

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА
ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

Дипломна магістерська робота

на тему Біотехнологічні аспекти отримання наночасток за допомогою
Lactobacillus acidophilus

Виконав: студент 2 курсу,
групи МгБТ-20
спеціальності 162 Біотехнології та
біоінженерія освітньої програми
Біотехнологія високомолекулярних сполук
Богдан КОШЕЛАП
Керівник к.б.н., доц. Ольга ЮНГІН
Рецензент доцент кафедри біотехнології,
шкіри та хутра, к.т.н. Олена ОХМАТ

Київ 2021

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ
ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія високомолекулярних сполук

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри _____

д.т.н., проф. Олена МОКРОУСОВА
« ___ » грудня 2021 року

ЗАВДАННЯ
НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Кошеляну Богдану Андрійовичу

1. Тема роботи Біотехнологічні аспекти отримання наночасток за допомогою *Lactobacillus acidophilus*
науковий керівник роботи к.б.н., доц. Ольга ЮНГІН
затверджені наказом вищого навчального закладу від
«04» жовтня 2021 року № 286.
2. Строк подання студентом роботи _____
3. Вихідні дані до роботи: завдання на дипломну магістерську роботу; наукова література щодо властивостей наночасток, характеристики *Lactobacillus acidophilus*, результати експериментів що отримані у лабораторії під час роботи з *Lactobacillus acidophilus*; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик.
4. Зміст дипломної роботи
огляд літератури; об'єкт, мета та методи дослідження; експериментальна частина; висновки; список використаних джерел додатки

5. Консультанти розділів дипломної магістерської роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	<i>Ольга ЮНГІН, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	04.10.2021	30.10.2021
Розділ 2	<i>Ольга ЮНГІН, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	04.10.2021	20.11.2021
Розділ 3	<i>Ольга ЮНГІН, доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	04.10.2021	01.12.2021

6. Дата видачі завдання 04.10.2021р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ	16.10.2021	
2	Розділ 1 Огляд літератури	30.10.2021	
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи дослідження	20.11.2021	
4	Розділ 3 Експериментальна частина	01.12.2021	
5	Висновки	01.12.2021	
6	Оформлення дипломної магістерської роботи	07.12.2021	
7	Подання дипломного дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування	01.12.2021	
8	Перевірка дипломної магістерської роботи у наявність ознак плагіату	06.12.2021	
9	Подання дипломної магістерської роботи у відділ магістратури для перевірки виконання індивідуального навчального плану		
10	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри		

Студент _____ Богдан КОШЕЛАП

Науковий керівник роботи _____ Ольга ЮНГІН

Директор НМЦУПФ _____ Олена ГРИГОРЕВСЬКА

АНОТАЦІЯ

Кошелап Б. А. Біотехнологічні аспекти отримання наночастинок за допомогою *Lactobacillus acidophilus*. – Рукопис.

Дипломна магістерська робота за спеціальністю 162 – Біотехнології та біоінженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2021 рік.

Дипломну магістерську роботу присвячено отриманню біогенних наночастинок срібла з використанням лактобактерій *Lactobacillus acidophilus*, при культивуванні на різних поживних середовищах та дослідженню їх спектрофотометричних та антибактеріальних властивостей.

У дипломній роботі обґрунтовано технологію зеленого синтезу наночастинок за допомогою лактобактерії *Lactobacillus acidophilus*.

Ключові слова: *Lactobacillus acidophilus*, наночастки срібла, антибактеріальна дія.

ABSTRACT

Koshelap B. A. Biotechnological aspects of obtaining nanoparticles using *Lactobacillus acidophilus*. – Manuscript.

Master's thesis work in specialty 162 – Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2021.

The master's thesis is devoted to the production of biogenic silver nanoparticles using the lactobacilli *Lactobacillus acidophilus*, the study of their spectrophotometric and antibacterial properties.

The master's thesis is devoted to the production of biogenic silver nanoparticles using lactobacilli *Lactobacillus acidophilus*, in cultivation on various nutrient media and the study of their spectrophotometric and antibacterial properties.

The thesis of green synthesis of nanoparticles with the help of *Lactobacillus acidophilus* is substantiated in the thesis.

Keywords: Lactobacillus acidophilus, silver nanoparticles, antibacterial action.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	11
1.1 Характеристика наночасток.....	11
1.2 Властивості <i>Lactobacillus acidophilus</i>	17
1.2.1 Антагоністичні властивості <i>Lactobacillus acidophilus</i>	17
1.1.3 Імуномодулюючі властивості <i>Lactobacillus acidophilus</i>	18
1.1.4 Антиоксидантні властивості <i>Lactobacillus acidophilus</i>	19
1.3 Використання наночасток у медицині та космецевтиці	20
Висновки до розділу 1	23
РОЗДІЛ 2 МЕТОДИ І МАТЕРІАЛИ.....	24
2.1 Характеристика біологічного агента <i>Lactobacillus acidophilus</i>	24
2.1.1 Таксономічний статус <i>Lactobacillus acidophilus</i>	24
2.1.2 Морфолого-культуральні властивості <i>Lactobacillus acidophilus</i>	25
2.1.3. Фізіолого-біохімічні властивості <i>Lactobacillus acidophilus</i>	28
2.2 Поживні середовища, що використовували для культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i>	30
2.2.1 Капустяне середовище (КС) для культивування <i>Lactobacillus</i>	30
2.2.2 Середовище МРС (Ман, Рогоза, Шарп) для культивування <i>Lactobacillus</i>	31
2.3 Біосинтез наночасток срібла та церію за допомогою культури <i>Lactobacillus acidophilus</i>	32
2.4. Способи очистки та стерилізації отриманої суспензії наночасток.....	33
2.5.Спектрофотометричне дослідження суспензії на наявність наночасток та їх солей	33

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	35
3.1. Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла до культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i>	35
3.2. Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла після культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i>	40
3.3. Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату церію після культивування <i>Lactobacillus acidophilus</i>	42
Висновки до розділу 3	45
ВИСНОВКИ	46
СПИСОК ВИКОРИСТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	47
ДОДАТКИ.....	52

ВСТУП

Наночастинки металів володіють унікальними властивостями, що забезпечують яскраво-виражену антибактеріальну дію, антивірусну дію та антиоксидантну дію. Наприклад, мають високу адсорбційну активність, що обумовлює збільшення їхньої питомої поверхні, призводить до здатності поглинати на одиницю своєї маси у багато разів більше речовин, що адсорбується, ніж макроскопічні дисперсії. Ультрамалі розміри наночастинок металів обумовлюють підвищення біодоступності, подолання біобар'єрів, можливість зв'язування з нуклеїновими кислотами та білками, вбудовування в мембрани клітин, проникнення в органели зі зміною їхніх функцій [1].

Широко розповсюдженими методами синтезу наночастинок є фізичні та хімічні. Проте, вони є дорогими наприклад наночастинки срібла. Дослідження з ними є не дешеве оскільки проходить в багато етапів і зазвичай займають такі дослідження до двох тижнів. А саме методика біосинтезу наночастинок, полягає у синтезі сполук в присутності мікроорганізму *Lactobacillus acidophilus* у культивуванні на молоці з 1,5 % жирності. А також, хімічний метод біосинтезу наночастинок є енергоємним та токсичним [2].

У зв'язку з цим розвивається галузь отримання наночастинок металів за допомогою біосинтезу. Наприклад синтез нанокристалів CdS з використанням екстракту культури транс генних коренів льонку *Linaria maroccana* [3].

Основна задача використання біотехнологій полягає у дешевому та ефективному отриманні продукту. Тому, в даній роботі ми використали лактобактерії *Lactobacillus acidophilus*, оскільки нарощування їх біомаси є дешевим, швидким та безпечним [4].

Актуальність теми кваліфікаційної роботи полягає в дослідженні можливості синтезувати наночастинки срібла та церію з антибактеріальною дією.

Наукова новизна роботи полягає в дослідженні зеленого синтезу наночастинок металів за допомогою бактерій *Lactobacillus acidophilus*.

