Реакція Перлса може бути використана для виявлення надлишкових відкладень заліза, таких як відкладення гемосидерину (гемосидероз), та в таких станах, як спадковий гемохроматоз [51, 52].

Відкладення заліза в тканинах (у вигляді тривалентного заліза у запасному білку феритині) взаємодіє з розчинним фероціанідом з утворенням нерозчинного берлінського блакитного пігменту. Потім ці утворення можна візуалізувати мікроскопічно як блакитні або фіолетові відкладення [52].

У дослідженні [53] проводили фарбування м'язових тканин мишей для визначення магнітних наночастинок – зрізи тканин інкубували с 5% розчином соляної кислоти та 5% розчином фероціаніду калію протягом 40 хвилин та спостерігали під світловим мікроскопом.

У роботі [54] визначали біорозподіл МНЧ в тканинах селезінки та печінки. Фарбування проводили за Перлсом (суміш 2% HCl і 2% фероціаніду калію) – високочутливим методом визначення заліза в тканинах. Зрізи занурювали в свіжоприготований розчин, нагрівали протягом 10 с при 60°C в мікрохвильовій печі, потім розчин охолоджували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Зневоднені та очищені зрізи тканин висушували протягом ночі при кімнатній температурі та спостерігали під світловим мікроскопом.

Калій гексаціаноферат (II) («жовта кров'яна сіль») в фарбувальному розчині реагує з тривалентним залізом, утворюючи пігмент пруської блакиті. Реакція проходить на рівнянням [55]:



У літературі [56] зазначається, що магнітні наночастинок пруського блакитного кольору володіють унікальними властивостями та біосумісні. Використовуються в біомедицині як лікувальні та діагностичні засоби. У біомедичній візуалізації такі частинки є контрастними речовинами під час фотоакустичної та магнітно-резонансної томографії (МРТ). Вони є хорошим адсорбентом для використання в якості антидотів при отруєннях іонами цезію та/або талію. Реакція отримання таких магнітних наночастинок зображена на рис. 2.4.

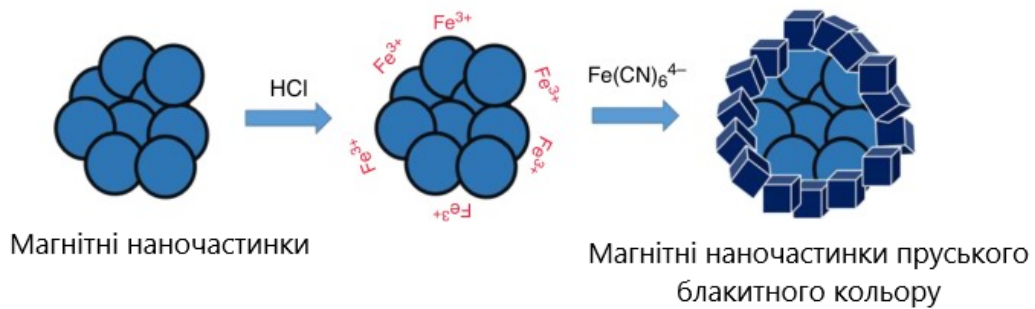


Рис. 2.4. Схема забарвлення магнітних наночастинок у синій колір за реакцією Перлса [56]

Послідовна методика проведення реакції Перлса:

1. Попередньо висушене листя подрібнювали у ступці, просіювали для отримання однорідного порошку.
2. У разі утворення яскравого забарвлення необхідно додати солянокислий спирт для знебарвлення.
3. Отриманий порошок наносили на предметне скельце у краплю дистильованої води та розтирали скляною паличкою до утворення однорідної суспензії. Препарат висушували.
4. Заливали 2% розчином HCl на 30 хв.
5. Додавали в кислоту рівну кількість 2% розчину гексаціаноферату тригідрату (жовтої кров'яної солі), перемішували та фарбували протягом 10 хв. Препарат висушували, фіксували.
6. Промивали дистильованою водою.
7. Висушували.
8. Роглядали препарат у світловий мікроскоп під збільшенням х600.

2.1.4 Методика вирощування *Nicotiana tabacum* з одночасним додаванням розчинів магнетиту та кадмій хлориду

У дослідженні [57] додавали розчини важких металів до досягнення рослинами *Nicotiana tabacum* 6-тижневого віку (0,5-мМ CdCl₂). У присутності

0,5-мМ CdCl_2 спостерігалось уповільнення росту цілих проростків. Насіння тютюну не проростало в концентраціях CdCl_2 вище 0,5 мМ (рис. 2.5).

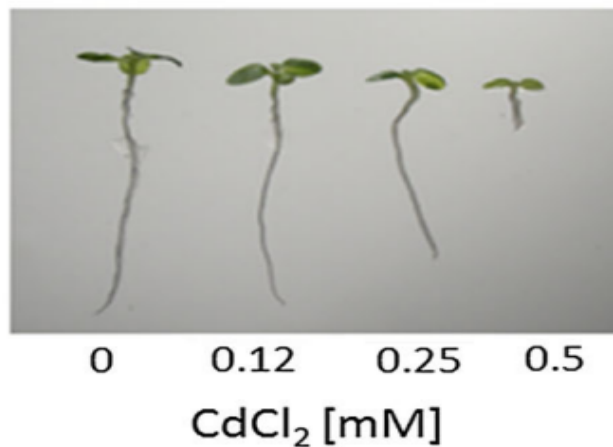


Рис. 2.5. Зовнішній вигляд 6-тижневих рослин *Nicotiana tabacum* вирощених на середовищах з 0,5-мМ CdCl_2 [43]

Оскільки участь в експерименті приймали рослини віком 12 тижнів, тому було вирішено взяти концентрацію CdCl_2 в 10 разів більшу – 5 мМ.

Починаючи з 6 тижня після додавання розчинів магнетиту до двох дослідних груп рослин *Nicotiana tabacum*, розпочато внесення важких металів (5 мМ розчин CdCl_2):

1. З кожної групи рослин – з двох дослідних та контрольної відібрано по 3 рослини приблизно однакового розміру.
2. До рослин щоденно прикоренево додавався 5 мМ розчин $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ протягом 7 днів по 5 мл.

2.2. Результати та обговорення

2.2.1. Аналіз впливу магнетиту на ріст і розвиток рослин *Nicotiana tabacum*

Починаючи з 28 доби після висадки пророщеного тютюну в ґрунт, проводився обрахунок кількості листя у рослин через кожні 2 тижні. У таблиці 2.2 представлено усереднені дані для кожної з дослідних груп.

Таблиця 2.2.

Середнє число листків у рослин тютюну, вирощених на ґрунті з додаванням магнетиту та без його додавання

Досліджувані рослини	Показник	Початок додавання магнетиту	14 доба росту (+ магнетит)	28 доба росту (+ магнетит)	42 доба росту (+ магнетит)	48 доба росту (+ магнетит)
Контрольна група	Кількість листя, шт	4 ± 1	5 ± 1	6 ± 1	7 ± 1	8 ± 1
Дослідна група №1 (0,05 мг/мл)		4 ± 1	6 ± 1	7 ± 1	8 ± 1	9 ± 1
Дослідна група №2 (0,1 мг/мл)		4 ± 1	6 ± 1	6 ± 1	7 ± 1	8 ± 1

Було досліджено фенотипові показники тютюну на 14 добу вирощування з додаванням магнетиту до рослин двох дослідних груп та без додавання до контрольної групи рослин (рис. 2.6 - 2.7)



Рис. 2.6. Зовнішній вигляд рослин *Nicotiana tabacum* (42 доба вирощування в ґрунті без додавання магнетиту)



Рис. 2.7 Зовнішній вигляд рослин *Nicotiana tabacum* (42 доба вирощування в ґрунті, 14 доба додавання магнетиту); на рисунку: верхні 2 ряди – тютюн, з додаванням магнітної рідини з концентрацією 0,1 мг/мл; нижні 2 ряди – тютюн, з додаванням магнетиту з концентрацією 0,05 мг/мл.

З наведених вище рисунків можна побачити, що рослини, до яких прикоренево додавався магнетит у концентраціях 0,1 мг/мл та 0,05 мг/мл мають більшу кількість листків та більший розмір листя у порівнянні з контрольною групою рослин. Маленький розмір рослин на рисунку 2.6 з правого боку касети, найвірогідніше, зумовлений недостатньою кількістю сонячного світла, оскільки даний бік касети був розташований ближче до стінки вікна.

На рис. 2.8 зображено рослини тютюну на 48 день вирощування на середовищах з додаванням магнітних наночатинок у концентраціях 0,1 мг/мл та 0,05 мг/мл та відповідно без них. Варто відмітити, що рослини, які вирощувалися на середовищі з МНЧ $c = 0,05$ мг/мл мають більший розмір листків та їх кількість в порівнянні з контрольним зразком та з дослідом з МНЧ $c=0,01$. Також рослини обох дослідних груп виглядають більш ‘пишними’ за рахунок ближчого розміщення листків на стеблах в порівнянні з рослинами контрольної групи.



Рис. 2.8. Зовнішній вигляд рослин *Nicotiana tabacum* (48 доба додавання магнетиту); на рисунку: зліва – тютюн, з додаванням магнітної рідини з концентрацією 0,05 мг/мл; по центру – тютюн, з додаванням магнітної рідини з концентрацією 0,1 мг/мл; справа – тютюн, без додавання магнетиту

На основі даних наведених у табл.2.2 побудовано порівняльну діаграму кількості листків рослин дослідних та контрольної групи, вирощуваних протягом 3 місяців.

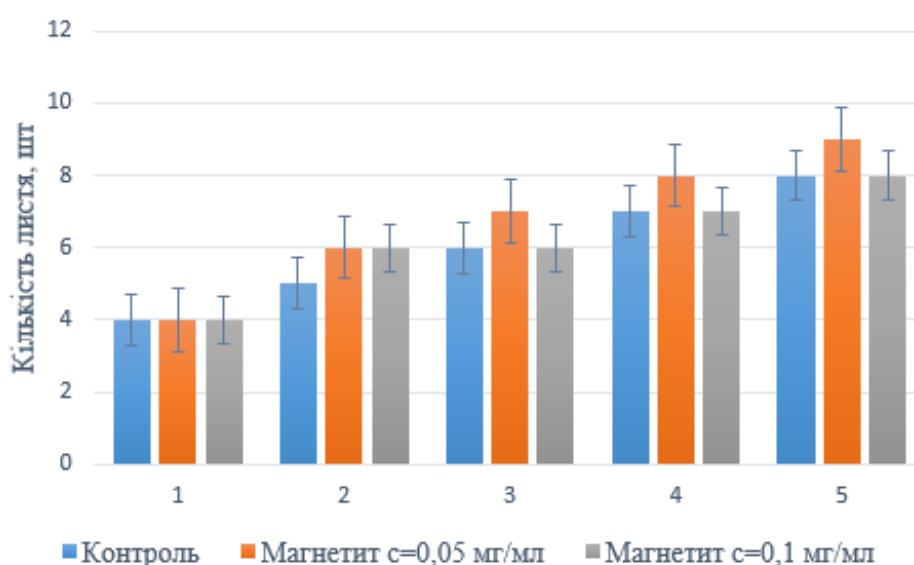


Рис. 2.9. Порівняльна діаграма кількості листків рослин *Nicotiana tabacum*: 1 – початок додавання магнетиту до двох дослідних груп, 2 – 14 доба

вирощування, 3 – 28 доба вирощування, 4 – 42 доба вирощування, 5 – 48 доба вирощування

Аналізуючи дані рис. 2.9 варто підкреслити збільшення листя у рослин, що вирощувалися на середовищі з МНЧ $c = 0,05$ мг/мл вже на 28 добу вирощування в порівнянні з двома іншими групами. Такі результати узгоджуються з літературними даними, що відмічають можливість відсутності позитивного впливу магнетиту на рослини, якщо концентрації були зависокими. Це може пояснюватися закупорюванням провідних тканин рослини магнітними наночастинками.

Станом на 48 добу вирощування з додаванням МНЧ до дослідних груп було досліджено основні морфологічні показники всіх рослин. Для цього було обрано 10 рослин з кожної з трьох груп та визначено – висоту рослини, довжину кореня, кількість листя, загальну площу листя (використовувалося програмне забезпечення *Petiole Pro*), масу зеленої частини рослини та кореня (використовувалися ювелірні ваги з точністю вимірювання 0,01 г). Результати наведено в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3.

Морфологічні показники рослин *Nicotiana tabacum*

Номер рослини	Морфологічні характеристики рослин тютюну на 48 добу вирощування з додаванням магнетиту					
	Висота рослин (см)	Довжина кореня (см)	Кількість листя (шт)	Площа листя (см ²)	Маса зеленої біомаси (г)	Маса кореня (г)
Контрольна група рослин (вирощування без додавання магнетиту)						
1	35	11	5	67,07	13,33	1,07
2	28	11	8	84,20	14,42	0,47
3	30	10	8	84,76	13,85	0,73
4	25	11	8	69,65	11,25	0,49
5	29	15	8	67,61	12,45	0,48
6	28	11	8	71,71	11,64	0,43
7	28	10	7	51,28	12,09	0,35

Продовження таблиці 2.3

8	27	15	9	77,95	13,58	0,59
9	24	11	8	96,83	11,87	0,16
10	27	10	6	66,72	12,60	0,37
Середнє значення (\bar{X})	28,1±0,9	11,5±0,6	7,5±0,4	74±4	12,7±0,3	0,51±0,08
Дослідна група №1 (вирощування з додаванням магнетиту C = 0,05 мг/мл)						
1	26	12	8	116,48	13,10	0,57
2	31	10	8	84,44	12,57	0,53
3	30	10	8	122,41	16,92	0,96
4	32	9	8	101,25	13,23	0,73
5	32	10	8	124,59	15,87	1,06
6	30	11	9	136,62	17,21	1,29
7	32	16	10	142,89	18,30	1,44
8	30	14	9	122,97	15,43	1,01
9	25	13	10	125,98	15,13	1,30
10	30	8	11	123,51	15,40	1,10
Середнє значення (\bar{X})	29,8±0,8	11,3±0,8	8,9±0,4	120±5	15,3±0,6	0,99±0,09
Дослідна група №2 (вирощування з додаванням магнетиту C = 0,1 мг/мл)						
1	25	8	7	95,18	12,05	1,97
2	26	9	7	104,11	13,11	1,21
3	34	15	8	106,19	13,49	1,14
4	32	10	9	133,8	15,48	0,87
5	32	13	8	90,4	12,33	0,85
6	30	8	7	82,01	12,87	0,72
7	29	8	8	131,38	15,20	0,54
8	29	10	8	113,76	14,38	1,24
9	33	12	7	107,48	14,09	0,60
10	26	8	7	101,84	13,86	0,68
Середнє значення (\bar{X})	29,6±1,0	10,1±0,8	7,6±0,2	107±5	13,7±0,3	0,98±0,14

За даними в таблиці 2.3 було побудовано порівняльні діаграми для середніх значень досліджуваних морфологічних показників (рис. 2.10-2.16).

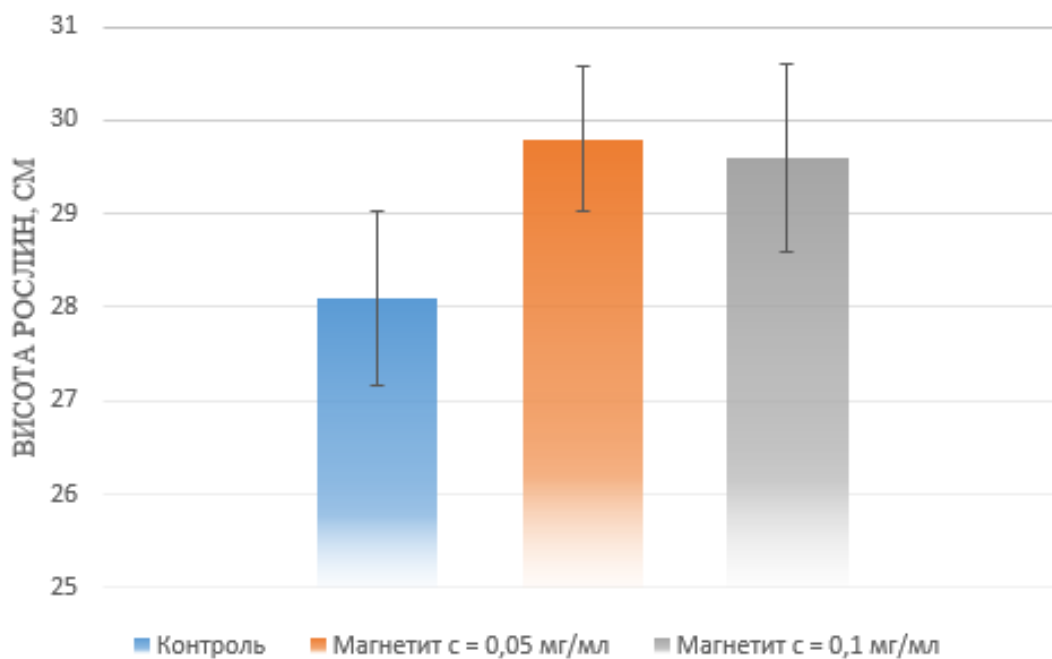


Рис. 2.10. Порівняльна діаграма середньої висоти рослин *Nicotiana tabacum* на 48 добу вирощування з додаванням магнетиту

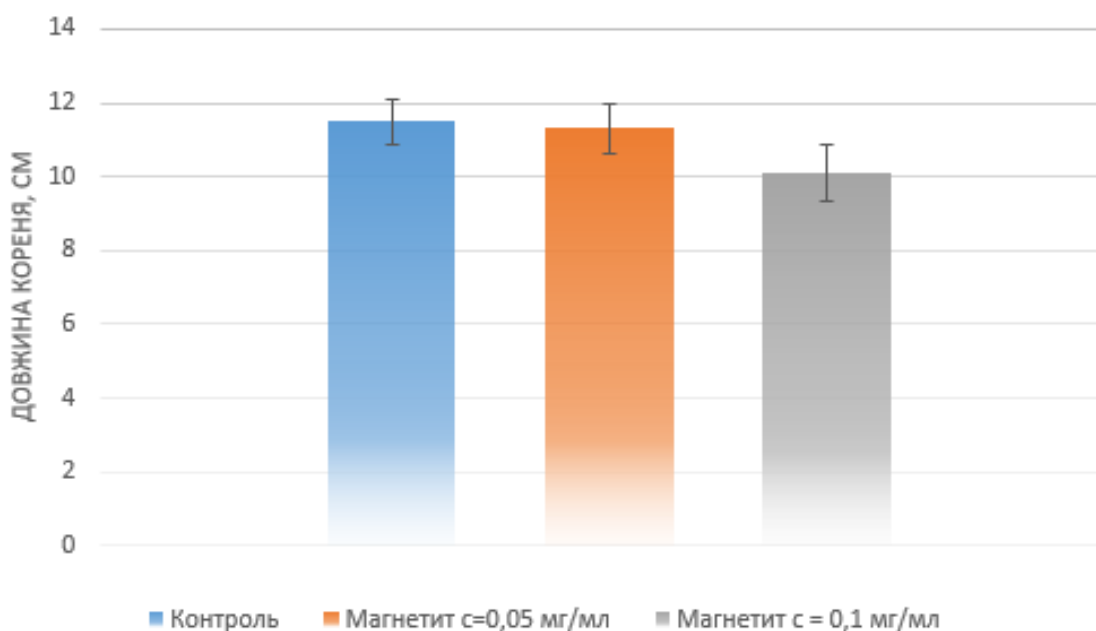


Рис. 2.11. Порівняльна діаграма середньої довжини коренів рослин *Nicotiana tabacum* на 48 добу вирощування з додаванням магнетиту

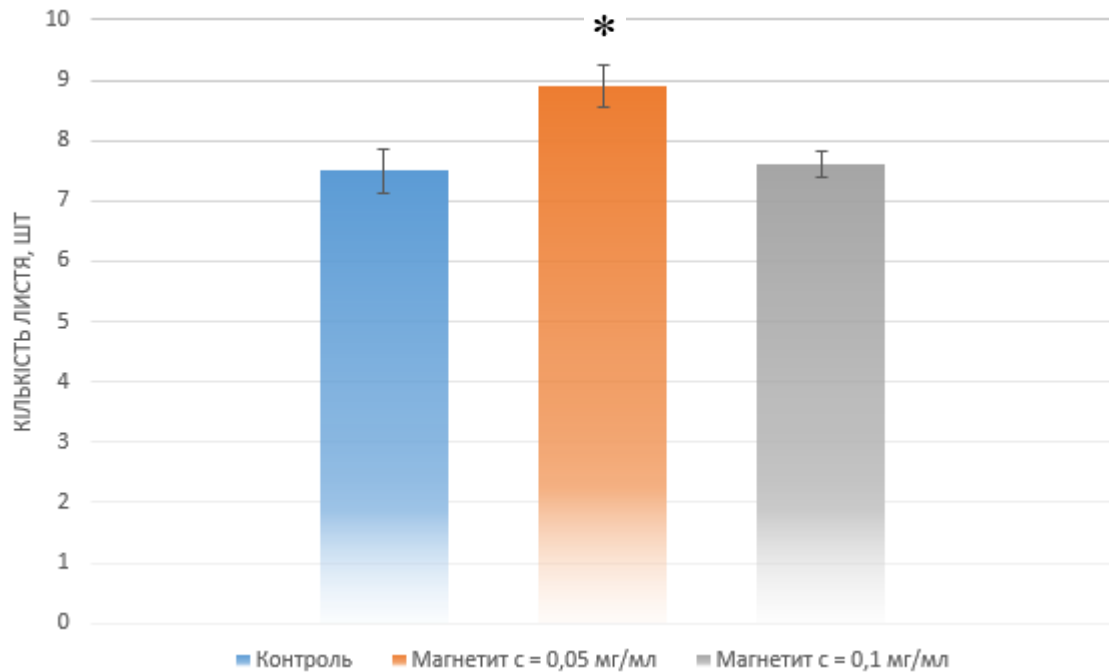


Рис. 2.12. Порівняльна діаграма середньої кількості листя у рослин *Nicotiana tabacum* на 48 добу вирощування з додаванням магнетиту. * $p < 0,05$.

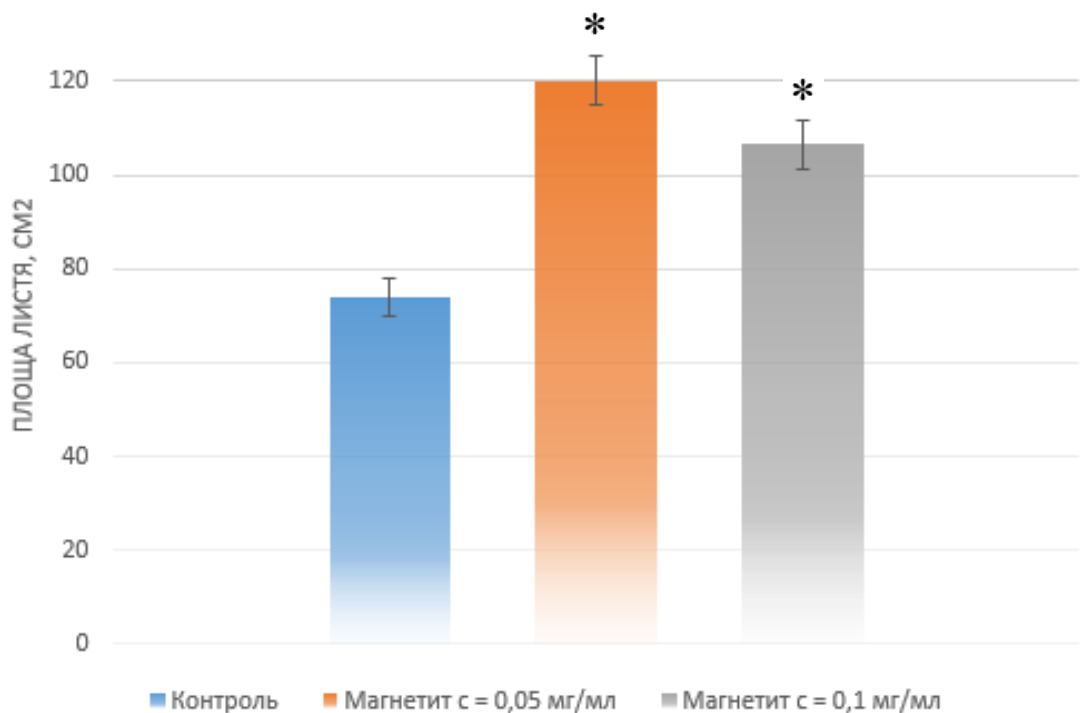


Рис. 2.13. Порівняльна діаграма середньої загальної площі листя рослин *Nicotiana tabacum* на 48 добу вирощування з додаванням магнетиту. * $p < 0,05$.

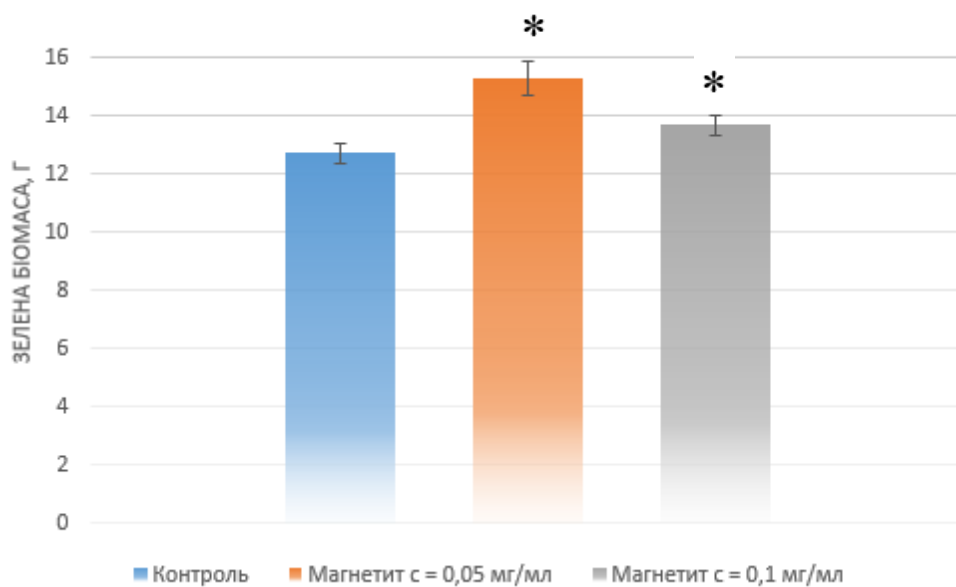


Рис. 2.14. Порівняльна діаграма середньої маси зелених частин рослин *Nicotiana tabacum* на 48 добу вирощування з додаванням магнетиту. * $p < 0,05$.

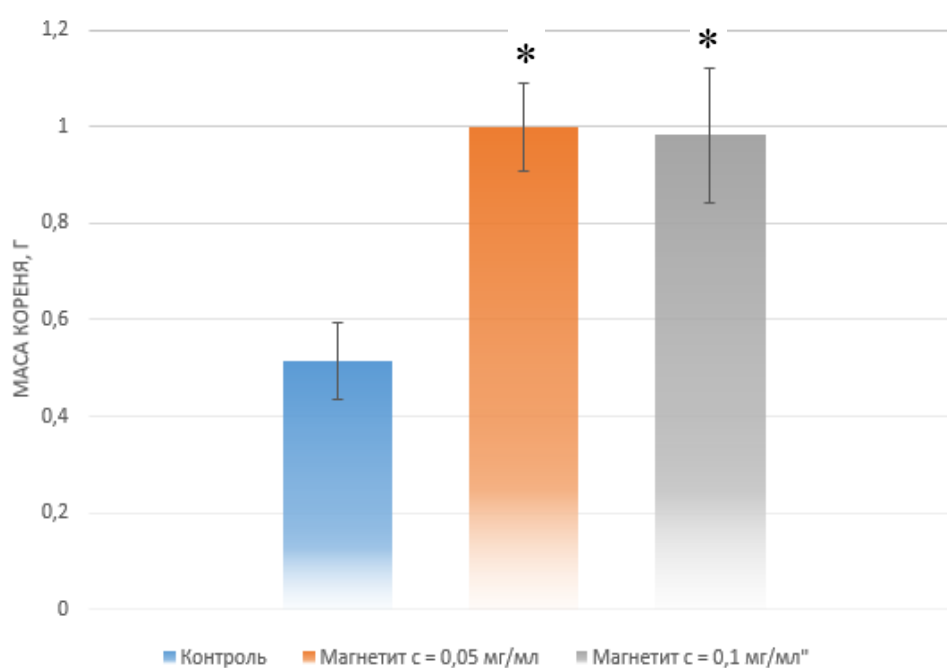


Рис. 2.15. Порівняльна діаграма середньої маси коренів рослин *Nicotiana tabacum* на 48 добу вирощування з додаванням магнетиту. * $p < 0,05$.

З наведених вище рисунків та даних табл. 2.3 видно, що МНЧ $c = 0,05$ мг/мл спричинили кращий ефект на морфологічні показники рослин тютюну – збільшувалася кількість листя, їх площа (на 62 %) та маса зелених частин (на 20,53 %), а особливо спостерігалось збільшення маси коренів (на 94 %). Висота рослин та довжина коренів не відрізнялися особливо в порівнянні з контролем. Щодо МНЧ $c = 0,1$ мг/мл – збільшувалася площа листя (44,5 %), більш ефективно нарощувалася біомаса та відмічалось помітне збільшення маси коренів (86,22 %). Відбувалося інтенсивне нарощування маси коренів обох дослідних груп рослин, що може пояснюватися осіданням магнітних наночастинок, більшою мірою, у коренях рослин та стимуляцією росту саме даної частини рослини. На рис.2.16-2.18 представлено зовнішній вигляд коренів рослин двох дослідних груп та контрольної.



Рис. 2.16. Зовнішній вигляд коренів контрольної групи рослин

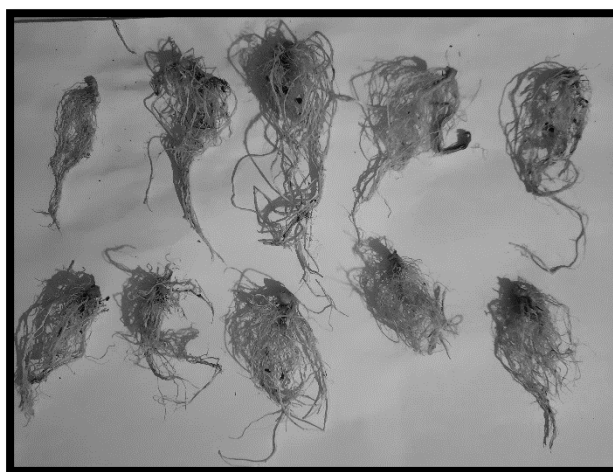


Рис. 2.17. Зовнішній вигляд коренів групи рослин, вирощених на середовищах в додаванням МНЧ $c = 0,05$ мг/мл



Рис. 2.18. Зовнішній вигляд коренів групи рослин, вирощених на середовищах в додаванням МНЧ $c = 0,1$ мг/мл

З наведених вище рисунків можна зробити висновок, що при додаванні МНЧ $c=0,05$ мг/мл до рослин *Nicotiana tabacum* значно зростала кількість бічних коренів, це може бути пов'язано з тим, що при застосуванні оптимальної кількості магнетиту активується синтез ауксину – фітогормону [57], що чинить вплив на ріст та формування бічних коренів, а також стимулює ріст головного кореня в довжину [58]. При додаванні МНЧ $c=0,1$ мг/мл також спостерігається нарощування бічних коренів, проте менше ніж у випадку з МНЧ $c=0,05$ мг/мл. А також експериментальні дані свідчать про значно більшу вагу коренів у рослин двох дослідних груп, яка на 94% та на 86% відсотків більша у порівнянні з контролем для МНЧ $c=0,05$ мг/мл та $c=0,1$ мг/мл відповідно. Можна припустити, що у випадку з МНЧ $c=0,05$ мг/мл маса коренів більша за рахунок великої кількості бічних коренів, а для МНЧ $c=0,1$ мг/мл це може пояснюватися як бічними коренями так і осідання магнетиту у коренях або частині стебла ближче до кореня [22], у зв'язку з зависокою концентрацією МНЧ для даного виду рослин.