Метою роботи є проаналізувати можливість біосинтезу наночасток металів *Lactobacillus acidophilus* при рості на різних поживних середовищах.

Об'єкт дослідження роботи – біосинтез наночастинок срібла та церію бактеріями *Lactobacillus acidophilus*.

Предмет дослідження – бактерії *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 та їх властивості.

Для досягнення мети були поставлені такі **завдання**:

1. Провести культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на різних поживних середовищах КС, МРС, ГПС з внесенням нітрату срібла до культивування у різних концентраціях (0,1-0,5мМ, 1 мМ та 2 мМ).

2. Провести культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на різних поживних середовищах КС, МРС, ГПС з внесенням нітрату срібла після культивування у різних концентраціях (1 мМ та 2 мМ).

3. Провести культивування *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на різних поживних середовищах КС, МРС, ГПС з внесенням нітрату церію після культивування у різних концентраціях (1 мМ та 2 мМ).

Методи дослідження: біотехнологічні та біологічні методи, спостереження, узагальнення, спектрофотометричні, мікробіологічні, хімічні та статистичні методи.

Практичне значення отриманих результатів полягає у встановленні можливості зеленого синтезу наночасток металів з подальшим використанням у якості антибактеріальних агентів.

Апробацію наукових результатів проведено через їх оприлюднення на VI Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії», що відбулася у Харківському Національному фармацевтичному університеті 11-12 листопада 2021 року (Додаток А).

Публікації. Результати досліджень опубліковано в одних тезах збірників матеріалів науково-практичної конференції міжнародного рівня та стаття,

опублікованій у студентському науковому журналі «Освіта і наука» (Додаток В).

Бібліографія опублікованих робіт включає:

1. Волошина І.М., Кошелап Б.А., Талашенко Д.О. Біосинтез наночасток *Lactobacillus* // VI Міжнародна науково-практична інтернет - конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії», 11-12 листопада 2021. – Харків, Україна, 2021 р. – с. 262-264

2. **Кошелап Б.А., Талашенко Д.О., Волошина І.М. Застосування пробіотиків *Lactobacillus* в медицині та ветеринарії // Міжнародний науковий журнал “ОСВІТА І НАУКА”: МДУ, 2021. – № 2 (31) – С. 1-13 друк.**

Структура і обсяг магістерської роботи. Основна частина дипломної магістерської науково-дослідницької роботи викладена на 51 сторінках, і включає три основні розділи та висновки. В роботі представлено список використаних джерел, що налічує 54 найменувань публікацій вітчизняних та зарубіжних дослідників. В роботі представлено два додатка, що ілюструють виконання індивідуального плану магістра, представлені на 14 сторінках.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика наночастинок

Наночастки – один з найбільш загальних термінів для позначення ізольованих ультрадисперсних об'єктів, багато в чому дублює раніше відомі терміни (колоїдні частинки, ультрадисперсні частинки), але відрізняється від них чітко визначеними розмірними межами. Тверді частинки розміром менше 1 нм зазвичай відносять до кластерів, більше 100 нм - до субмікронних частинок [5].

У той же час, в деяких областях знання, зокрема, в біомедичних нанотехнологіях наночастинками часто умовно називають і об'єкти діаметром до декількох сотень нанометрів, малий розмір яких також відіграє значну роль в їх властивості та застосування (зокрема, забезпечуючи підвищену всмоктуваність слизової при пероральному введенні і EPR-ефект як «пасивну» адресацію системно вводяться протипухлинних препаратів [22, 23, 35, 53].

Причина визначення наночастинок з синонімами ультрадисперсних частинок та, що, протягом 1970-80-х, коли проводилися перші ретельні фундаментальні дослідження з "наночастинками" в США (по Гранквіст і Buhman) [35] і в Японії (в межах Ерато проекту) [37], їх називали "ультрадисперсними частинками" (UFP). Однак, в 1990-і роки перед Національною нанотехнологічною ініціативою, яка була запущена в США, нове ім'я, "наночастинок," стало модною [38]. Наночастки можуть або не можуть бути експонатами, пов'язані з розмірними властивостями, які значно відрізняються від тих, що спостерігалися в тонких частинках або сипучих матеріалах [17, 21]. Хоча розміри самої молекули потрапляють в вищевказані структури, окремі молекули, як правило, не називають наночастинками.

Нанокластери мають як мінімум один вимір між 1 і 10 нм і вузьким розподілом за розмірами. Нанопорошки [29] є агломерати з ультратонких

частинок, наночастинок, або нанокластерів. Нанометровим розміром монокристалів, або одного домену ультрадисперсних частинок, часто називають нанокристаллами.

Формальними ознаками наночастинок є сферична форма і розмір від 1 до 250-300 нм. У зв'язку з цим, в групу наночастинок відносять дуже різномірні за хімічною будовою і фізичними властивостями частки (табл. 1.1).

Таблиця 1.1.

Класифікація наночастинок

№	Вид наночастинок	Різновиди (приклади)
1	2	3
1	Вуглецеві наночастинок	Фулерени Цільновуглеводні наночастинок
2	Кремнеземні наночастинок	Аеросіл
3	Дендримери	Поліамідоамін Полілізін
4	Ліпосоми	Малі одношарові ліпосоми Великі одношарові ліпосоми Багатошарові ліпосоми
5	Полімерні міцели	Поліаспартат- <i>b</i> -поліетиленгліколь Полікапролактон- <i>b</i> -метокси- поліетиленгліколь
6	Квантові точки	Селенід кадмію Телурід кадмію Фосфід індію Арсенід індію

Продовження табл. 1.1

1	2	3
7	Полімерні біодеградуючі наночастинки	<u>Синтетичні:</u> Поліметилметакрилат Поліметилціанакрилат Гамма-поліглутамінова кислота Полілактид Полі (лактид-ко-гліколід) <u>Натуральні:</u> Хітозан Альбумін Желатин Агароза
8	Металеві наночастинки	Золото Срібло
9	Суперпарамагнітна частки	Оксид заліза
10	Перфторвуглеводні наночастинки	Наночастки, що складаються з рідкого перфторвуглеводного ядра, покриті ліпідним моношаром

Принципово можливо розподіл наночастинок на органічні (наприклад, фулерени, дендримери) і неорганічні (металеві та кварцові наночастинки). Фізико-хімічні властивості наночастинок зумовлюють їх призначення в наномедицині. Наприклад, чітко залежить від розміру квантової точки флуоресцентна емісія робить ці наночастинки незамінними для молекулярної візуалізації, а розгалужена структура дендримерів дає широкі можливості для їх функціоналізації і, отже, перетворює їх в перспективні засоби для доставки лікарських препаратів. Нижче дається коротка характеристика основних класів наночастинок і наводяться приклади їх використання в біології та медицині:

Фулерени являють собою відносно недавно описану аллотропну модифікацію вуглецю у вигляді порожніх сферичних утворень. Водорозчинні похідні фулерену C₆₀ знаходять широке застосування в терапії багатьох захворювань. Так, зокрема, похідні фулерену C₆₀ використовуються як противірусні [51] і антибактеріальні агенти [20]. У ряді досліджень показана ефективність фулеренів як фотосенсибілізаторів для фотодинамічної терапії онкологічних захворювань [48]. Антиоксидантні і антиапоптичні ефекти фулеренів можуть використовуватися в терапії бокового аміотрофічного склерозу і хвороби Паркінсона [27].

Дендримери є тривимірними розгалуженими монодисперсними макромолекулами. Типовим для структури дендримерів є повторюваний патерн розгалуження навколо центрального ядра, що забезпечує геометричну правильність дендримерів. Після досягнення п'яти порядків розгалуження, дендримери починають містити в своєму складі численні порожнини, які можуть використовуватися як наноконтейнери для лікарських препаратів.

Певна послідовність хімічних реакцій в ході синтезу дендримерів забезпечує формування макромолекулярного комплексу з заданими властивостями.