2.2.2 Дослідження наявності заліза у формі окисних сполук за реакцією Перлса

Методом Перлса було визначено наявність тривалентного заліза у листках тютюну (14 доба додавання магнетиту). Результати проведення реакції представлені на рисунках 2.19 – 2.21.

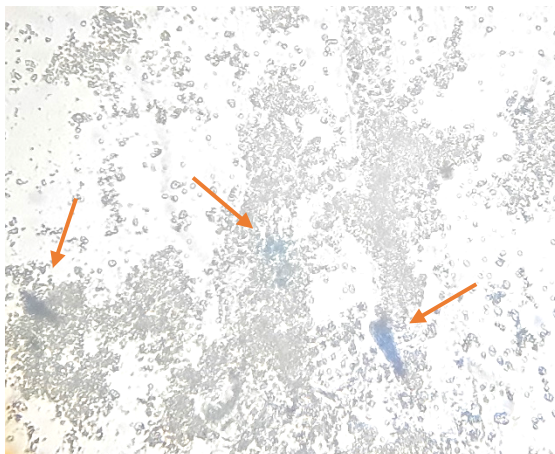


Рис. 2.19. Препарат листя контрольної групи рослин тютюну (14 доба), збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

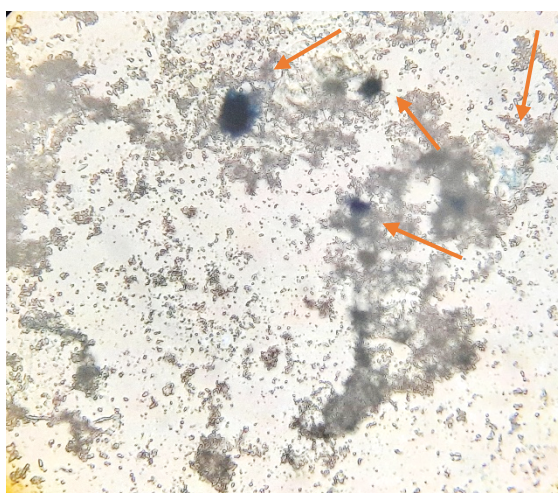


Рис. 2.20. Препарат листя дослідної групи рослин тютюну (14 доба), що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,05 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

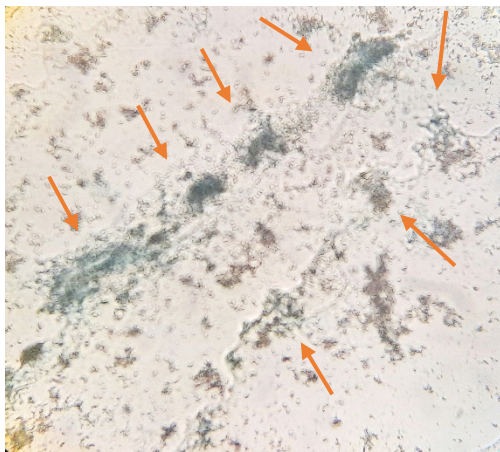


Рис. 2.21. Препарат листя дослідної групи рослин тютюну (14 доба), що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,1 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

Аналізуючи отримані результати, варто відзначити про послідовність накопичення заліза у листі тютюну. Як видно з представлених вище рисунків, найменше ділянок, де утворилось забарвлення – берлінська лазурь, на контрольному препараті. Зі збільшення концентрації магнетиту, збільшується кількість накопиченого заліза в листках. Також досліджено динаміку накопичення Fe (III) у листі тютюну, дослідження проводилися через кожні 2 тижні (2.22-2.26).

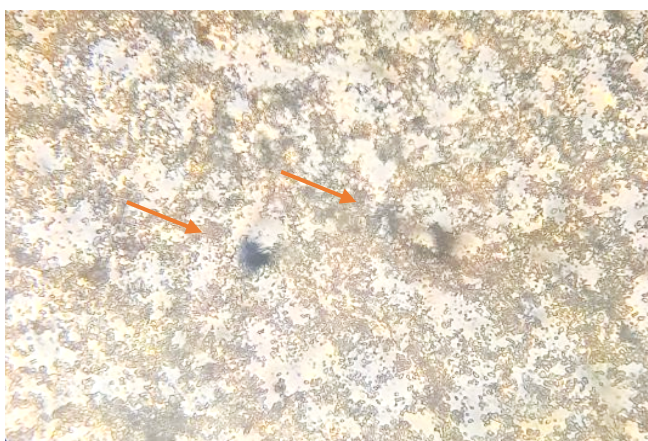


Рис. 2.22 Препарат листя контрольної групи рослин тютюну (28 доба), збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

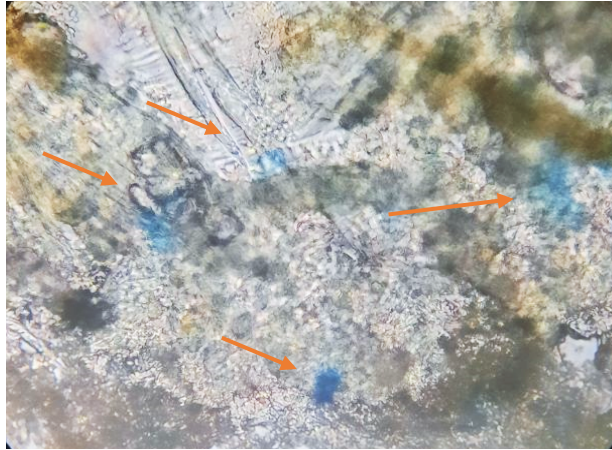


Рис. 2.23. Препарат листа дослідної групи рослин тютюну (28 доба), що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,05 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

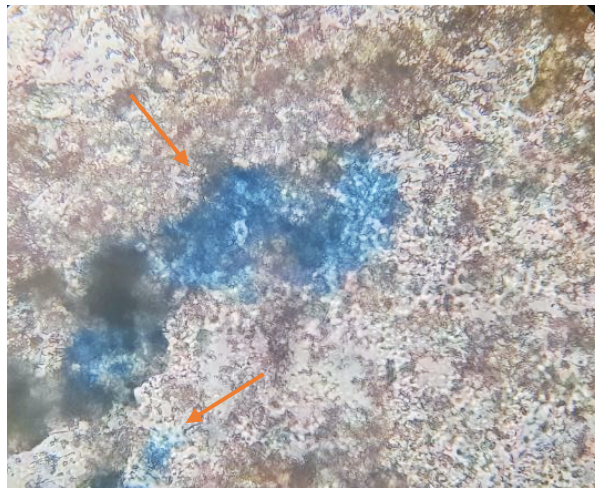


Рис. 2.24. Препарат листа дослідної групи рослин тютюну (28 доба), що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,1 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

З рис. 2.22-2.24 можна помітити, що тенденція накопичення заліза у зразках листа рослин на 28 день зберігається, для рослин з МНЧ $c=0,05$ мг/мл та $c=0,1$ мг/мл заліза накопичується більше у порівняння з контролем.

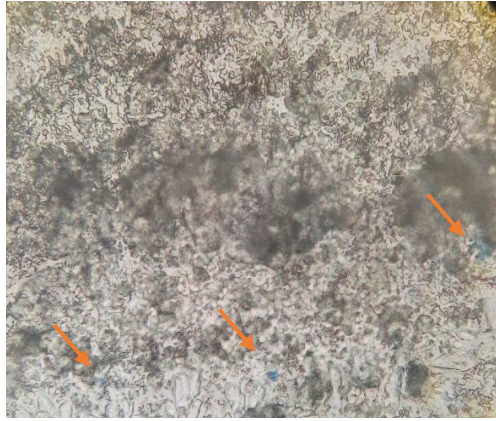


Рис. 2.25. Препарат листа контрольної групи рослин тютюну (42 доба), збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)



Рис. 2.26. Препарат листа дослідної групи рослин тютюну (42 доба), що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,05 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

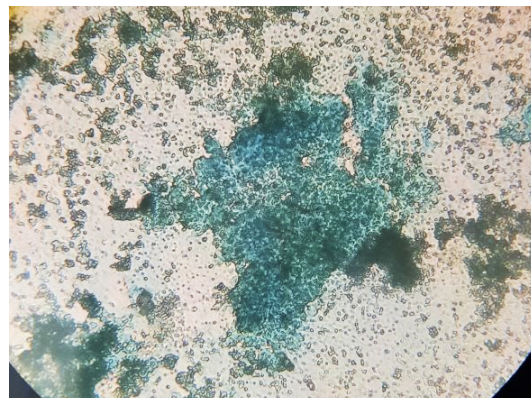


Рис. 2.27. Препарат листа дослідної групи рослин тютюну (42 доба), що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,1 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

Таким чином, реакція Перлса відбувається як у контрольних зразках листя рослин так і у дослідних. До того ж у контрольних зразках спостерігаються менші ділянки накопичення заліза у формі окисних сполук. З рис. 2.25-2.27 можна зробити висновок, що відбувається послідовне накопичення заліза у листі рослин, що вирощувалися на середовищах з МНЧ $c=0,01$ мг/мл, оскільки через кожні 2 тижні ділянка забарвлення берлінська лазурь ставала більшою (рис. 2.21, 2.24, 2.27). Для контролю та МНЧ $c=0,05$ мг/мл не спостерігалось видимого накопичення заліза впродовж 6 тижнів.

Для дослідження накопичення залізу у тривалентній формі було проаналізовано й інші органи рослин *Nicotiana tabacum*, зокрема корені (рис. 2.28-2.30).

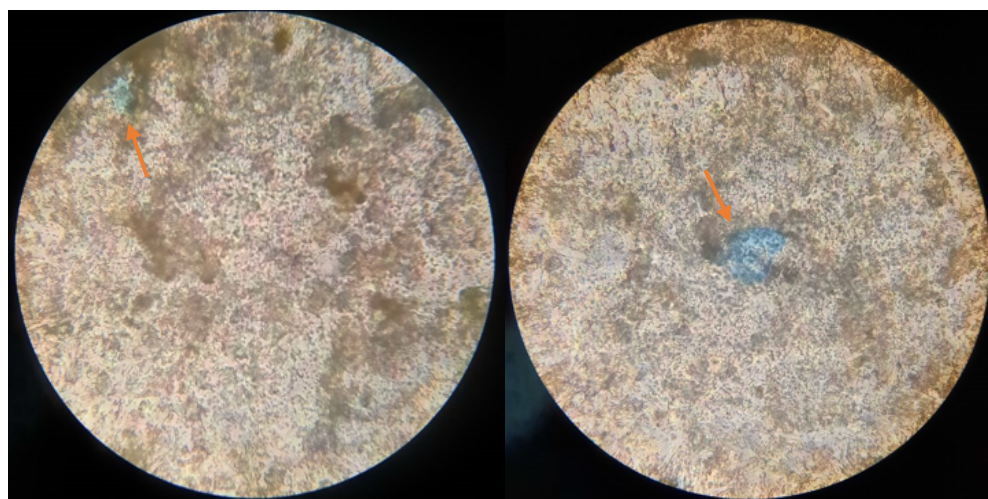


Рис. 2.28. Препарат кореня контрольної групи рослин тютюну, збільшення мікроскопа 600x (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

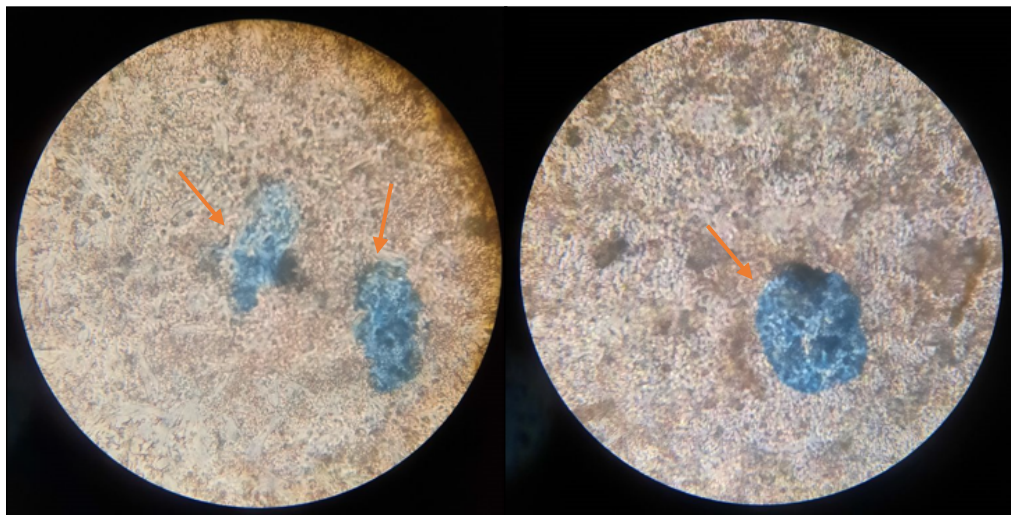


Рис. 2.29. Препарат кореня дослідної групи рослин тютюну, що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,05 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

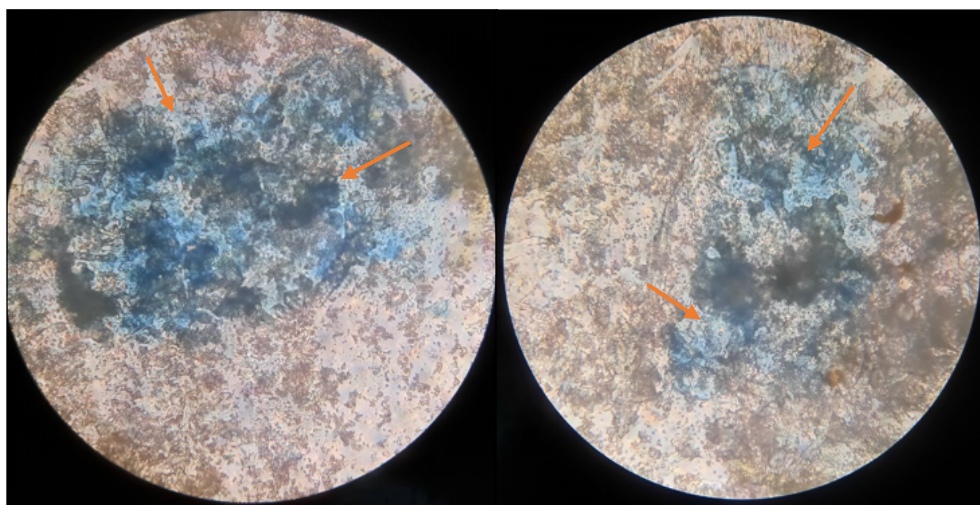


Рис. 2.30. Препарат кореня дослідної групи рослин тютюну, що вирощувалися з додаванням магнетиту з концентрацією 0,1 мг/мл, збільшення мікроскопа 600х (на рисунку стрілками показано ділянки накопичення заліза)

Отже, з рис. 2.28-2.30 помітно, що позитивна реакція Перлса спостерігалася для всіх досліджуваних зразків. Проте незначні ділянки забарвлення утворилися для кореня контрольної групи рослин і значно більші для рослин, що вирощувалися на середовищах з магнетитом. Для концентрації $c = 0,05$ мг/мл ділянки накопичення заліза у коренях більші, ніж ділянки

накопичення у листі для даної групи рослин. До того ж досить великі ділянки спостерігаються для рослин з МНЧ $c=0,1$ мг/мл, що узгоджується з попередньо зробленим припущенням, що магнетит за концентрації $c=0,1$ мг/мл накопичується в коренях, що призводить до збільшення росту та збільшення маси коренів.

2.2.3 Обрахунок відсотка забарвленої площі зразків рослини *Nicotiana tabacum* за реакцією Перлса

За допомогою програми написаної мовою Python та пакету Opencv проводився обрахунок відсотка забарвленої площі зразків рослини *Nicotiana tabacum* за реакцією Перлса, шляхом співставлення інтенсивності забарвлення, площі плями та кількості магнетиту. На рис. 2.31-2.32 наведено приклади оптичних зображень листя та коренів тютюну.

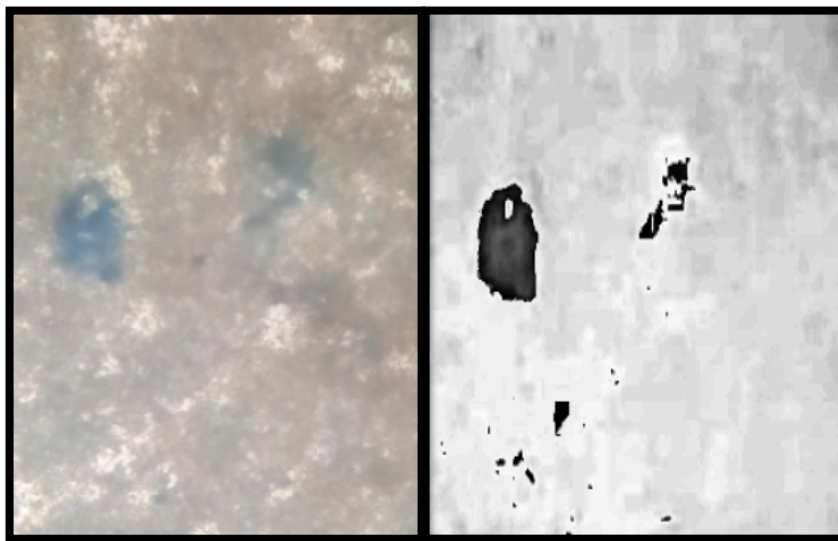


Рис. 2.31. Приклад оптичного зображення листя тютюну, магнетит $c = 0,05$ мг/мл

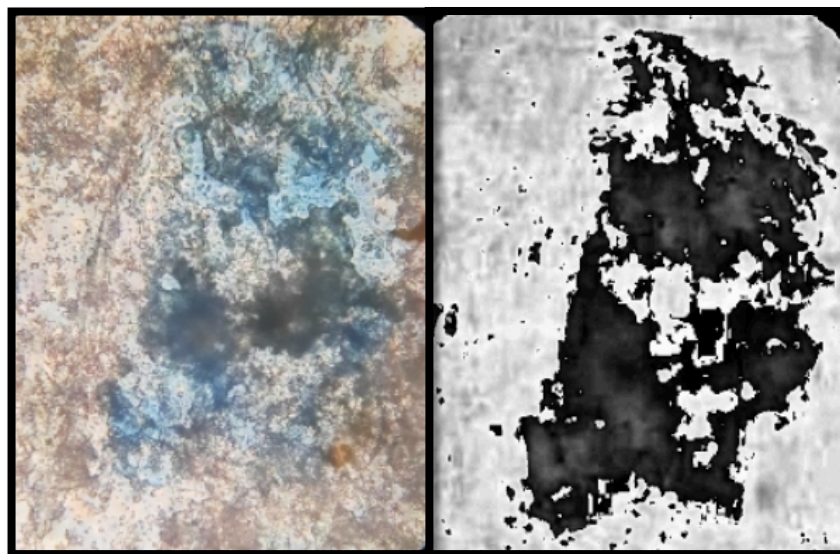


Рис. 2.32. Приклад оптичного зображення кореня тютюну, магнетит $c = 0,1$ мг/мл

Для проведення обрахунків було приготовано по 5 зразків листя та кореня кожної дослідної групи та контрольної групи рослин *Nicotiana tabacum*. Результати наведено в табл. 2.4.

Таблиця 2.4.

Відсоток забарвленої площі зразків листя та коренів рослини *Nicotiana tabacum* за реакцією Перлса

	Відсоток забарвленої площі
<i>Листя Nicotiana tabacum</i>	
Контроль	$3,7 \pm 0,9$
Магнетит $c = 0,05$ мг/мл	$4,5 \pm 1,2$
Магнетит $c = 0,1$ мг/мл	19 ± 3
<i>Корінь Nicotiana tabacum</i>	
Контроль	$7,3 \pm 1,9$
Магнетит $c = 0,05$ мг/мл	$12,5 \pm 1,0$
Магнетит $c = 0,1$ мг/мл	25 ± 4

За даними наведеними у табл. 2.4 побудовано порівняльні діаграми (рис. 2.33-2.34).

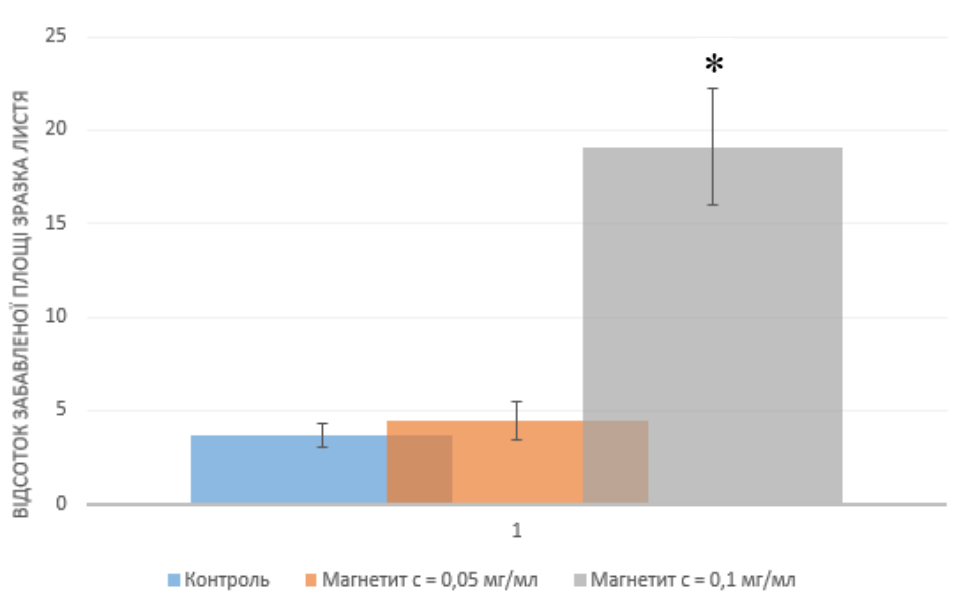


Рис.2.33. Порівняльна діаграма відсотка забарвлених площ зразків листя рослини *Nicotiana tabacum* за реакцією Перлса, що відповідає вмісту Fe (III) в листі. * $p < 0,05$.

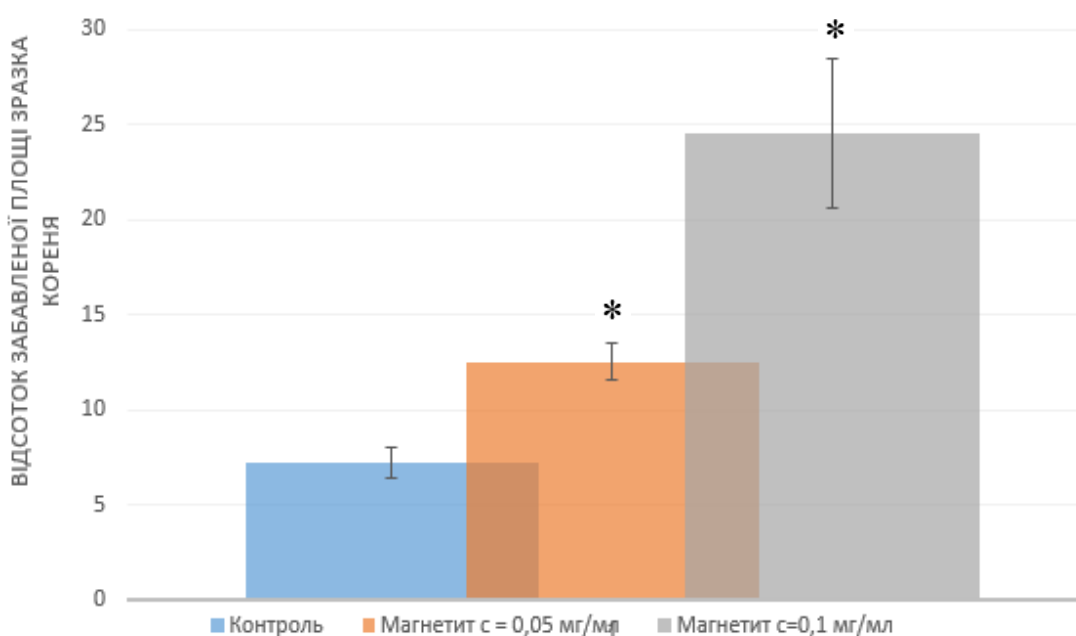


Рис. 2.34. Порівняльна діаграма відсотка забарвлених площ зразків кореня рослини *Nicotiana tabacum* за реакцією Перлса, що відповідає вмісту Fe (III) в корені. * $p < 0,05$.

Аналізуючи рис. 2.33 варто відмітити про більшу кількість накопичення заліза у листі рослин *Nicotiana tabacum* вирощених на середовищах з МНЧ $c=0,1$ мг/мл в порівнянні з контролем (майже у 5,5 разів) та МНЧ $c=0,05$ мг/мл. Те саме можна сказати і при корені (рис. 2.34) рослин, за концентрації МНЧ $c=0,05$ мг/мл збільшився вміст заліза, що відповідає кількості магнетиту, [50, 51, 53] у 1,7 разів у порівнянні з контролем. Для МНЧ $c=0,1$ мг/мл – майже у 3,5 рази в порівнянні з контрольними зразками.

2.2.4 Дослідження впливу кадмій хлориду на рослини *Nicotiana tabacum*

З контрольної групи та двох дослідних груп рослин *Nicotiana tabacum* було обрано по 3 рослини для проведення експерименту з одночасним додаванням розчину 5 мМ $CdCl_2$ (кожен день по 5 мл прикоренево) та розчинів магнетиту у звичайному режимі, а також без його додавання. Експеримент було призупинено через 7 днів, оскільки одна з рослин контрольної групи майже загинула, а на інших рослинах даної групи почали проявлятися ознаки токсичності (2.35). Рослини двох дослідних груп не особливо не постраждали (рис. 2.36-2.37), проте одна з рослин з МНЧ $c=0,05$ мг/мл зазнала негативних морфологічних змін – декілька листків зав'яло та відпало.



Рис. 2.35. Зовнішній вигляд контрольної групи рослин перед початком додавання 5мМ розчину $CdCl_2$ (зліва) та через 7 днів (справа)



Рис. 2.36. Зовнішній вигляд дослідної групи №1 (магнетит $c = 0,05$ мг/мл) рослин перед початком додавання 5мМ розчину CdCl_2 (зліва) та через 7 днів (справа)



Рис. 2.37. Зовнішній вигляд дослідної групи №2 (магнетит $c = 0,1$ мг/мл) рослин перед початком додавання 5мМ розчину CdCl_2 (зліва) та через 7 днів (справа)

Контролювалися такі морфологічні показники як кількість листя та висота рослини на початку експерименту та через 7 днів, результати наведено у табл. 2.5.

Таблиця 2.5.

Результати аналізу морфологічних показників рослин *Nicotiana tabacum* на початку додавання солей важких металів – Cd та через 7 діб

Досліджувані групи рослин	Середня висота стебла (см) (на початку експерименту)	Середня кількість листя (шт) (на початку експерименту)	Середня висота стебла (см) (через 7 діб)	Середня кількість листя (шт) (через 7 діб)
Контроль + CdCl ₂	19±3	7,3±0,3	17±2	5,3±0,7
Магнетит C=0.05 мг/мл + CdCl ₂	16,3±0,6	7,0±1,0	16,3±1,8	6,3±1,8
Магнетит C=0.1 мг/мл +CdCl ₂	18,7±1,3	7,3±0,3	19,7±0,9	7,3±0,3

За даними табл. 2.5 побудовано порівняльні діаграми (рис. 2.38-2.39).

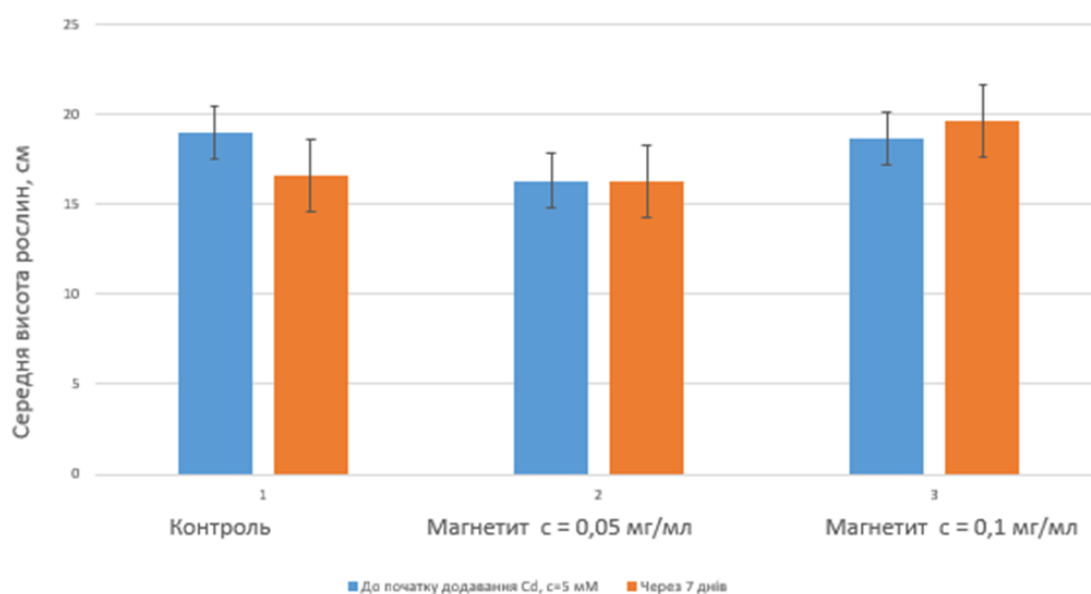


Рис. 2.38. Порівняльна діаграма середньої висоти рослин *Nicotiana tabacum* після одночасного додавання наночастинок магнетиту та важких

металів (синій стовпчик – висота рослин до початку експерименту, оранжевий – через 7 діб)

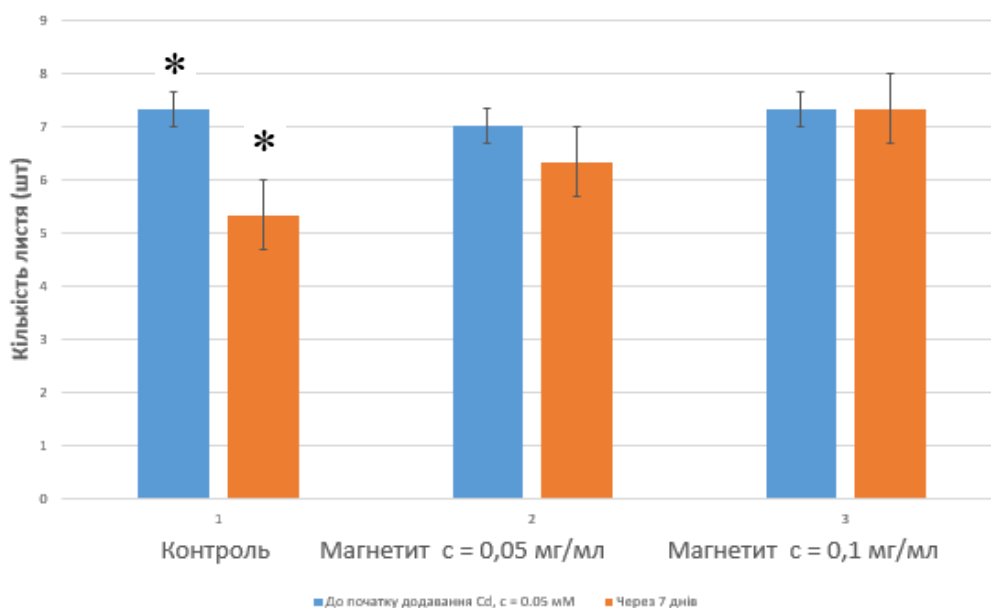


Рис. 2.39. Порівняльна діаграма середньої кількості листя рослин *Nicotiana tabacum* після одночасного додавання наночастинок магнетиту та важких металів (синій стовпчик – кількість листя до початку експерименту, оранжевий – через 7 діб). * $p < 0,05$.