В даний час є досить багато даних про використання поліамідоамінових дендримерів в якості носіїв лікарських і діагностичних препаратів. Так, зокрема, вивчалися перспективи використання поліамідоамінових дендримерів в якості носіїв хіміотерапевтичних препаратів [40], ДНК [31] і контрастних агентів для магнітно-резонансної томографії (МРТ) [39]. У числі інших класів препаратів, які можуть транспортуватися шляхом зв'язування з дендримерами, - нестероїдні протизапальні засоби, протимікробні і противірусні агенти, попередники ліків і скринінгові агенти, які застосовуються в дизайні ліків [26]. Певні побоювання в плані біосумісності і безпеки дендримерів викликають дані про руйнування клітинних мембран позитивно зарядженими дендримерами [44].

Ліпосоми є наночастками кулястої форми, обмежені біліпідною мембраною, в порожнині якої знаходиться водне середовище. Активна речовина може розташовуватися в ядрі ліпосоми (водорозчинні речовини) або в її ліпідній оболонці (жиророзчинні речовини). Незважаючи на те, що розміри ліпосом можуть бути дуже варіабельні, більшість ліпосом мають діаметр менше 400 нм.

Зазвичай ліпосоми класифікують на три групи: одношарові малі, одношарові великі і багатшарові. Крім того, в залежності від складу і шляхи потрапляння в клітину ліпосоми можуть бути розділені на п'ять класів: 1) стандартні ліпосоми, 2) ліпосоми, чутливі до рН, 3) катіонні ліпосоми, 4) ліпосоми з імунними властивостями, 5) тривало циркулюють ліпосоми .

Міцели представляють собою нанорозмірні колоїдні частинки, що мають гідрофобну внутрішню частину (ядро) і гідрофільну поверхню (оболонку). Лікарські препарати та контрастні агенти можуть або поміщатися в ліпідне ядро міцели, або ковалентно зв'язуватися з її поверхнею. Міцели мають дещо менші розміри (близько 50 нм), ніж ліпосоми. Для забезпечення тривалої циркуляції мицелл в кровотоці були запропоновані різні модифікації їх оболонки, що роблять їх термодинамічно стабільними і біосумісними [32].

Полімерні міцели представляють інтерес в першу чергу як переносники гідрофобних лікарських препаратів. Зокрема, міцели можуть використовуватися для парентерального введення таких препаратів, як амфотерицин В, пропופол і паклітаксел [41]. Подібно ліпосомам, міцели можуть застосовуватися для спрямованої доставки лікарських препаратів до клітин-мішеней. Це досягається приєднанням до поверхні міцел чутливих до рН елементів. Описано біфункціональні полімерні міцели для одночасної доставки лікарських препаратів і візуалізації пошкоджених тканин [30].

Серед **металевих наночастинок** найбільш відомі наночастинок таких благородних металів, як золото і срібло. Наночастинок золота, що володіють цілим рядом унікальних характеристик (оптичні властивості, міцність, висока площа поверхні), в основному використовуються в діагностичних цілях.

Наночастки золота можуть служити для посилення сигналу при проведенні імуноферментного аналізу за рахунок їх зв'язування з антитілами. Tanaka et al. [52] застосовували наночастинки золота для підвищення чутливості імунохроматографічних діагностичних смужок. При цьому з наночастинками золота зв'язувалися як первинні, так і вторинні антитіла. Розроблений імуноаналітичний набір дозволяв визначати хоріонічний гонадотропін в концентрації, що наближається до 1 мг/мл. Чутливість хемілюмінесцентний детекції антитіл також може бути в багато разів підвищена при використанні наночастинок золота нерегулярної форми, каталітична активність яких в 100 разів вище, ніж у наночастинок сферичної форми.

Електрохімічний підхід, заснований на часткове заміщення електродів наночастинками золота, недавно був використаний для безміткової детекції раково-ембріонального антигену [49]. Отримані імуноаналітичні набори показали прекрасну відтворюваність даних. Примітно, що наночастинки срібла в останні роки з успіхом використовувалися для посилення флуоресценції в імунодіагностики [16].

Флуоресцентні (квантові) мітки широко використовуються в біології та медицині. Їх недоліком є необхідність використання різних барвників для отримання кожного кольору і підбору лазера відповідної довжини хвилі для індукції флуоресценції цих барвників. Крім того, кольори флуоресцентних міток часто зливаються і швидко бліднуть. Напівпровідникові нанокристали, звані квантовими точками, позбавлені цих недоліків. Вони представлені дрібними частками, порівнянними за розміром з молекулами білків і нуклеїнових кислот. При порушенні вони дають практично безперервну палітру чітких кольорів.

Флуоресценція квантових точок збуджується білим світлом, причому частки нанокристалів можуть бути приєднані до біомолекул і забезпечувати довгостроково існуючий сигнал, багаторазово перевершує по яскравості використовуються в даний час барвники [18]. Застосування квантових точок може істотно розширити можливості діагностики багатьох захворювань. В

даний час квантові точки активно використовуються для детекції пухлинних клітин [54], маркування внутрішньоклітинних органел [36], візуалізації мікросудин [42] і багатьох інших біомедичних досліджень.

1.2 Властивості *Lactobacillus acidophilus*

1.2.1 Антагоністичні властивості *Lactobacillus acidophilus*

В останні роки біотехнологія орієнтована на створення функціональних продуктів харчування (прибутків) на основі молочнокислих бактерій, сприяють профілактиці ряду захворювань. Дані мікроорганізми надають бактеріостатичну дію, покращують моторну функцію кишечника, продукують фізіологічно активні сполуки, які контролюють травні та ендокринні функції кишечника [7, 15]. Одним з пробіотичних штамів є *Lactobacillus acidophilus*, що володіє такими цінними якостями, як кислотостійкість, здатність адгезуватися до кишкового епітелію, забезпечуючи тим самим колонізаційну резистентність і перешкоджаючи адгезії і інвазії патогенів [6].

Антагоністичну активність до бактеріальних тест-культур (*Escherichia coli*, *Sarcina flava*, *Mycobacterium citreum*, *Salmonella dublin*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium rubrum*) [14] дифузійним методом лунок. Штам *L. acidophilus* культивували на молоці з 1,5% жирності протягом 8 год при 30 С. Потім вносили в лунки діаметром 8 мм в підготовлені в газоні тест-культури в кількості 0,3 мл. Культивували при 30 С протягом 2 діб.

В результаті визначення антагоністичної активності [14] штаму *L. acidophilus* встановлено пригнічення росту всіх досліджуваних бактеріальних тест-культур. Зони придушення їх зростання варіювали від 12 до 28 мм. Найменша ступінь антагонізму виявлена *Salmonella dublin* (табл. 1.2).

Таблиця 1.2.

Антагоністична активність *L. acidophilus*

№, п/п	Тест-культури	Зони пригнічення росту тест-культур, (мм)
1	<i>Escherichia coli</i>	19±0,6
2	<i>Sarcina flava</i>	28±0,1
3	<i>Mycobacterium citreum</i>	28±0,5
4	<i>Salmonella dublin</i>	12±0,2
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	20±0,4
6	<i>Mycobacterium rubrum</i>	26±0,3

Таким чином, літературні данні свідчать про те, що штам *L. acidophilus* володіє різним ступенем антагоністичної активності до бактеріальних тест-культур, зони пригнічення їх росту склали від 12 до 28 мм. Максимальні зони пригнічення росту спостерігалися в відношенні бактерій: *Sarcina flava*, *Mycobacterium citreum*, *Mycobacterium rubrum*.

1.1.3 Імуномодулюючі властивості *Lactobacillus acidophilus*

Бактерії роду *Lactobacillus* є провідними представниками резидентної мікрофлори шлунково-кишкового тракту (ШКТ) людини, які виступають пробіотиками. Важлива роль лактобактерій у життєдіяльності макроорганізму обумовлена різноманітністю функцій, що вони виконують. Нормальна лактофлора ШКТ бере безпосередню участь в імунно-фізіологічній реакції багатьох процесів, що спрямовані на підтримку імунологічного гомеостазу [2, 3]. Лактобактерії – ро біотичних бактерії, до складу клітинної стінки яких входять такі компоненти, як пептидоглікан, полісахариди та тейхоева кислота. Компоненти клітинної стінки, антигени цитоплазми, фрагменти ДНК та продукти життєдіяльності лактобактерій володіють імуностимулюючими властивостями.

Однією з вимог до сучасних біологічних препаратів запобіжного характеру є їх здатність стимулювати ро біотичних іхні механізми захисту, основою яких є індукція ендогенного інтерферону (ІФН) та інших цитокінів.

Слизові відкритих порожнин макроорганізму є єдиною системою. Їх бар'єрна функція визначається станом колонізаційної резистентності (КР) – здатністю мікробіоти і макроорганізму в кооперації захищати екосистему слизових від патогенів [12]. Антиінфекційний захист на місцевому рівні розвивається шляхом формування типовою запальною реакцією при взаємодії патогенів з TLR-рецепторами. Вона супроводжується експресією генів цитокінового каскаду, відповідального за активацію фагоцитів і інших імунокомпетентних клітин, імуноглобулінів, що, в свою чергу, визначає рівень ро біотични КР і, в подальшому, блокування життєдіяльності, дезінтеграцію і видалення інфекційного агента з організму [4].

Введення ро біотичних бактерій сприяє швидкому знешкодженню патогенних мікроорганізмів на поверхні слизових оболонок шлунково-кишкового тракту, реалізуючи цілий ряд запальних реакцій, обумовлених стимуляцією NFκB (нуклеарні фактори каппа) і MAP (мітогенактивуючої протеїнкінази), індукують продукцію прозапальних цитокінів. Також після введення пробіотиків відзначено посилення активації білків системи комплементу [1, 24].

1.1.4 Антиоксидантні властивості *Lactobacillus acidophilus*

Антиоксиданти – це поліфункціональні сполуки різної природи, здатні усувати або гальмувати вільнорадикальне окиснення (ВРО) органічних речовин мономолекулярним киснем.

В літературі є багато інформації про антиоксидантну дію інтактних клітин і позаклітинних безклітинних екстрактів кишкових молочнокислих бактерій *L. acidophilus*. Як інтактні, так і безклітинні екстракти *L. acidophilus* володіють антиоксидантною активністю [43].

Також у літературі зустрічаються дані, про оцінювання впливу *L. acidophilus* на інгібування перекисного окислення ліпідів в плазмі. Ці дані свідчать, що мікроорганізми були здатні захищати ліпіди плазми від окислення

в різному ступені. Ступінь інгібування перекисного окислення ліпідів в плазмі варіювала від 11 до 29% для клітин *L. acidophilus* [43].

1.3 Використання наночасток у медицині та космацевтиці

За останні десятиріччя нанотехнології і наноматеріали зайняли свою «екологічну нішу» в практичній медицині та фармації забезпечивши тим самим, істотний внесок у покращення здоров'я населення [8-10]. Використання нанотехнологій і наноматеріалів здебільшого розвивається за кількома напрямками: виробництво лікарських засобів нового покоління (більш ефективних з мінімальними побічними ефектами), нові методи лікування (в тому числі онкологічних захворювань), апаратурна діагностика захворювань на ранніх стадіях [28]. Ці успіхи базуються на системних дослідженнях в галузі нанотехнологій у поєднанні з досягненнями біо- та інформаційних технологій, генної та клітинної терапії [47].

Особлива роль серед наноматеріалів, які використовуються у медицині та косметології, належить наночасткам (НЧ) і, перш за все, наночасткам металів (НЧм), у зв'язку з чим доцільним є узагальнення деяких причин їх активного використання.

Значний інтерес до НЧм у фармації і медицині обумовлений:

- бурхливим розвитком екологічно безпечних, простих, економічних «зелених» біологічних методів синтезу НЧм [19];
- широким спектром ефективної біоцидної і, перш за все, антимікробної дії відносно патогенних мікроорганізмів;
- ефективною лікувальною дією щодо різних захворювань (онкологія, загоєння ран, опіків, боротьба з паразитами, серцево-судинні захворювання та ін.) [33].

НЧм у формі покриттів використовують для надання антимікробних властивостей медичним інструментам, пристроям, штучним судинам різного виду, імплантатам, катетерам, лікарняним постільній і натільній білизні тощо [50].

Особливе місце НЧм посідають у динамічному напрямку медицини – синтезі лікарських засобів з контрольованим вивільненням діючих речовин і адресній доставці їх до осередку патології в клітинах, тканинах, органах [13].

Позитивна динаміка використання НЧм в медицині і суміжних галузях [10] обумовлена, перш за все, специфічним механізмом їх взаємодії з клітинами живих організмів, більшістю біологічно активних речовин, що складають стінки клітин і її внутрішню частину (цитоплазму). Оскільки ці біологічно активні речовини (білки, полісахариди, амінокислоти, моносахариди, комплекси білків і вуглеводів, ферменти, ДНК і РНК) відіграють надзвичайно важливу роль в житті клітин і організмів, то їх модифікація, аж до деструкції, не може не змінити функції клітин у всіх видах організму цілком. НЧ можуть підвищувати розчинність погано розчинних ліків, прискорювати реакції, підвищувати специфічність дії ліків відносно онкоклетин, тим самим зменшуючи побічні ефекти. Ліки в наноформі виявляють більшу ефективність при лікуванні [25].

Основні терапевтичні завдання, які досягаються у разі використання НЧ в лікувальних засобах, що контрольовано вивільняють ліки:

- більш специфічна адресна доставка і вивільнення ліків;
- зниження токсичності та підвищення ефективності лікування;
- підвищення безпеки та біологічної сумісності;
- розвиток нових напрямків медичної допомоги.

Використання подібних препаратів дозволяє зменшити концентрацію ліків, не знижуючи лікувального ефекту. Використовуючи НЧм, можна конструювати гібридні препарати, що поєднують в собі діагностичні та лікувальні властивості [46].

Сьогодні НП, НЧ і НЧм використовують у медицині з метою діагностики, профілактики, лікування захворювань широкого спектру: виявлення онкологічних захворювань на ранніх стадіях за допомогою сучасної діагностичної апаратури, методів, що дозволяють виявляти локальні пухлини на клітинному рівні. Синтез ліків адресного типу для придушення ракових

клітин, використання нанороботів для лікування надчутливих зубів, відновній «естетичній» медицині. Поєднання НЧм з антибіотиками дає ефект синергізму при боротьбі з резистентними бактеріями. Відбувається дуже швидка комерціалізація продуктів на основі НЧм [10].

Застосування нанотехнологій в біології та медицині є прикладом виключно плідного поєднання фізичних, хімічних і біомедичних наукових знань. Необхідні широкі дослідження безпеки, токсичності і біосумісності наноматеріалів і нанопрепаратів, особливо при їх біомедичному застосуванні [11].

Висновки до розділу 1

Основними перевагами штамів роду *Lactobacillus acidophilus* є широкий спектр їх використання у харчовій, фармацевтичній, косметичній галузях; в медицині та ветеринарії.

Штами роду *Lactobacillus acidophilus* володіють антиоксидантною здатністю на організм людини; лежать в основі виробництва імуномодуляторів – ефективних фармацевтичних препаратів для профілактики та захисту дихальних шляхів від вірусно-бактерійних інфекцій; можуть входити у багатокomпонентні препарати з високою терапевтичною ефективністю; входять до складу косметичних засобів, застосовуваних з метою зволоження шкіри і її захисту від несприятливих зовнішніх факторів.

Сьогодні величезну увагу приділяють використанню антагоністичних характеристик лактобактерій у виробництві натуральних харчових продуктів. Дослідження вказаного спектру застосування лактобактерій спрямовані на збереження якості продуктів харчування, підвищення рівня її безпеки, збільшення терміну їх зберігання.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ І МАТЕРІАЛИ

2.1 Характеристика біологічного агента *Lactobacillus acidophilus*.

В роботі використали штам *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 надані для наукових досліджень Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Штами належать до Української колекції мікроорганізмів.

2.1.1 Таксономічний статус *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus згідно 9-го видання Керівництва Бергі з систематики бактерій.