Аналізуючи рис. 2.38 варто відзначити, що отримані результати знаходяться в межах похибки, отже дані не можна вважати достовірними, проте з рис. 2.38 помітно як змінилася висота рослин контроль (без магнетиту) + CdCl – відбувалося зменшення висоти рослин за рахунок відпадання листя. З рис. 2.39 видно, що значних змін у кількості листя для двох дослідних груп не відбувалося, результати у межах похибки, проте відбувалося зменшення кількості листя для контрольної групи за 7 днів експерименту на 37%. З рис. 2.38-2.39 можна зробити висновок, що найбільшу стійкість до дії важких металів виявили рослини, до яких додавався магнетит у концентрації $c = 0,1$ мг/мл.

3 РОЗРОБКА СТАРТАП ПРОЕКТУ

3.1 Резюме: конкретизація бізнес ідеї, мети стартапу, об'єкту дослідження, місця розробки у інноваційному ланцюжку цінності

Бізнес ідея: розробка нанодобрива на основі магнітних наночастинок для прискорення росту зеленої біомаси рослин.

Мета наукової розробки: створення ефективного, нового засобу для прикореневого удобрення рослин, з метою отримання більшої кількості зеленої біомаси за коротші терміни вирощування.

Назва розробки: Нанодобриво «NanoMag Facilitator».

Суб'єкт замовлення: НТУУ «КПІ ім. І. Сікорського».

Об'єкт дослідження: магнітні наночастинок Fe_3O_4 .

Місце розробки в інноваційному ланцюжку цінності: проект перебуває на етапі розробки: завершено лабораторні випробування, розроблено технологію виробництва нанодобрива на основі магнітних наночастинок.

Продукт наукової розробки: нанодобриво для підживлення рослин для більш ефективного та швидкого нарощування зеленої біомаси.

Технологія: виготовлення нанодобрива на основі наночастинок магнетиту шляхом співосадження солей Fe^{2+} та Fe^{3+} концентрованим розчином аміаку.

Доступність сировинної бази: матеріали та реагенти знаходяться у вільному продажу в Україні.

Кваліфікація персоналу: технолог: повна вища освіта; навички приготування магнетиту.

Ринок збуту: аграрні підприємства, оптові постачальники добрив для рослин, роздрібна торгівля добривами.

Модель підприємництва: B2B.

Резюме стартап-проекту наведено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Резюме стартап-проекту

Показник	Характеристика
1.Сутність ідеї	Розробка нанодобрива на основі магнітних наночастинок для прискорення росту зеленої біомаси рослин.
2.Наявність аналогів або прототипів ідеї	Аналог – «Монофосфат калію» – мінеральне добриво на основі фосфору – 52% та калію 34% для прикореневого підживлення – покращує ріст та розвиток кореневої системи та підвищує урожайність рослин. Виробник «СОЮЗ-РЕАГЕНТ»
3.Основна потреба, яку задовольнить реалізований стартап	Сучасне нанодобриво дозволить нарощувати зелену біомасу рослин більш ефективно та швидко (можливо вирішення проблеми низької врожайності рослин, що вирощують задля отримання листя, стебел)
4. Ступінь розробленості технології реалізації	Завершено лабораторні випробування, розроблено технологію виробництва нанодобрива на основі магнітних наночастинок.
5.Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	010271 «Добрива»

Продовження таблиці 3.1.

6. КВЕД, до якого може належати даневиробництво	01.61 «Допоміжна діяльність у рослинництві» 20.15 «Виробництво добрив і азотних сполук» 47.76 «Роздрібна торгівля квітами, рослинами, насінням, добривами, домашніми тваринами та кормами для них у спеціалізованих магазинах»
7. Очікувана потужність стартапу	мале підприємство
8. За масштабом виробництва	масове
9. За рівнем спеціалізації	вузькопрофільне
10. За ресурсами, що споживатимуться	матеріаломістке, працемістке
11. За чисельністю персоналу	мале
12. Органи управління при реалізації стартапу	національні
13. Бажане географічне розташування: - потужностей стартапу; - офісу стартапу; - збутової мережі; - постачальників комплектуючих.	1) м. Українка 2) м. Українка 3) Україна 4) Україна
14. Місце ідеї у ланцюжку цінностей інноваційного процесу	На стадії розробки
15. Гранична корисність ідеї стартапу	Більш екологічне та ефективне нанодобриво в порівнянні з традиційними

Продовження таблиці 3.1.

16. Бізнес-модель стартапу	B2B
17. Конкуренти вітчизняні (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться, основні конкурентні переваги, фактори успіху)	Мінеральне добриво – «Монофосфат калію» для прикореневої обробки рослин компанії «СОЮЗ-РЕАГЕНТ», Україна. Ціна 300 г – 58 грн. Реалізується на ринку.
18. Конкуренти іноземні (ціна, на якому етапі реалізації знаходяться, основні конкурентні переваги, фактори успіху)	Мінеральне добриво «Green Green» на основі азоту, фосфору та калію, виробник– «Nursery&Garden», Корея. Ціна 360 мл – 405 грн. Реалізується споживачу. Відсутній на ринку України.
19. Ключові фактори успіху стартапу	Ефективність, екологічність, безпечність
20. Планова кількість продукту розробки для першого етапу реалізації	335 000 одиниць за рік
21. Мінімальна кількість виробництва за методом точки беззбитковості	373 019 одиниць
22. Споживачі на етапі розвитку	Українські аграрні підприємства, оптові постачальники добрив для рослин, роздрібна торгівля добривами.
23. Споживачі на етапі зрілості	Міжнародні аграрні компанії.
24. Конкурентна ціна на продукт стартапу	30 грн

Продовження таблиці 3.1.

25. Плановий рівень рентабельності при реалізації продукту	88,3 %
26. Капіталовкладення в проект	5 686 389 грн
27. Період повернення капіталовкладень у проект	1,13 років
28. Джерела фінансування	Власні та запозичені
30. Основні компоненти продукції стартапу (їх доля у готовому товарі, ступінь готовності компонентів у наявному виробництві)	Магнітні наночастинки – 70 % Олеат натрію – 5 % Вода – 25 %
31. Потенційні постачальники складових компонентів розробки (виділити вітчизняних і закордонних, плановий обсяг замовлень, наявна потужність постачальника)	Постачальник лабораторного обладнання та сировини: ТОВ «НВП «УКРОРГСИНТЕЗ», Україна. Пакувальні матеріали: «Agro-Ukraine».
32. Планове місце реалізації результатурозробки (місце, планова доля реалізації продукту через це місце)	Оренда приміщення для виробничого комплексу у м. Українка Київської області.
33. Наявність посередників при реалізації (так, ні, орієнтовні посередники, форми оплати їх діяльності)	Ні

\

Продовження таблиці 3.1.

34. Методи просування результатів розробки на ринок	Реклама в спеціалізованих ЗМІ; інформування представників аграрних компаній; організація освітньо-наукових заходів, конференцій; розробка сайту компанії-виробника та розміщення детальної інформації на ньому.
---	---

3.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартап-проекту

Середовище діяльності будь-якого підприємства можна охарактеризувати за допомогою наступної схеми, зображеної на рис. 3.1. Зовнішнє середовище не має прямого впливу на підприємство, проте створює загрози і можливості такого підприємства. До факторів зовнішнього середовища відносять політику, економіку, географію, демографію, культуру, науково-технічний прогрес.



Рис. 3.1. Зовнішнє, зовнішнє оперативне та внутрішнє середовище підприємства [Підлісна 2019].

У табл. 3.2 наведено загрози та можливості зовнішнього середовища підприємства з виробництва нанодобрива для ефективного нарощування зеленої маси рослин.

Таблиця 3.2.

Аналіз загроз і можливостей зовнішнього середовища

Загрози	Можливості
Політика	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Напружені політичні відносини з Російською Федерацією призводять до зменшенню експорту сільськогосподарської продукції в цю країну, що призводить до закриття деяких аграрних підприємств, які могли б бути потенційними клієнтами. 2. Нестабільна політика в країні призводить до поганого інвестиційного клімату – зменшення потенційних інвесторів. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Відкриття «ринку землі» призведе до зростання кількості малих аграрних підприємств різної направленості, які будуть потенційними клієнтами. 2. Підтримка відносин з провідними державами дозволить залучати іноземні інвестиції.
Економіка	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Слабкий захист авторського права в Україні може призвести до крадіжки документації технологічного процесу. 2. Інфляція, девальвація може призвести до нестабільної реалізації продукції. 3. Зростання цін на обладнання та сировину призведе до збільшенню капіталовкладень. 4. Спад економіки у зв'язку з пандемією. 5. Рівень доходів населення. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Розвиток онлайн-платформ для доступу до альтернативних способів фінансування. 2. Дерегуляція та спрощення ведення бізнесу. 3. Проведення оптимізації регулювання та полегшення адміністративних процедур для малого та середнього бізнесу. 4. Незначна кількість конкурентів на ринку. 5. Наявність кваліфікованих спеціалістів.

Продовження таблиці 3.1

Географія	
1. Сусідство з країною агресором та окуповані території погіршують інвестиційний клімат.	1. Сусідство з країнами ЄС і СНГ полегшує експорт та їх ринки. 2. Київ є магнітом для талановитих, розумних і цілеспрямованих людей, що провокує до корисних контактів. Велика кількість університетів полегшує пошук кваліфікованих робітників. Місто Українка є містом сателітом столиці. 3. Наявність в Україні виробників сировини та обладнання. 4. Наявність великої кількості каналів збуту продукції.
Демографія	
1. Трудова міграція населення за кордон призведе до зменшенню рівня кваліфікації спеціалістів на рику праці. 2. Еміграція молоді та людей середнього віку з України зменшує потенційних підприємців аграріїв – потенційних клієнтів.	1. Міграція до інших країн призводить до запозичення вирошування нових сільськогосподарських культур, яким знадобляться добрива. Люди стають більш вибагливими до їжі, одягу тощо.
Культура	
1. Низький інтерес та недовіра населення до сучасних підходів розробки нанодобрих, зокрема нанотехнологій.	1. Велика кількість наукових досліджень у відкритому доступі, що підтверджують позитивний вплив магнітних наночастинок на ріст та розвиток рослин та підвищення урожайності.
Науково – технічний прогрес	

Продовження таблиці 3.2.

1.Інновації в сфері біотехнологій; 2.Недостатнє фінансування закладів освіти та наукових установ з боку держави	1.Науковий потенціал – удосконалення технології виробництва; 2.Удосконалення нанообрив – зростання ефективності.
--	---

До факторів зовнішнього оперативного середовища відносять конкурентів, постачальників, посередників (наразі не планується залучення посередників), споживачів (табл. 3.3).

Таблиця 3.3.

Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

Переваги	Недоліки
Постачальники	
1. Наявність постачальника у межах однієї області – це поліпшує логістику сировини. 2. Наявність можливості купувати маленькі партії товарів, що виключає залучення додаткових приміщень та коштів для зберігання сировини.	1. Наявність у постачальника багатьох клієнтів – це становить загрозу для вчасного постачання сировини. Довгий час очікування сировини. 2. Відсутність конкурентів у постачальника може призвести до збільшення ціни на сировину.
Споживачі	
1. Наявність великої кількості точок збуту – агропідприємства, оптові постачальники добрив для рослин, що забезпечують легкий доступ до продукції. 2. Наявність онлайн маркету, що забезпечує споживача додатковим способом купити продукцію, що збільшує оборот продукції.	1. Консервативність при виборі нанодобрив, повільний перехід з одних добрив на інші, що сповільнює реалізацію великих партій продукції.
Конкуренти	

Продовження таблиці 3.2

<p>1. Відсутність підприємств, що виробляють нанодобрива на основі магнітних наночастинок.</p> <p>2. Старіння технології підприємств та незацікавленість у модернізації конкурентів, що забезпечує перевагу над ними у майбутньому.</p>	<p>1. Довіра споживачів до продукції конкурентів, оскільки товар вже давно реалізується на ринку, що зменшує кількість клієнтів.</p> <p>2. Проведення конкурентами антирекламних акцій стосовно нового продукту, що знижує довіру до нової продукції та може сприяти повільному переходу на нанодобрива.</p>
---	--

Для визначення потенційних загроз у процесі впровадження розробки за результатами аналізу факторів зовнішнього і зовнішнього оперативного середовищ сформовано перелік зацікавлених сторін (табл. 3.4).

Таблиця 3.4.

Аналіз зацікавлених сторін

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проекту	Цікавість її до проекту	Загальний коефіцієнт впливу на проект
Суб'єкти зовнішнього оперативного середовища			
Постачальник	Ціна на продукцію буде залежати від цін на сировину та обладнання встановлену постачальником	Зацікавлений у розвитку виробництва та зростанні його купівельної спроможності.	0,2
Споживачі	Обсяги продажу товарів прямо залежать від купівельної	Зацікавлені у низькій ціні на продукцію та високій її якості.	0,2

	спроможності споживачів.		
Конкурент	Може нашкодити за рахунок антирекламних акцій та просування власного продукту за рахунок реклами.	Зацікавлений у низьких показниках продажу чи взагалі відсутності нових проектів.	0,1
Зовнішнє середовище			
Суб'єкти економічного середовища	Економічні чинники, такі як курс валют, умови кредитування, рівень інфляції, ставки банківського проценту, інвестування коштів, купівельна спроможність споживачів чинять вплив на ефективність та стабільність продажів	Зацікавлені у розвитку нового виробника товарів для аграрного сектору, оскільки це призведе до надходження коштів до державного бюджету	0,2
Власники географічних об'єктів	Розміщення постачальників сировини та обладнання, точок збуту готової	Не зацікавлені	0,05

	<p>продукції</p> <p>впливатиме на вартість та умови транспортування, що в свою чергу вплине на собівартість товару</p>		
Суб'єкти демографії	<p>Трудова міграція населення за кордон та освітній рівень населення регіону може вплинути на сприйняття нової продукції, що може призвести до зменшення попиту</p>	<p>Зацікавлені у відкритті нових робочих місць, збільшенні врожайності сільськогосподарських культур</p>	0,1
Суб'єкти культурного середовища	<p>Поширення інформації у ЗМІ може призвести до позитивного чи негативного впливу на продаж товарів.</p>	<p>Зацікавлені у появі нових, ефективних та екологічних товарів</p>	0,1
Суб'єкти НТП	<p>Удосконалення сфери освіти та розробка нових ефективних технологій призведе до розвитку виробництва</p>	<p>Зацікавлені у розвитку виробництва, створення нових робочих місць та реалізація сучасних наукових розробок</p>	0,1

Для визначення сильних та слабких сторін в процесі реалізації стартап-проекту, тобто, що саме буде сприяти забезпеченню та впровадженню розробки, а що створюватиме перешкоди (ризики) в розробці, проведено аналіз внутрішнього середовища підприємства (табл. 3.5).

Таблиця 3.5.

Переваги і недоліки внутрішнього середовища

Складові внутрішнього середовища	Переваги	Недоліки
Організація управління	Раціональна організаційна структура підприємства. Залучення спеціалістів з бізнес планування та маркетингологів.	Неефективний менеджмент. Обмежена кількість персоналу на початку створення підприємства.
Персонал	Високий рівень кваліфікації спеціалістів у сфері хімічного виробництва. Обмеження в мобільності населення.	Відсутність досвіду приготування магнітних наночастинок у персоналу Висока плинність кваліфікованих кадрів
Виробництво	Забезпечення високої якості продукції та потужності виробництва за рахунок сучасного обладнання. Можливість розширення	Складність постановки виробництва з самого початку. Дефіцит коштів та дорогий кредит. Орієнтація на поточні потреби виробництва

	виробничих потужностей.	
Фінанси	Достатні фінансові ресурси за рахунок оформлення кредиту	Інфляційне знецінювання накопичень. Нестабільний фінансовий стан Обмежені інвестиційні можливості
Маркетинг	Ефективні канали поширення і просування – соціальні мережі, створення сайту компанії, організація конференцій	Високі витрати на створення іміджу та конкурування з компаніями-гігантами з виробництва добрив Бракування коштів на рекламу

3.3 Визначення ключових факторів успіху проекту

Шляхом аналізу факторів зовнішнього і зовнішнього оперативного середовищ визначено ключові фактори успіху технології. Ключові фактори успіху – ті, на які підприємство може самостійно впливати під час виробництва і реалізації продукту. Ключові фактори успіху визначено за методом Шонфільда (табл. 3.6).

Проводилася оцінка показника якості нашого продукту та продукту конкурента за 5-ти бальною шкалою. Коефіцієнт значущості показника для замовника лежав у межах 0...1.

Таблиця 3.6.

Оцінка характеристик за методом Шонфільда

Характеристика	Коефіцієнт вагомості характеристики	Оцінка характеристик	
		Нанодобриво «NanoMag Facilitator»	«Монофосфат калію»
Ефективність готового продукту	0,35	5	4
Ціна	0,25	5	4
Безпечність	0,2	4	3
Екологічність	0,2	5	3

Визначено бальну оцінку кожної характеристики з урахуванням коефіцієнту вагомості характеристики для нашого продукту та продукту конкурента (табл. 3.7).

Таблиця 3.7.

Бальна оцінка характеристик за методом Шонфільда

Характеристика	Бальна оцінка	
	Нанодобриво «NanoMag Facilitator»	«Монофосфат калію»
Ефективність готового продукту	$0,35 \cdot 5 = 1,75$	$0,35 \cdot 4 = 1,4$
Ціна	$0,25 \cdot 5 = 1,25$	$0,25 \cdot 4 = 1$
Безпечність	$0,2 \cdot 4 = 0,8$	$0,2 \cdot 3 = 0,6$
Екологічність	$0,2 \cdot 5 = 1$	$0,2 \cdot 3 = 0,6$

На підставі отриманих бальних оцінок побудовано графік порівняння характеристик нашої продукції з конкурентом (рис.3.2).

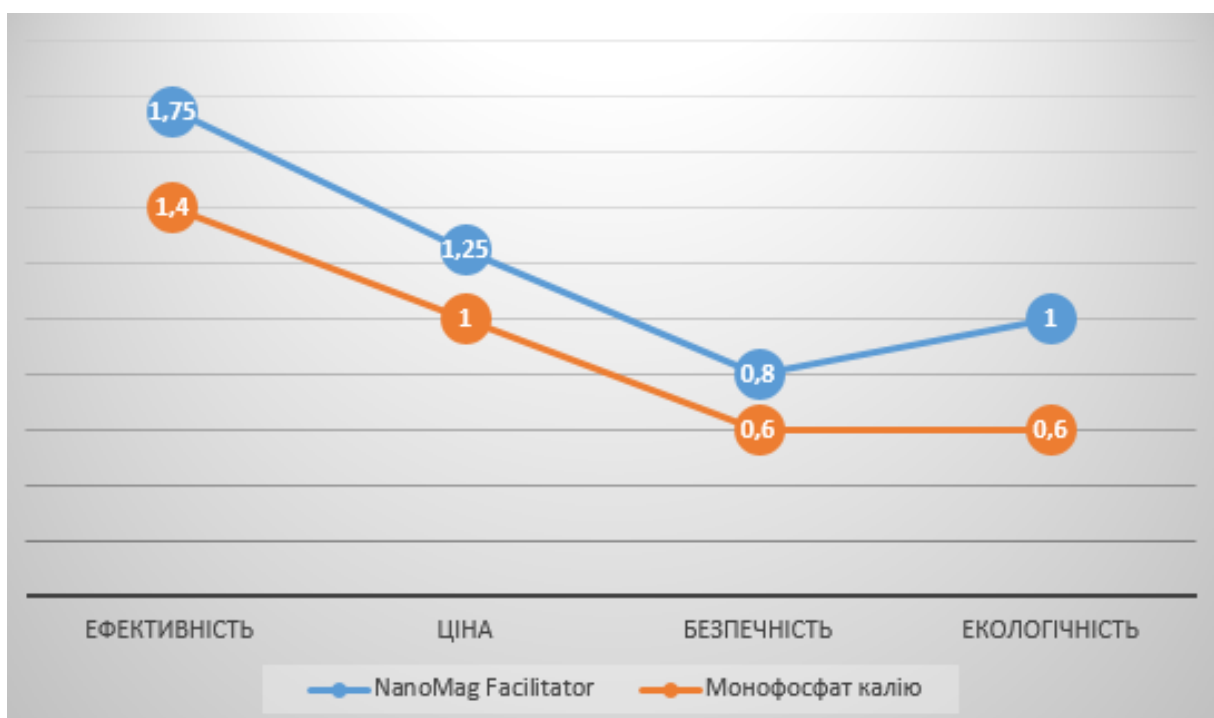


Рис. 3.2. Порівняння конкурентних переваг підприємства з конкурентами

На основі аналізу ключових факторів успіху стартап-проекту визначено можливі варіанти та перспективні напрями розвитку інноваційної ідеї (табл. 3.8).

Таблиця 3.8.

Варіанти розвитку ідеї стартапу

Варіант	Стислий опис можливого розвитку
Продаж стартапу на початковій стадії.	Продаж ідеї чи технології виробництва інноваційної продукції.
Реалізація проекту.	Впровадження виробництва з подальшим розвитком бізнесу.

3.4 Визначення потенційних споживачів

Потенційними споживачами є як фізичні так і юридичні особи (табл.3.9)

Таблиця 3.9.

Класифікація потенційних споживачів

Критерій	Значення
Юридична особа	
1. Форма власності	Державні та приватні
2. КВЕД	1.61 Допоміжна діяльність у рослинництві 47.76 Роздрібна торгівля квітами, рослинами, насінням, добривами, домашніми тваринами та кормами для них у спеціалізованих магазинах 46.75 Оптова торгівля хімічними продуктами
3. За потужністю	Малі, середні, великі
4. За масштабом виробництва	Одиничні, серійні, масові
5. За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільні, багатoproфільні
6. За ресурсами, що споживаються	Працемісткі, матеріаломісткі
7. За чисельністю персоналу	Малі, середні, великі
8. За сферою діяльності	Сільське господарство Оптова та роздрібна торгівля
9. За приналежністю капіталу і контролю	Національні, іноземні
9. За приналежністю капіталу і контролю	Національні, іноземні, спільні багатонаціональні

Продовження таблиці 3.9.

10. За географічним розташуванням	Україна, інші країни
11. За віддаленістю органів управління	Національні, іноземні
12. За характером господарської діяльності	Сільськогосподарські, торгові
13. За рівнем технологічної цілісності	Провідні, дочірні, філії
14. За долею іноземного капіталу	Без іноземних інвестицій, з іноземними інвестиціями, іноземні
15. За формуванням статутного капіталу	Унітарні, корпоративні
16. За організацією виробничих процесів	Періодичні, безперервні
17. За роботою протягом року	Сезонні, позасезонні
18. За географічним розташуванням на території України	Великі міста, обласні та районні центри
19. За динамікою розвитку регіону розташування юридичної особи: – Регіон – Чисельність населення – Динаміка росту регіону	У столиці, обласних центрах Від 800 тис осіб Приріст населення 1,5-3% щорічно згідно українського законодавства
Фізична особа	
1. Вік	16 – 100 років

Продовження таблиці 3.9.

2. За платоспроможністю	Платоспроможні, середній дохід
3. За соціальним рівнем споживачів	Володіють земельною ділянкою, рівень зарплати невисокий, середній, високий
4. За способом життя (звички, традиції, стереотипи поведінки)	Самотні люди та подружні пари будь-якого віку. Дрібні фермери, садоводи
5. Тип особистості споживачів	Реалісти, новатори
6. За ставленням до товару	Мотивація покупки товару – отримання кращих врожаїв рослин, нарощування зеленої біомаси для будь-яких потреб
7. За сімейними цінностями	Як самотні так і одружені люди, будь-який склад сім'ї
8. За співвідношенням бажання придбати і цінової межі	5000 грн – 30 грн 7500 грн – 30 грн
9. За інтенсивністю споживання товару	Періодичне чи систематичне придбання
10. За інформованістю	Самоосвіта, ЗМІ, спеціалізовані джерела

Огляд основних груп потенційних споживачів та їх потреб наведено у табл. 3.10.

Таблиця 3.10.

Основні групи потенційних споживачів і їх потреби

Категорія (група) клієнтів	Потреби, які він задовольняє за допомогою нашого продукту
Аграрні компанії	Ефективне нанодобриво, що прискорює ріст та розвиток рослин та сприяє швидкому накопиченню великої кількості зеленої біомаси
Оптові постачальники	Інноваційний продукт на ринку
Роздрібна торгівля	Інноваційний продукт на ринку

Для кронкретизації потенційного клієнта сформовано його паспорт (табл. 3.11)

Таблиця 3.11.

Паспорт потенційного клієнта

Характеристика	Значення
Організаційно-правова форма	ТОВ, ФОП
Чисельність персоналу	1 – 120 осіб
Розташування	Місто, смт, село
Вид продукту, який потрібен даному споживачеві	Нанодобриво, що сприяє швидкому та ефективному нарощуванню зеленої біомаси рослин
Призначення придбаного товару	Оптовий, роздрібний продаж, застосування при вирощуванні рослин
Кваліфікація персоналу підприємства	Висококваліфікований керівний персонал, робочі та службовці

Продовження таблиці 3.11.

Потенційний обсяг споживання продукції	100-10 000 од./ місяць
Хто приймає рішення про придбання розробки	Начальник відділу організації та забезпечення закупівель

Проведено планування обсягу реалізації продукції у початковому етапі – на перший рік виробництва (табл. 3.12). До того ж враховується сезонне збільшення попиту (з березня по серпень).

Таблиця 3.12.

Запланований обсяг реалізації стартап-продукту за перший рік виробництва.

Період	Запланований обсяг, од.
Січень 2022	10 000
Лютий 2022	20 000
Березень 2022	30 000
Квітень 2022	45 000
Травень 2022	45 000
Червень 2022	45 000
Липень 2022	40 000
Серпень 2022	40 000
Вересень 2022	30 000
Жовтень 2022	10 000
Листопад 2022	10 000
Грудень 2022	10 000
Всього:	335 000

3.5 Ціна інноваційної пропозиції на ринку

Визначення потенційного споживача і його особливостей при прийнятті рішення про придбання стартап-продукту дозволяє визначити ціну пропозиції для технології на ринку (табл. 3.13).

Таблиця 3.13.

Проектні ціни продажу технології

Найменування товару	Планові обсяги продажу		Аналоги, прототипи	
	Кількість, од.	Ціна, грн/од.	Кількість, од.	Ціна, грн/од.
Нанодобриво «NanoMag Facilitator»	335 000	30	500 000	58

Для розрахунку ціноутворення обрано витратний метод, що ґрунтується на врахуванні витрат. Розглянемо метод повних витрат. Ціна розраховується, виходячи із суми постійних і змінних витрат на одиницю продукції й запланованого прибутку з урахуванням нижньої межі ціни.

$$Ц = С + П,$$

де Ц – ціна одиниці товару, грн;

С – собівартість одиниці товару, грн;

П – величина прибутку, яку бажає отримати підприємство від реалізації одиниці товару, грн.

Агрегатний метод. Даний метод полягає у тому, що ціна визначається шляхом додавання цін на окремі конструктивні елементи товару: У табл. 3.14 наведено ціни конструктивних елементів.

Таблиця 3.14.

Ціни конструктивних елементів товарів

Елемент	Ціна, грн/од
Сировина	1.17
Паливо, електроенергія	1.18
Пакування	3
Виробництво	10.58
Ідея	14,07

Розрахунок ціни одиниці товару за агрегатним методом:

$$Ц = Ц_1 + Ц_2 + \dots + Ц_i, \text{ [грн/од]}$$

$$Ц = 1.17 + 1.18 + 3 + 10.48 + 14.07 = 30 \text{ грн/од}$$

Параметричний метод – враховує вагомість якісних параметрів товару і оцінку цих параметрів споживачем. У табл. 3.15 наведено розрахунок ціни нашого товару.

$$Ц_{\text{нової моделі}} = Ц_{\text{базової моделі}} \times \frac{\text{Балова оцінка нової моделі}}{\text{Балова оцінка базової моделі}} \text{ [грн/од]},$$

Таблиця 3.15.

Розрахунок ціни товару за параметричним методом

Продукт	Параметри								Ціна
	1		2		3		4		
	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	Бали	Коефіцієнт вагомості	
Аналог	4	0,35	4	0,25	3	0,2	3	0,2	$58 / (1,4 + 1 + 0,6 + 0,6) = 16,1$
Новий	5	0,35	5	0,25	4	0,2	5	0,2	$16,1 * (1,75 + 1,25 + 0,8 + 1) = 77,28$

3.5.1 Основні фонди підприємства

Термін експлуатації основних фондів та амортизаційні відрахування наведено в таблиці 3.16. Необхідне приміщення – 270 м². Будівлю орендовано у місті Українка.

Таблиця 3.16.

Вартість основних фондів

№	Найменування	Кількість, шт	Вартість, грн	Норма амортизації %	Амортизаційні відрахування, грн
1	Виробниче приміщення	1	200 000	20	40 000
2	Реактор з мішалкою, 50 л	1	35 000	20	7000
3	Ротаційний випаровувач	1	54 000	20	10 800
4	Сепаратор	1	6 000	20	1200
5	Центрифуга	1	90 000	20	18 000
6	Магнітна мішалка	1	2000	20	400
7	Пакувальна установка	1	40 000	20	8000
8	Лабораторний посуд	250	7000	20	1 400
9	Магніти	3	4 000	20	800
	Загальна вартість		438 000		87 600

Очікуваний термін корисного використання біотехнологічного обладнання – 5 років.