Lactobacillus відноситься до відділу бактерій, класу *Bacilli*. Нерухомі, неспороутворюючі грампозитивні бактерії.

Хемоорганогетеротрофи, мікроаерофіли.

Енергію одержують у результаті гомоферментативного молочнокислого бродіння.

Царство: Бактерій

Тип: *Firmicutes*

Клас: *Bacilli*

Порядок: *Lactobacillales*

Родина: *Lactobacillaceae*

Рід: *Lactobacillus*

Вид: *acidophilus*

2.1.2 Морфолого-культуральні властивості *Lactobacillus acidophilus*

Загальна характеристика. Молочнокислі палички відносять до роду *Lactobacillus*, який має три підроди: *Thermobacterium* (термобактерії), *Streptobacterium* (стрептобактерії) і *Betabacterium* (бета-бактерії). Термо- і стрептобактерії є гомоферментативними, а бета-бактерії - гетероферментативними молочнокислими бактеріями. Поширення. Лактобактерії дуже поширені в природі. Вони є основними мікроорганізмами ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту людини і тварин. Їх можна знайти на рослинах, у ґрунті, молочних і м'ясних продуктах. Їх можна виділити також і з квашеної капусти. Вироблена ними молочна кислота зумовлює пригнічення росту та розмноження гнильних бактерій. Морфологічні властивості. Лактобактерії – це палички, які розміщуються поодинокі, попарно або короткими ланцюжками, розміром $4-10 \times 0,5-0,6$ мкм. Вони нерухомі, спор і капсул не утворюють, грампозитивні. Клітини стрептобактерій дещо дрібніші за клітини термобактерій і часто розміщуються у вигляді ланцюжків. Бета-бактерії мають найдрібніші і найтонші клітини.

Усередині роду *Lactobacillus* зустрічаються бактерії з різною морфологією. Більшість представників роду мають форму прямих паличок із закругленими кінцями, зібраних у ланцюжки різної довжини, або розташовані поодинокі або попарно. Серед лактобацил зустрічаються короткі кокоподібні та звивисті форми, а також довгі, ниткоподібні палички довжиною від 0.7-1.1 до 3.0-8.0 мкм, розташовані одинично або зібрані в ланцюжки.

Lactobacillus acidophilus – палички довжиною до 7 мкм. розміщуються поодинокі або короткими ланцюжками. Використовується для отримання молочної кислоти із цукру. Оптимальна температура розвитку $45...50^{\circ}\text{C}$, мінімальна 20°C . В субстраті накопичує до 2,5% кислоти. Бактерії ставляться до грампозитивних, спор не утворюють. Розмір клітин – $0,5-1,2; 3,0-10,0$ мкм.

Лактобацили не утворюють ендоспор. За Грамом забарвлюються позитивно, стають грамнегативними з віком і при підвищенні кислотності. При фарбуванні за Грамом або метиленовим синім у деяких штамів виявляються

біполярні тільця, зернистість або лінійна смугастість цитоплазми. Більшість лактобацил нерухомі.

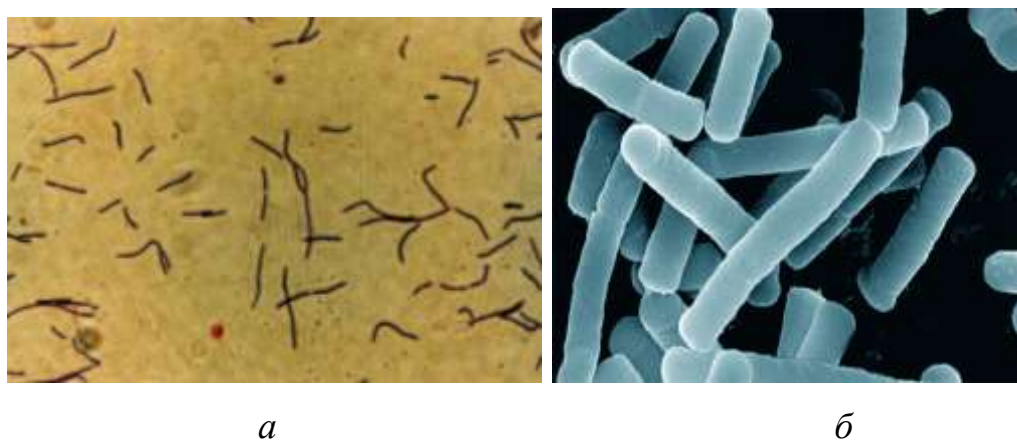


Рис. 2.1. Клітини *Lactobacillus acidophilus* під мікроскопом: світлова (а) та електронна (б) мікроскопії

Культуральні властивості. Молочнокислі палички є факультативними анаеробами. За температурним режимом стрептобактерії і бета-бактерії є мезофілами, термобактерії – термофілами. На звичайних поживних середовищах вони не ростуть, тому для їх культивування додають молоко (стерильне чи гідро- лізоване). На щільних поживних середовищах формують дрібні, гладкі, блискучі колонії сіро-білого кольору. На капустному середовищі навколо колоній видно зони розчинення крейди, що міститься в живильному середовищі накопичення молочної кислоти (рис. 2.2). Колонії лактобактерій різних видів майже не відрізняються між собою, проте є R-форми колоній (дрібні із шорсткуватою поверхнею, що вростають у субстрат) та S-форми (гладкі, великі поверхневі колонії). Молочнокислі палички зброджують молоко за 6-12 годин з утворенням щільного згустку, який має приємний кисломолочний смак і запах. Стійкість до чинників зовнішнього середовища. Лактобактерії характеризуються стійкістю до кислого середовища, здатністю рости в температурних межах від 15 до 50°C як в аеробних, так і в анаеробних умовах. Значення та використання. Більшість різновидів молочнокислих паличок використовують у молочній промисловості для виробництва

молочнокислих напоїв, кисловершкового масла, сирів, а також для виготовлення розсолів для квашення овочів та фруктів. Їх застосовують у пивоварінні й у виноробстві. Крім того, лактобактерії вводять до складу різних лікувальних і профілактичних препаратів, біологічних добавок для покращення діяльності шлунково-кишкового тракту людей і тварин. Термофільні молочнокислі палички *Lactobacillus acidophilus* характеризуються оптимальною температурою росту 40-45°C. Більшість терmostійких молочнокислих паличок є активними кислотоутворювачами (гомоферментативні мікроорганізми). Максимальна кислотність сквашеного молока сягає 180-350 °Т. Унаслідок цього смак сквашеного молока кислий, згусток рівний і щільний. Термофільні молочнокислі палички нерухливі, спор і капсул не утворюють, грампозитивні. Їх клітини є великими паличками із зернистістю, що розміщуються поодинокі, попарно (диплобактерії), рідше в ланцюжках. Колонії термофільних лактобактерій бувають двох видів: волокнисті, що врастають у субстрат, або R-форми, та гладкі поверхневі колонії, або S-форми. Глибинні колонії термобактерій можуть бути темними, жовтуватобурими, іноді з короткими нитками, що відходять від них. На відміну від глибинних поверхневі колонії більші.

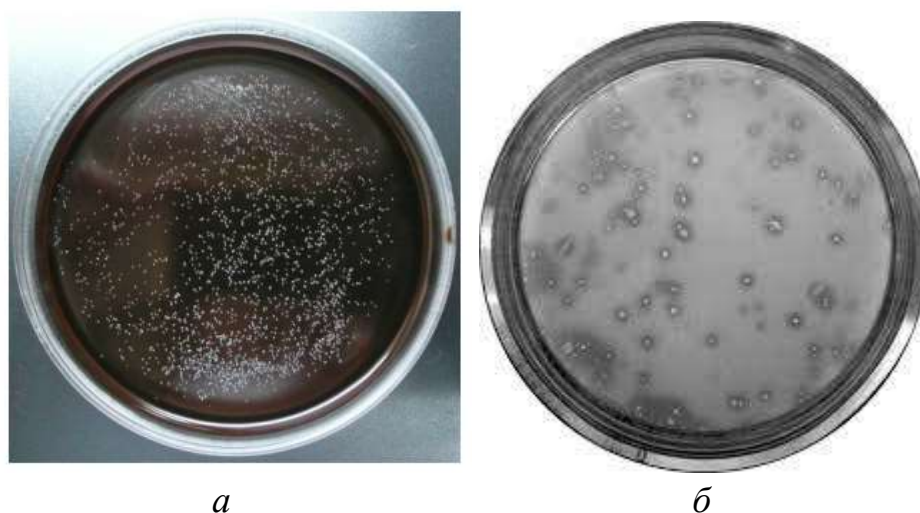


Рис. 2.2. Штам *Lactobacillus acidophilus* при рості на середовищі MRS (а) та капустиному агарі (б).