Річна норма амортизації = $100 \% : 5 \text{ р.} = 20 \%$

Щоквартальна норма амортизації = $20 \% : 4 = 5 \%$

3.5.2 Оборотні фонди підприємства

Таблиця 3.17.

Забезпеченість проекту оборотними фондами

Група ОБФ	Назва	Норма витрат на рік	Ціна, грн	Ціна, грн/рік
Сировина	$\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	650 кг	9 грн/кг	5 850
	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1400 кг	140 грн/кг	196 000
	Розчин аміаку	1800 л	28 грн/кг	50 400
	Олеат натрію	15 кг	155 грн/кг	2 325
	Дистильована вода	15 000 л	7 грн/л	105 000
Паливо, електроенергія	Паливо	1 100 л	25 грн/л	27 500
	Електроенергія (освітлення та електрообладнання)	200 000 кВт	1,68 грн/кВт · год	336 000

Продовження таблиці 3.17.

	Водопостачання	300 м ³	25,38 м ³	7 614
Пакування	Упаковка	335 100	3 грн	1 005 300
Охорона	Договір охорони	-	1500 грн/міс	18 000
Реклама	-	-	15 000 грн/міс	180 000
Оренда	Договір оренди приміщення	-	20 000 грн/міс	240 000
ФОП	Трудові ресурси (табл. 3.15)	-	-	3 074 400
Всього				5 248 389

Таблиця 3.18.

Забезпеченість проекту трудовими ресурсами

Категорія кадрів	Назва посади	Чисельність за списком на посаді	Кваліфікаційні вимоги	Плановий рівень заробітної плати	
				За місяць	За рік
Основні робочі	Апаратник	2	Середня фахова освіта, досвід роботи від 5 років	25 000	600 000

Продовження таблиці 3.18.

Робочі допоміжні	Вантажник, водій	2	-	18 000	432 000
	Прибиральник	1	-	10 000	120 000
Спеціалісти	Економіст	1	Вища економічна освіта	20 000	240 000
	Маркетолог	1	Вища освіта	15 000	180 000
Молодший персонал	Інженер контролю якості	1	Вища освіта, досвід роботи від 1 року	16 000	192 000
	Хімік - лаборант	1	Середня спеціальна освіта	13 000	156 000
Керівний персонал	Менеджер	1	Вища освіта, досвід від 2 років на керівній посаді	20 000	240 000
	Головний технолог	1	Вища освіта, досвід роботи від 5 років	30 000	360 000
Всього				167 000	2 520 000
Соц. відрахування до Пенсійного фонду (22 %)				36 740	554 400

Продовження таблиці 3.18.

ФОП	203	3 074
	740	400

3.5.3 Розрахунок собівартості виробництва

Капіталовкладення:

$$K = \text{ОФ} + \text{Об.З} = 438 + 5\,248\,389 = 5\,686\,389 \text{ грн/кг}$$

Собівартість виробництва:

$$C_{\text{рік}} = \text{Об.З} + A = 5\,248\,389 + 87\,600 = 5\,335\,989 \text{ грн/рік,}$$

де С – собівартість НДР,

ОбЗ – оборотні засоби,

A – амортизаційні витрати.

Розрахуємо собівартість одиниці продукції. Плановий випуск продукції – 335 000 одиниць на рік (флакони по 150 мл).

Собівартість на одиницю продукції:

$$C_{\text{прод}} = C/B = 5\,335\,989 / 335\,000 = 15,93 \text{ грн/од}$$

Планова ціна на одиницю продукції під час реалізації = 30 грн

Обґрунтування собівартості товару наведено в табл. 3.16

Таблиця 3.19.

Обґрунтування собівартості товару, грн

Статті витрат	Витрати (грн)	
	на одиницю	на рік
Амортизаційні витрати	0,26	87 600
Оборотні фонди	15,67	5 248 389
Собівартість	15,93	5 335 989

Як уже зазначалося вище, планова ціна на одиницю продукції під час реалізації дорівнює приблизно 30 грн.

Прибуток підприємства розраховуємо за формулою:

$$\Pi = \text{Ц} - \text{С};$$

$$\Pi = 335\,000 \cdot 30 - 5\,335\,989 = 4\,714\,011 \text{ грн/рік.}$$

Прибуток з одиниці продукції:

$$4\,714\,011 / 335\,000 = 14,07 \text{ грн/од}$$

Таким чином, за витратним методом прогнозована ціна продукту становитиме:

$$\text{Ц} = \text{С} + \Pi = 15,93 + 14,07 = 30 \text{ грн/од.}$$

Рентабельність:

$$P = (\Pi / \text{С}) \times 100;$$

$$P = (4\,714\,011 / 5\,335\,989) \times 100 = 88,3 \%$$

Термін повернення капіталовкладень:

$$T_{\text{пов.кап.}} = \text{С} / \Pi = 5\,335\,989 / 4\,714\,011 = 1,13 \text{ роки}$$

Фондовіддача виробничих фондів:

$$\text{ФВ} = (\text{Ц} \times \text{В}) / \text{ОФ};$$

$$\text{ФВ} = (30 \times 335\,000) / 438\,000 = 22,95 \text{ грн/грн.}$$

Фондоємність:

$$\text{ФС} = 1 / \text{ФВ} = 1 / 22,95 = 0,044 \text{ грн/грн}$$

Продуктивність праці:

$$\text{ПП} = \text{В} / (\text{Ч}_{\text{сп}} \times T);$$

$$\text{ПП} = 335\,000 / (11 \times 1,13) = 26\,950 \text{ грн./ос.}$$

Коефіцієнт економічної ефективності:

$$E = \Pi / K;$$

$$E = 4\,714\,011 / 5\,686\,389 = 0,83 \text{ грн/грн.}$$

Для перевірки достатності обсягу випуску продукції для формування ефективного прибутку використано метод точки беззбитковості:

$$Q = FC / (P - AVC)$$

$$Q = 5\,248\,389 / (30 - 15,93) = 373\,019 \text{ од.}$$

Розрахунки показують, що точка беззбитковості досягається після випуску 373 019 од. продукції. Оскільки на рік планований випуск продукції – 335 000 на рік, слід вважати, що точка беззбитковості досягається після, приблизно, 14-15 місяців виробництва.

Розглянемо можливі джерела фінансування проекту (табл. 3.20).

Таблиця 3.20.

Джерела фінансування

Запозичені	Власні
1. Кошти державного та місцевих бюджетів	1. Амортизаційні відрахування від основних засобів і нематеріальних активів
2. Банківські кредити	
3. Спеціальні фонди та програми	2. Прибуток, що залишається в розпорядженні підприємства.
4. Кошти інвесторів	

У табл. 3.21 наведено техніко-економічні показники стартап-проекту.

Таблиця 3.21.

Техніко-економічні показники проекту

Показники	Одиниця виміру	Значення
1. Річний обсяг реалізації ідеї, технології, методики	одиниці	335 000
2. Середньорічна чисельність персоналу за списком	осіб	11
3. У тому числі		
- основних	осіб	5
- інженерно-технічного персоналу		6
4. Середньорічний виробіток робітника	од/особу	26 950
5. Капіталовкладення у проект:		
- всього	грн. грн/од	5 686 38
- на одиницю продукції		9 15,97
6. Повна собівартість		
- всього	грн. грн/од	5 335 98
- на одиницю продукції		9 15,93
7. Відносний прибуток		
- всього	грн. грн/од	4 714 01
- на одиницю продукції		1 14,07
8. Рентабельність	%	88,3
9. Період повернення капіталовкладень	років	1,13
10. Фондовіддача виробничих фондів	грн/грн	22,95

Продовження таблиці 3.21.

11. Фондоємкість	грн/грн	0,044
12. Продуктивність праці	грн/особу	26 950
13. Коефіцієнт економічної ефективності		0,83

3.6 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту

Таблиця 3.22.

Карта бізнес-процесів виконання стартап-проекту

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу, год	Верхня межа витрат, грн
Розробка ідеї стартапу	Створення ідеї	Людські, фінансові	40	-
	Формування команди		100	-
	Аналіз ринку		80	10 000
	Проектування виробництва		200	30 000

Продовження таблиці 3.22.

	Розробка бізнес-плану		125	15 000
Реалізація ідеї стартапу	Реєстрація суб'єкта господарчої діяльності	Людські, фінансові	70	3 000
	Реєстрація торгової марки		70	1 000
	Отримання дозволу на побудову виробництва		120	4 000
	Укладення договору з банком		80	2 000
	Укладення договору з мережею збуту		50	4 000
	Укладення договору з постачальниками сировини та обладнання		60	2 000

Продовження таблиці 3.22.

Впровадження виробництво	Запуск договорів	Людські, фінансові, матеріальні	45	1 000	
	Проведення ремонтних робіт та технічного оснащення		500	120 000	
			Купівля обладнання	50	250 000
			Купівля сировини	50	260 000
	Проведення налаштувальних робіт		170	30 000	
	Сертифікація продукції та виробництва		90	3 000	
Масова реалізація	Проведення рекламної кампанії	Людські, фінансові	280	230 000	
	Укладення договору з постачальниками сировини та обладнання		50	5 000	

Продовження таблиці 3.22.

	Підготовка документації для участі у тендерних закупівлях		100	3 000
Всього:			2 330	973 000

На основі карти бізнес-процесів виконання стартап-проекту, проведено розподіл функцій між відповідальними за їх реалізацію працівниками, отже визначено фактори і елементи бізнес-процесів методом системного аналізу (табл. 3.23).

Таблиця 3.23.

Системний аналіз бізнес-процесів стартапу

Функції	Елементи			
	Розробник	Провідні спеціалісти	Виробничий персонал	Спеціалісти з контролю якості
Розробка ідеї	+	-	-	-
Формування команди	+	+	-	-
Аналіз ринку	+	+	-	-
Проектування виробництва	+	+	-	-
Розробка бізнес-плану	+	+	-	-

Продовження таблиці 3.23.

Реєстрація суб'єкта господарчої діяльності	+	+	-	-
Реєстрація торгової марки	+	+	-	-
Отримання дозволу на побудову виробництва	-	+	-	-
Укладення договору з банком	-	+	-	-
Укладення договору з мережею збуту	-	+	-	-
Укладення договору з постачальниками сировини та обладнання	-	+	-	-
Запуск договорів	-	+	-	-
Проведення ремонтних робіт та технічного оснащення	-	-	+	+
Проведення налаштувальних робіт	-	-	+	+

Продовження таблиці 3.23.

Виготовлення першої партії продукції	-	-	+	+
Сертифікація продукції та виробництва	-	+	-	+
Проведення рекламної кампанії	-	+	-	-
Підготовка документації для участі у тендерних закупівлях	-	+	-	+

3.7 Ризики стартап-проекту та методи управління ними

У розділі наведено перелік потенційних ризиків, що можуть виникнути під час реалізації проекту.

Результати системного аналізу зовнішніх та внутрішніх ризиків бізнес-процесу наведено у табл. 3.24.

Таблиця 3.24.

Ризики інноваційної розробки

Назва процесу /стадії реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Зовнішні ризики	Внутрішні ризики
Розробка ідеї стартапу	Розробка бізнес-плану	-	Помилки при плануванні бізнес-процесів

Продовження таблиці 3.24.

	Формування команди	Нестача спеціалістів	Найм не досить кваліфікованих працівників
Реалізація ідеї	Отримання дозволу на побудову виробництва	-	Відмова у дозволі
	Заключення договору з банком	Несприятлива економічна обстановка в країні, що веде до зниження фінансування підприємств	Невигідні умови укладення договору
Впровадження у виробництво	Проведення ремонтних робіт та технічного оснащення	Підвищення цін на матеріали та ремонтні роботи	Неналежне виконання ремонтних робіт
	Виготовлення першої партії продукції	-	Збої у роботі обладнання, помилки персоналу
Масова реалізація	Проведення рекламної компанії	Конкуренти	Неефективне рекламування продукції

Для кожного з ризиків оцінено ймовірність настання та вплив на очікуваний результат (табл.3.25).

Таблиця 3.25.

Ризики інноваційної розробки та ймовірність їх настання

Види ризиків	Назва ризику	Ймовірність настання	Вплив на очікуваний результат
Зовнішні ризики			
Демографічний ризик	Нестача спеціалістів внаслідок трудової міграції;	Середня	Високий
Політико-законодавчий ризик	Відмова у дозволі на будівництво	Низька	Високий
Макроекономічний ризик	Несприятлива економічна обстановка в країні, що може призвести до зниження фінансування підприємств	Середня	Високий
	Підвищення цін на матеріали	Середня	Високий
	Підвищення цін на ремонтні роботи	Середня	Високий
Внутрішні ризики			
Управлінський ризик	Помилки при плануванні бізнес-процесів	Низька	Середній

Продовження таблиці 3.25.

	Найм не досить професійних працівників	Низька	Середній
Ризик зниження фінансових показників	Невигідні умови укладання договорів	Середня	Високий
Організаційний ризик	Нестача коштів на придбання якісного обладнання	Низька	Високий
Техніко-технологічний ризик	Неналежне виконання ремонтних робіт	Середня	Середній
	Збої у роботі обладнання	Середня	Середній
Ризик зниження фінансових показників	Неефективне рекламування продукції	Середня	Середній

Результати оцінювання всіх ризиків за критеріями настання та впливом на очікуваний результат наведено у матриці оцінки ризиків (табл. 3.26).

Таблиця 3.26.

Матриця оцінки ризиків

За впливом ризиків на очікуваний результат	За ймовірністю настання ризиків		
	Низька ймовірність	Середня ймовірність	Висока ймовірність
Критерій ризику			

Продовження таблиці 3.26.

	Числове значення	1	2	3
Високий рівень впливу	3	<p>1) Відмова у дозволі на будівництво</p> <p>2) Нестача коштів на придбання якісного обладнання</p> <p>3) Нестача коштів на придбання якісного обладнання</p>	<p>1) Нестача спеціалістів внаслідок трудової міграції</p> <p>2) Неприятлива Економічна обстановка в країні, що може призвести до зниження фінансування підприємств</p> <p>3) Підвищення цін на матеріали</p> <p>4) Підвищення цін на ремонтні роботи</p> <p>5) Невигідні умови укладання договорів</p>	

Продовження таблиці 3.26.

Середній рівень впливу	2	1)Помилки при плануванні бізнес-процесів 2) Найм не досить професійних працівників	1)Неналежне виконання ремонтних робіт 2)Збої у роботі обладнання 3)Неефективне рекламування продукції	
Низький рівень впливу	1			

Для усіх зазначених ризиків розроблено план управління ними (табл. 3.27).

Таблиця 3.27.

План заходів з управління ризиками

Назва ризику	Назва методу управління ризиком	Відповідальні виконавці	Період виконання / застосування методу	Очікувані результати від впровадження методів управління
Нестача спеціалістів внаслідок трудової міграції чи	Прийняття ризику	Директор	На усіх стадіях	Активний пошук спеціалістів, створення вигідних умов праці

Продовження таблиці 3.27.

Відмова у дозволі на будівництво	Попередження ризику	Директор	Стадія реалізації ідеї стартапу	Моніторинг правового середовища
Несприятлива економічна обстановка в країні, що може призвести до зниження фінансування підприємств	Прийняття ризику	Економіст	Стадія реалізації ідеї стартапу	Використання резервних коштів
Подорожчання сировини та обладнання	Прийняття ризику	Економіст	Стадія впровадження у виробництво	Покриття збитку з поточного доходу
Підвищення цін на ремонтні роботи	Прийняття ризику	Економіст	Стадія впровадження у виробництво	Залучення додаткових інвестицій для відновлення роботи
Помилки у плануванні бізнес-процесів	Попередження ризику	Директор	На усіх стадіях	Моніторинг економічного середовища, залучення спеціалістів з бізнес-планування

Продовження таблиці 3.27.