Lactobacillus acidophilus (ацидофільна паличка), є кишковим мікроорганізмом, яку можна виділити з вмісту травного тракту людини і тварин. Ацидофільна паличка здатна після культивування в молоці знову приживатися в кишечнику людини і пригнічувати там розвиток патогенних і небажаних мікроорганізмів (сальмонел, стафілококів, ешерихій та ін.). Антагоністична дія *Lactobacillus acidophilus* обумовлена продукуванням антибіотичних речовин - ацидофіліну. *Lactobacillus acidophilus* використовують у виробництві ацидофільних молочнокислих продуктів (ацидофільне кисле молоко, ацидофільне молоко, ацидофільно-дріжджове молоко, ацидофільна сметана, ацидофільний йогурт, ацидофілін і дитячі ацидофільні напої та пасти). Морфологічні властивості. Ацидофільна паличка поліморфна (палички різної довжини, які розміщуються поодинокі або в ланцюжках), грампозитивна, нерухлива. Культуральні властивості. Оптимальна температура – 37°C. Молоко згортається за 10- 12 годин з максимальною кислотністю 200-250°Т. *Lactobacillus acidophilus* зброджує більшість вуглеводів, у тому числі сахарозу, мальтозу, декстрин. Існують штами ацидофільної палички, що утворюють слиз.

2.1.3. Фізіолого-біохімічні властивості *Lactobacillus acidophilus*

Лактобацили – хемоорганогетеротрофи. Дуже вимогливі до джерел харчування, потребують багатих складних середовищ. З вуглеводів вони переважно зброджують гексози (глюкозу, фруктозу, маннозу, галактозу) та дисахариди (лактозу, мальтозу, сахарозу), і лише гетероферментативні види, наприклад, деякі штами *L. plantarum*, зброджують пентози (рибозу, кси. Лактоза – дисахарид, тому перш ніж вступити на шлях катаболізму, вона має бути розщеплена ферментом галактозидазою до глюкози та галактози. Галактоза потім фосфорилується з утворенням глюкозо-6-фосфату. Крім вуглеводів, лактобактерії потребують свого розвитку різних чинників зростання: амінокислотах, вітамінах, нуклеотидах. Рибофлавін, пантотенова та нікотинова кислоти є найбільш необхідними для життєдіяльності більшості видів, тіамін необхідний переважно гетероферментативним лактобацилам, біотин та вітамін

B12 – лише деяким штамам. Потреба у фолієвій кислоті, рибофлавіні, піридоксальфосфаті та пара-амінобензойній кислоті різняться у різних видів. Іноді лактобацили називають «метаболічними інвалідами», оскільки вони втратили здатність до синтезу низки метаболітів, ймовірно, внаслідок своєї спеціалізації (зростання в молоці та інших середовищах, багатих на поживні та ростові речовини). Так, вони не здатні утворювати порфірини, зокрема гем. Однак деякі лактобацили здатні використовувати порфірини навколишнього середовища (наприклад, при зростанні на середовищах з кров'ю) і завдяки цьому демонструвати каталазну та нітритредуктазну активність і навіть утворювати цитохроми. Майже всі лактобацили – мезофіли. Температурний оптимум розвитку лежить у межах 30-40 °С. Верхнім температурним кордоном (максимумом) для них є 40°С, проте зустрічаються термофільні види, які добре ростуть і мають активний метаболізм при температурі близько 45°С. Психофільні види також зустрічаються. Температурний діапазон зростання 2-53°С. Лактобактерії – факультативні анаероби, іноді – мікроаерофіли. Хоча більшість штамів аеротолерантні, оптимальними для зростання є анаеробні та мікроаерофільні умови. Лактобацили зазвичай слабо ростуть на повітрі, краще – при зниженому вмісті кисню. Підвищена концентрація вуглекислого газу (5%) може стимулювати зростання; в строго аеробних умовах, як правило, зростання сповільнюється. Деякі види є суворими анаеробами. 17 Лактобацили не містять порфіринів, зокрема гем, тому вони позбавлені таких гемопротеїнів, як цитохроми та каталаза.

Пігменти утворюють дуже рідко, жовтого, оранжевого чи червоного відтінку. Фізіологічною особливістю лактобактерій є їхня кислотостійкість. Для зростання лактобацил найбільш сприятливі злегка підкислені середовища з початковим рН 5.4-6.4, причому зростання культури сповільнюється при досягненні рН 3.6-4.0 залежно від виду та штаму. *L. suebicus*, *L. casei* та *L. plantarum* охороняють здатність до зростання навіть при рН 2.8. У лужних і нейтральних середовищах зростання лактобацил зазвичай уповільнюється. Ще одна відмінна риса цієї групи мікроорганізмів - це їх стійкість до спирту. Вони

здатні розвиватися у поживних субстратах при високих концентраціях етилового спирту (18-24% об.). Відновлення нітрату для лактобацил не характерне, крім умов, коли кінцевий рН підтримується 6.0 та/або гем міститься в середовищі. Желатину не розріджують. Казеїн не розщеплюють, але більшість штамів утворюють невелику кількість розчинного азоту. Індол та сірководень не утворюють. Вміст гуаніну та цитозину в ДНК становить 32-55 мол. %.

2.2 Поживні середовища, що використовували для культивування *Lactobacillus acidophilus*

2.2.1 Капустяне середовище (КС) для культивування *Lactobacillus*

Для отримання капустяного відвару 200 г подрібненої свіжої капусти залити 1 л дистильованої води та кип'ятити протягом 30 хв. Відвар профільтрувати через ватно-марлевий фільтр, після чого довести об'єм фільтрату водопровідною водою до 1 л [1].

Склад КС поживного середовища, г/л

На об'єм капустяного відвару, г:

Капуста	200,0
Пептон	10,0
Глюкоза	20,0
CaCO ₃	30,0
Дистильованої води	до 1000 мл

Для отримання щільного капустяного середовища (КСА) використовували капустяний відвар за вказаною вище методикою з додаванням агару (20,0 г/л).

Середовище стерилізувати автоклавування при 0,5 атм. протягом 20-30 хв.

Молочнокислі бактерії при зростанні на даному середовищі утворюють навколо колоній зони просвітлення, зумовлені перетворенням нерозчинного вуглекислого кальцію на розчинний лактат кальцію.

2.2.2 Середовище МРС (Ман, Рогоза, Шарп) для культивування *Lactobacillus*

Змішати всі компоненти, прокип'ятити для повного розчинення частинок. Стерилізувати автоклавування при 1,1 атм (121°C) протягом 15 хв. Остудити до 45-50°C. Добре перемішати та розлити в стерильні чашки Петрі, пробірки або флакони [1].

Склад МРС поживного середовища, г/л

Дріжджовий екстракт	5,0 г
М'ясний екстракт	10,0 г
Пептон	10,0 г
Глюкоза	20,0 г
Твин 80	1,0 г
K ₂ HPO ₄	2,0 г
Ацетат натрію	5,0 г
Діамоній Цитрат	2,0 г
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2 г
MnSO ₄ ·H ₂ O	0,05 г
Вода дистильована до	1000,0 мл

pH 6,2 – 6,5

Для отримання щільної МРС середовища використовували МРС-бульйон за вказаною вище методикою з додаванням агару (20,0 г/л).