Призначення на посади непрофесійних працівників	Попередження ризику	Директор	На усіх стадіях	Детальне вивчення інформації, тестування знань та навичок працівників
Невигідні умови заключення договору з банком	Ухилення від ризику	Економіст	Стадія реалізації ідеї стартапу	Відмова від прийняття ризикованих проєктів, рішень
Нестача фінансових коштів на придбання якісного обладнання	Прийняття ризику	Економіст	Стадія реалізації ідеї стартапу	Самострахування за рахунок резервних коштів
Неналежне виконання ремонтних робіт	Ухилення від ризику	Спеціаліст з якості	Стадія впровадження у виробництво	Відмова від ненадійних партнерів та постачальників
Збої у роботі обладнання	Передача ризику	Інженер з апаратного обслуговування	Стадії впровадження у виробництво та масової реалізації	Отримання гарантій на роботу обладнання від виробників

Продовження таблиці 3.27.

Неефективне рекламування продукції	Передача ризиків	Маркетолог	Стадія масової реалізації	Аутсорсинг ризиків
--	---------------------	------------	---------------------------------	-----------------------

ВИСНОВКИ

1. Вирощування рослин *Nicotiana tabacum* просягом 48 днів на середовищах з МНЧ показало, що за концентрацій наночастинок магнетиту 0,05 мг/мл та 0,1 мг/мл відбувається позитивний вплив на ріст та розвиток рослин тютюну, в результаті якого вага зеленої біомаси рослини збільшується на 20 % та 7,3 %, загальна площа листя рослини на 62 % та 45 % та маса коренів на 94 % та 86 % відповідно, в порівнянні з контролем. Визначено, що корені рослин при концентрації МНЧ 0,05 мг/мл мають велику кількість бічних коренів в порівнянні з контролем, що може пояснюватися збільшенням активності синтезу фітогормону ауксину, що впливає на формування та ріст бічних коренів.
2. Раціоналізовано режим внесення магнітних наночастинок при вирощуванні *Nicotiana tabacum*, додавання магнетиту відбувалося через 4 тижні після висадки проростків в ґрунт, тобто по завершенню вкорінення рослини, в результаті чого жодна рослина не загинула.
3. Досліджено динаміку накопичення тривалентного заліза в органах рослин *Nicotiana tabacum* за допомогою реакції Перлса, які проводилися через кожні 2 тижні – всього три рази, показують збільшення накопичення заліза у рослин вирощуваних на середовищі з МНЧ $c = 0,1$ мг/мл, для концентрації 0,05 мг/мл та контролю не помічається видимих змін.
4. При одночасному додаванні розчину кадмію $c = 5\text{мМ}$ та магнетиту в концентраціях 0,05 мг/мл та 0,1 мг/мл протягом 7 днів, відбувалося пригнічення росту контрольної групи рослин (без додавання магнетиту) – кількість листя зменшилася на 27 %. Одна з рослин першої дослідної групи ($c=0,05$ мг/мл) почала проявляти ознаки токсичного впливу важкого металу. Проте рослини другої дослідної групи ($c=0,1$ мг/мл) збільшилися на 5,3 % у висоту в середньому, а кількість листків залишилася без змін. Тобто зі збільшенням концентрації магнетиту до

0,1 мг/мл збільшується толерантність рослин до токсичної дії кадмію з концентрацією $c = 5\text{мМ}$.

5. Розроблено стартап-проект по виробництву нанодобрива на основі магнітних наночастинок для прискорення росту зеленої біомаси рослин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ali A., Shah T. Review on Recent Progress in Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Diverse Applications // Front Chem. - 2021. - № 9.
2. Sanzari I., Leone A. и др. Nanotechnology in Plant Science: To Make a Long Story Short // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2019.
3. Harry M. W. The application of magnetic nanoparticles in the treatment and monitoring of cancer and infectious diseases // Bioscience Horizons: The International Journal of Student Research. – 2017. – №10.
4. Zia-ur-Rehman M., Naeem A. Responses of Plants to Iron Oxide Nanoparticles - Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms // CONCEPTS AND CONTROVERSIES. – 2018. - №1. С. 221-238.
5. Shankamma K., Yallappa S. Fe₂O₃ magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization. Applied Nanoscience. – 2016. – №6. – С. 983-990.
6. Simone Grisan, Rachele Polizzotto и др. Alternative use of tobacco as a sustainable crop for seed oil, biofuel, and biomass. Agronomy for Sustainable Development. – 2016. – № 36.
7. Berbeć A. K. Mariusz и др. Biomass Characteristics and Energy Yields of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Cultivated in Eastern Poland // Agriculture/- 2020. № 10. С. 551.
8. Kufe D.W., Pollock R.E. и др. Cancer Medicine. 6th edition. Conn. : People's Medical Pub. House. – 2010.
9. Електронний ресурс: [<https://www.botanichka.ru/article/tabak/>].
10. Andrianov V., Borisjuk N. Tobacco as a production platform for biofuel: overexpression of Arabidopsis DGAT and LEC2 genes increases accumulation and shifts the composition of lipids in green biomass // Plant Biotechnology Journal.- 2010. №8. Т.3. С. 277-287.
11. Barla F.G., Kumar S. Tobacco biomass as a source of advanced biofuels // Biofuels. 2016

12. Ju M., Navarreto-Lugo M. Exploring the chelation-based plant strategy for iron oxide nanoparticle uptake in garden cress (*Lepidium sativum*) using magnetic particle spectrometry // The Royal Society of Chemistry.- 2019.
13. Rui M., Ma C. Iron Oxide Nanoparticles as a Potential Iron Fertilizer for Peanut (*Arachis hypogaea*) // Front Plant Sci.-2016. №7. С. 815.
14. Электронный ресурс [<https://www.smart-fertilizer.com/articles/iron/>].
15. Электронный ресурс: [<https://blog.polyprocessing.com/blog/using-ferric-chloride>].
16. Mohamed M.A. и др. Magnetic nanoparticles in plant protection: Promises and risks. In: Magnetic Nanostructures. Cham: Springer. – 2019. – С. 225-246.
17. Hoda, M. Mohamed и др. Effect of Magnetite and Some Biofertilizer Application on Growth and Yield of Valencia Orange Trees Under El – Bustan Condition. Nature and Science. – 2013. – Т. 11. – №6.
18. Abou El-Nasr M. K. и др. Effect of Magnetite Nanoparticles (Fe_3O_4) as Nutritive Supplement on Pear Saplings // Middle East Journal of Applied Sciences. – 2015. – Т. 3. – № 5.
19. Iannone M. F., Groppa M. D. и др. Magnetite nanoparticles coated with citric acid are not phytotoxic and stimulate soybean and alfalfa growth // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2021. – №211.
20. Kokina I., Plaksenkova I. Impact of iron oxide nanoparticles on yellow medick (*Medicago falcata* L.) plants // Journal of Plant Interactions.- 2020.- №15. - Т.1.- С. 1-7.
21. Pérez-de-Luque A. Interaction of Nanomaterials with Plants: What Do We Need for Real Applications in Agriculture?// Front. Environ. Sci. – 2017.
22. Pacheco I., Buzea C. Nanoparticle Interaction with Plants // Nanoscience and Plant–Soil Systems. -2017. - №48. С.323-355.
23. Shahid A., Mehmood A. Uptake, Translocation, and Consequences of Nanomaterials on Plant Growth and Stress Adaptation// Journal of Nanomaterials. – 2021.

24. Telizhenko V., Gorobets S. Fruit yield of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) grown under different magnetite concentrations // *Biotechnology of XXI century - XIV all-Ukrainian scientific-practical conference*. – 2020.

25. Jensen, K. H., Mullendore, D. L. и др. Modeling the hydrodynamics of Phloem sieve plates // *Frontiers in plant science*. -2012. -№ 3. С. 151.

26. Слободян А.С. Вплив магнетиту на проростання насіння та ріст рослин гороху посівного *Pisum sativum* / *Біотехнологія ХХІ століття: тези доповідей XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції/ Міністерство освіти і науки України, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут»*. – К.: НТУУ «КПІ», 2020. 135 с.

27. Ільчук Н. М., Банникова М. О. Вплив магнетиту на рослини *Nicotiana tabacum* в культурі *in vitro* «Біотехнологія ХХІ століття»: матеріали XIII Всеукраїнської науковопрактичної конференції (Київ, 19 квітня 2019) – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2019. – с. 94

28. Кушнір Є.Є. Вплив магнетиту на ріст рослин петрушки кучерявої *Petroselinum Crispum* «Біотехнологія ХХІ століття»: матеріали XIV Всеукраїнської науково практичної конференції (Київ, 20 травня 2020) / Міністерство освіти і науки України, КПІ ім. Ігоря Сікорського, – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, вид-во «Політехніка», 2020. – с. 124.

29. Кушнір Є.Є. Вплив магнетиту на ріст накопичення флавоноїдів рослинами петрушки кучерявої *Petroselinum Crispum* «Біотехнологія ХХІ століття»: матеріали XIV Всеукраїнської науково практичної конференції (Київ, 20 травня 2020) / Міністерство освіти і науки України, КПІ ім. Ігоря Сікорського, – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, вид-во «Політехніка», 2020. – с. 125.

30. Короткова А.М., Лебедев С.В., Каюмов Ф.Г., Сизова Е.А. Морфофизиологические изменения у пшеницы (*Triticum vulgare* L.) под влиянием наночастиц металлов (Fe, Cu, Ni) и их оксидов (Fe₃O₄, CuO, NiO) // С.-х. биол., Сельхозбиология, S-h biol, Sel-hoz biol, Sel'skokhozyaistvennaya biologiya, Agricultural Biology. 2017.

31. Bussières P. Estimating the number and size of phloem sieve plate pores using longitudinal views and geometric reconstruction // *Scientific Reports*. - 2014. -№4. -С. 4929.
32. Kobayashi A., Golash H. N. и др. A first test of the hypothesis of biogenic magnetite-based heterogeneous ice-crystal nucleation in cryopreservation. *Cryobiology*. – 2016. – Т 72. – № 3. – С. 216-224.
33. Gorobets S. Biogenic magnetic nanoparticles in human organs and tissues / Gorobets S., Medviediev O., Gorobets O., Ivanchenko A. // *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. – 2018. – Vol. 135. – P.49-57.
34. Gorobets S. V., Gorobets O. Yu. и др. Biogenic magnetic nanoparticles in plants. – 2019.
35. Akar M., Atis I. The effects of priming pretreatments on germination and seedling growth in perennial ryegrass exposed to heavy metal stress // *Fresenius Environmental Bulletin*. -2018. -№ 27. -Т. 10. С. 6677-6685.
36. Arifl N., Yadav V. Influence of High and Low Levels of Plant-Beneficial Heavy Metal Ions on Plant Growth and Development // *Front. Environ.* – 2016.
37. Goyal D., Yadav A. и др. Effect of Heavy Metals on Plant Growth: An Overview // *Contaminants in Agriculture*. -2020. С. 79-101.
38. Ojuederie O. B., Babalola O.O, Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. -2017. -№ 14. С.1504.
39. ERTEKİN E. N., ERTEKİN İ. и др. Effects of Some Heavy Metals on Germination and Seedling Growth of Sorghum // *KSU J. Agric Nat*. -2020. -Т. 23. - № 6. -С. 1608-1615.
40. Khalid S., Shahid M. A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils // *Journal of Geochemical Exploration*. – 2016. -№ 182. -С.247 – 268.

41. Ojuederie O. B., Babalola O.O, Microbial and Plant-Assisted Bioremediation of Heavy Metal Polluted Environments: A Review // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. -2017. -№ 14. С.1504.
42. Yang Yang, Ge Y. Phytoextraction of cadmium-contaminated soil and potential of regenerated tobacco biomass for recovery of cadmium // *Sci Rep*. -2017. -№ 7. - С.7210.
43. Vera-Estrella R., Mari´a F. Go´mez-Me´ndez и др. Cadmium and zinc activate adaptive mechanisms in *Nicotianatabacum* similar to those observed in metal tolerant plants // *Springer*. -2017.
44. Zhou P., Adeel M., Application of Nanoparticles Alleviates Heavy Metals Stress and Promotes Plant Growth: An Overview // *Nanomaterials (Basel)*. -2021. -№ 11. -С.26.
45. Rahmatizadeh R., Mohammad S. И др. Response of tomato plants to interaction effects of magnetic (Fe_3O_4) nanoparticles and cadmium stress // *Journal of Plant Interactions*. -2019. -№14. -Т.1. -С. 474-481.
46. Mishra J., Singh R. Alleviation of Heavy Metal Stress in Plants and Remediation of Soil by Rhizosphere Microorganisms // *Front. Microbiol*. -2016.
47. Lisuma, J. B., Zuberi, Z. И др. Linking rhizosphere bacterial diversity and soil fertility in tobacco plants under different soil types and cropping pattern in Tanzania: A pilot study // *Heliyon*. -2020. -Т.6. -№7.
48. Yan L., Zhang W. Temporal Bacterial Community Diversity in the *Nicotiana tabacum* Rhizosphere Over Years of Continuous Monocropping // *Front. Microbiol*. – 2021.
49. Якубовський Б.В., Стрельчук М.Д. «Пошук продуцентів БМН серед мікроорганізмів, що населяють ризоплану та ризосферу тютюну»/«Біотехнологія ХХІ століття»: матеріали XV Всеукраїнської науково практичної конференції (Київ, 23 квітня 2021) / Міністерство освіти і науки України, КПІ ім. Ігоря Сікорського, – Київ: КПІ ім. Ігоря Сікорського, вид-во «Політехніка», 2021. – с. 137.

50. Горбик П. П. Магнитные свойства наночастиц Fe_3O_4 , полученных жидко-и твердофазным синтезом / П. П. Горбик, В. Н. Мищенко, Н. В. Абрамов, Д. Г. Усов, Ю. Н. Троценков // Поверхность. – 2009.
51. Iezzoni J.C "Diagnostic histochemistry in hepatic pathology" // Seminars in Diagnostic Pathology. – 2018. -№35. -С. 381–389.
52. Garcia-Casal, Maria N. P. "Serum or plasma ferritin concentration as an index of iron deficiency and overload" // Cochrane Database of Systematic Reviews. -2015.
53. Bonafede R. Magnetic resonance imaging of ultrasmall superparamagnetic iron oxide-labeled exosomes from stem cells: a new method to obtain labeled exosomes // International Journal of Nanomedicine. -2016. -№11. С. 2481–2490.
54. Awaad A. Histopathological and immunological changes induced by magnetite nanoparticles in the spleen, liver and genital tract of mice following intravaginal instillation // The Journal of Basic & Applied Zoology. -2015. №-№71. С. 32-47.
55. Drury, R. A. B.; Wallington, E. A. Carleton's Histological Technique (5th ed.) // Oxford University Press. -1980. p. 520.
56. Busquets M. A., Estelrich J. Prussian blue nanoparticles: synthesis, surface modification, and biomedical applications // Drug Discovery Today. -2020. -№ 25. Т. 8. С. 1431-1443.
57. Tawfik M. M., Magda H. Mohamed, Iron oxide nanoparticles effect on growth, physiological traits and nutritional contents of *Moringa oleifera* grown in saline environment // Bulletin of the National Research Centre. -2021. -Т.45. -№ 177.
58. Ivanchenko M. G., Napsucialy-Mendivil S. Auxin-induced inhibition of lateral root initiation contributes to root system shaping in *Arabidopsis thaliana* // Plant J.- 2010. -Т.64. -№5. С.740-752.