2.2.3 Середовище ГПС (глюкозо-пептонне середовище) для культивування *Lactobacillus*

Змішати всі компоненти, прокип'ятити для повного розчинення частинок. Стерилізувати автоклавування при 0,5 атм протягом 20-30 хв. Остудити до 45-50 °С. Добре перемішати та розлити в стерильні чашки Петрі, пробірки або флакони [1].

Склад ГПС поживного середовища, г/л:

Тріптон, г	10,0
Дріжджовий екстракт, г	5,0
NaCl, г	5,0
дистильованої води, до	1000 мл

Для отримання щільного середовища глюкозо-пептонного агару (ГПА) додати агар (20,0 г/л) у вище приготовлений ГПС

2.3 Біосинтез наночасток срібла та церію за допомогою культури *Lactobacillus acidophilus*

Методика біосинтезу наночастинок церію та срібла полягає у синтезі даних сполук в присутності мікроорганізму *Lactobacillus acidophilus*.

Для проведення синтезу використовували клітини *Lactobacillus acidophilus*, які заздалегідь активували за допомогою вирощування на щільних та рідких поживних середовищах (див. розділ 2.2). Час культивування становить 72-120 год у термостаті за температури 37 °С.

У вирощену культуру вносили розчини нітрату срібла та церії в концентраціях (0,1 – 2,0 мМ).

Розчини солей металів вносили при вирощуванні *L. acidophilus* у різних поживних середовищах перед культивуванням або після вирощування клітин.

2.4. Способи очистки та стерилізації отриманої суспензії наночасток

Після культивування на шутель-апараті віоли порівнюють за забарвленням та переносять на центрифугу. Осаджують клітини упродовж 15 хв. при 3000 об/хв. Далі відбирають окремо надосадову рідину та клітини для подальшого дослідження. До суспензії клітин додають розчин солі срібла або церію.

Потім віоли інкубують протягом 72 год при температурі +18 +20 °С.

2.5. Спектрофотометричне дослідження суспензії на наявність наночасток та їх солей

Культуральну або надосадову рідину (супернатант) та розчин поживного середовища досліджують на спектрофотометрі при довжині хвиль від 400 нм до 500 нм через кожні 10 нм.

Перед виконанням вимірювання доцільно дотримуватися правил експлуатації приладом та провести калібрування приладу з допомогою світлофільтрів або із функцією автокалібрування.

Висновки до розділу 2

У даному розділі розглянули характеристика біологічного агента *Lactobacillus acidophilus*, його морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості. Також наведено поживні середовища на яких вирощували дану культуру. Продемостровано методики очистки отриманої суспензії наночасток та спектрофотометричне дослідження суспензії на наявність наночасток та їх солей.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла до культивування *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus вирощували на двох різних поживних середовищах ГПС та КС (див. розд. 2.2) і зразу ж додавали сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентраціях 0,1-0,5 мМ. Кожен дослід проводили у трьох повторах. У якості контролю використовували поживне середовище з культураю *Lactobacillus acidophilus* але без внесеної солі срібла. Вирощуванні на перемішуючому пристрої протягом 120 год. Після відділяли надосадову рідину методом центрифугування і визначали спектрометричним методом оптичну густину наночастинок срібла у діапазоні хвиль 400-500 нм.

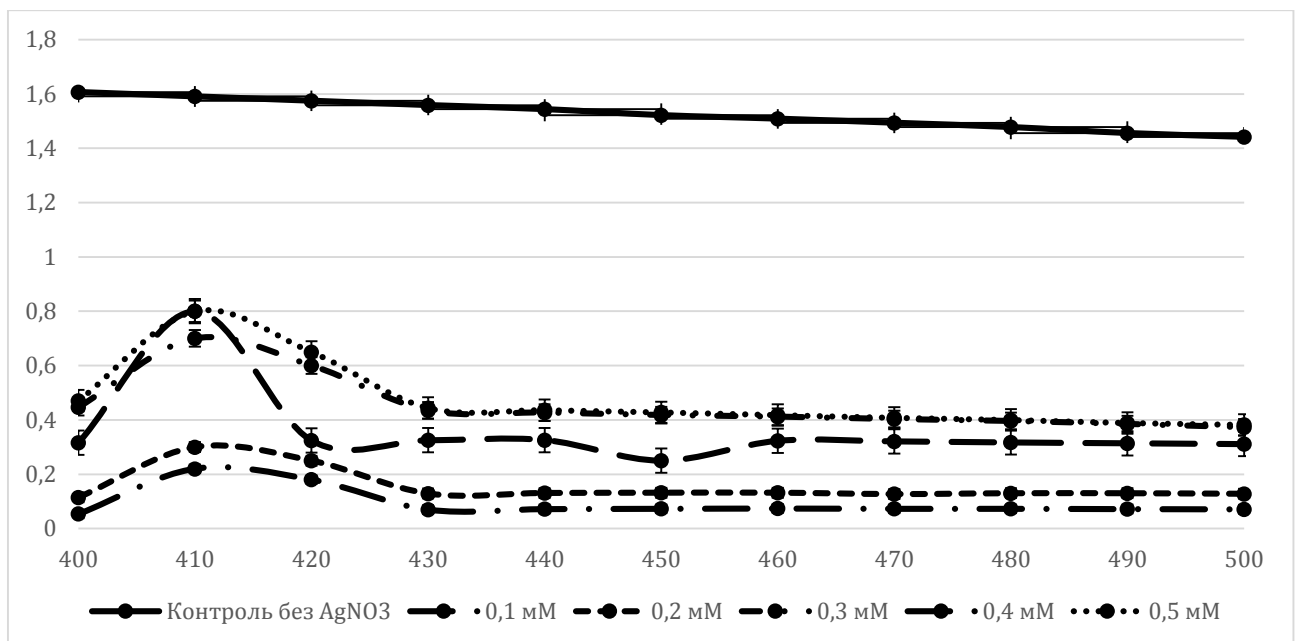
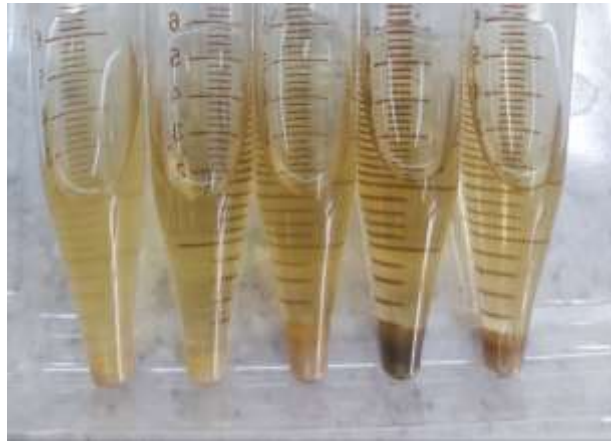


Рис. 3.1. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на КС середовищі з AgNO_3



а б в г д

Рис. 3.2. Фотографія пробірок вирощених на середовищі КС (зліва направо): а – контроль накопичної біомаси без внесення AgNO_3 , (б-д) внесення AgNO_3 у концентраціях 0,1 мМ, 0,3 мМ, 0,4 мМ, 0,5 мМ.

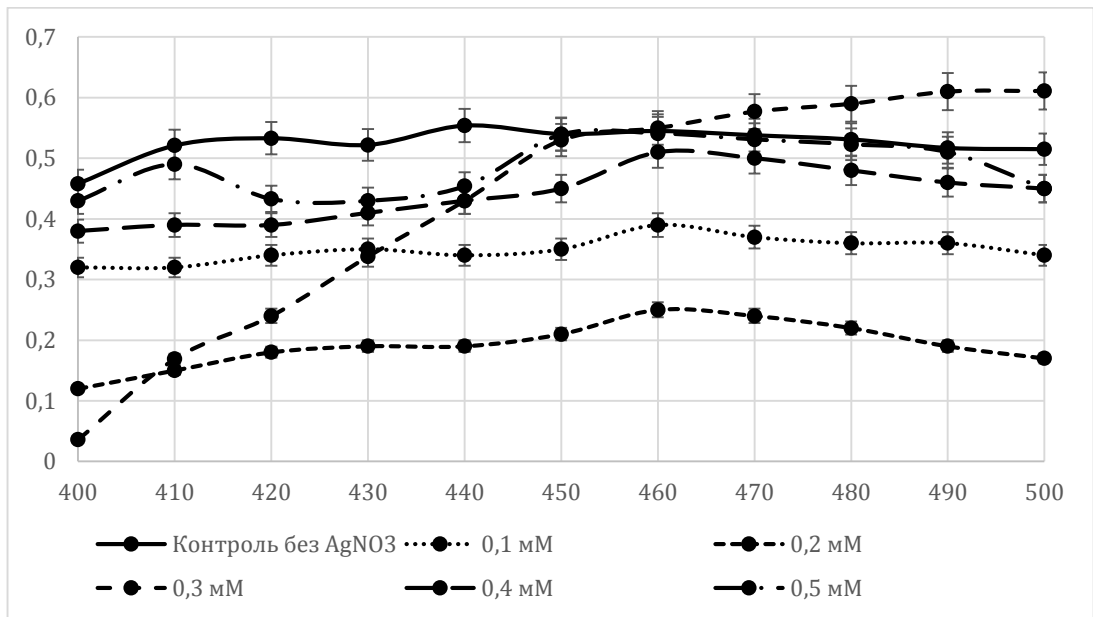


Рис. 3.3. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на ГПС середовищі з AgNO_3



Рис. 3.4. Фотографія віол вирощених на середовищі ГПС (зліва направо): поживне середовище, контроль накопичної біомаси без внесення AgNO_3 , внесення AgNO_3 у концентраціях 0,1 мМ, 0,2 мМ, 0,3 мМ, 0,4 мМ, 0,5 мМ

Проаналізувавши отримані результати можемо зробити висновок, що нітрат срібла у низьких концентраціях інгібує процес накопичення біомаси особливо при рості на середовищі ГПС (рис. 3.3 та 3.4). При вирощуванні на капустяному середовищі (рис. 3.1 та 3.2) спостерігали інгібування культури при рості з нітратом срібла у концентраціях 0,1 – 0,2 мМ, у той час як концентрації 0,3 – 0,5 мМ. дне значно інгібували процес накопичення біомаси *Lactobacillus acidophilus*. Слід зазначити, що у процесі культивування на середовищі ГПС *Lactobacillus acidophilus* також змінюється значення рН за рахунок накопичення молочної кислоти, у той час як на КС крейда є буфером.

Далі вирощували *Lactobacillus acidophilus* на трьох різних поживних середовищах КС, МРС та ГПС (див. розд. 2.2) і зразу ж додавали сіль нітрату срібла (AgNO_3) у концентраціях 1,0 мМ та 2,0 мМ. Кожен дослід проводили у трьох повторах. У якості контролю використовували поживне середовище з культураю *Lactobacillus acidophilus* але без внесеної солі срібла. Вирощуванні на перемішуючому пристрої протягом 120 год. Після відділяли надосадову рідину методом центрифугування і визначали спектрометричним методом оптичну густину наночастинок срібла у діапазоні хвиль 400-500 нм.

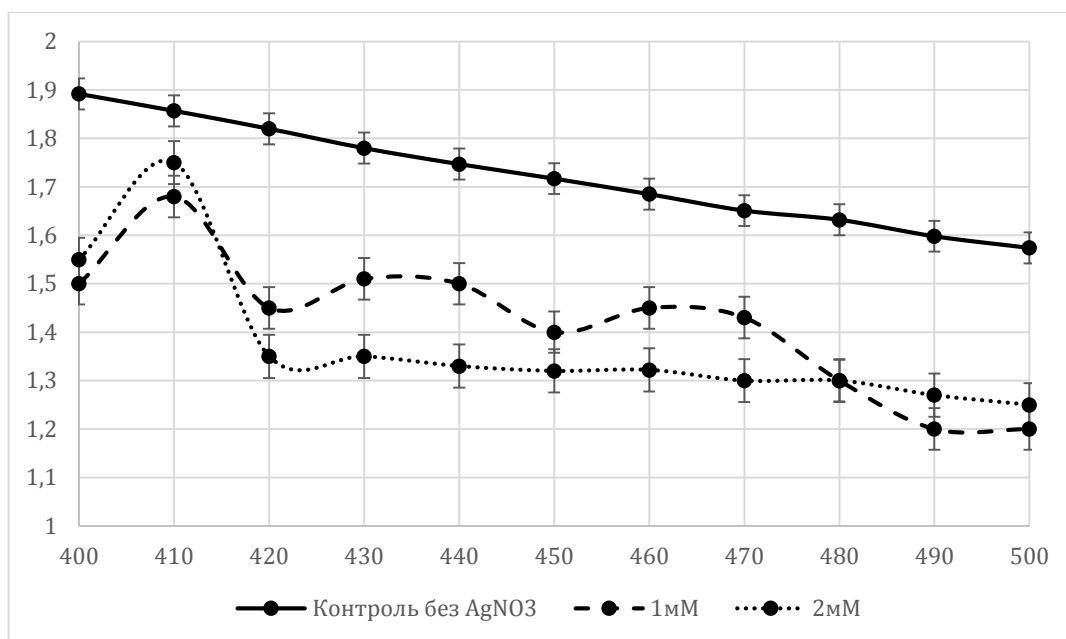


Рис. 3.5. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на КС середовищі з AgNO₃



Рис. 3.6. Фотографія віол вирощених на середовищі МРС (зліва направо): внесення AgNO₃ у концентраціях 2 мМ та 1 мМ, контроль накопичної біомаси без внесення AgNO₃.

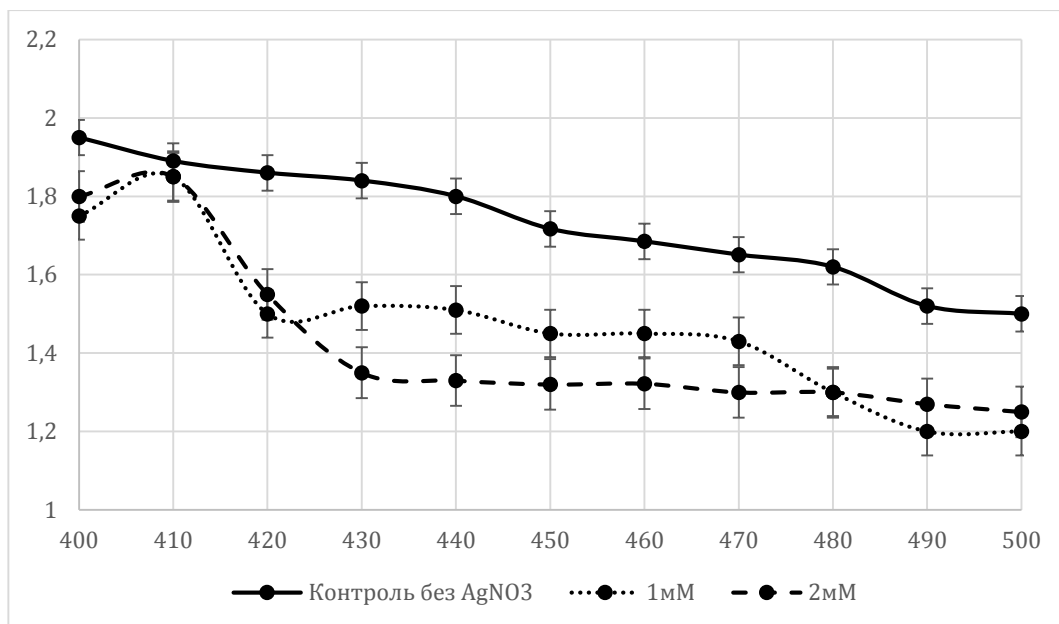


Рис. 3.7. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на MPC середовищі з AgNO₃



Рис. 3.8. Фотографія віол вирощених на середовищі ГПС (зліва направо): поживне середовище, контроль накопичної біомаси без внесення AgNO₃, внесення AgNO₃ у концентраціях 1 мМ та 2 мМ

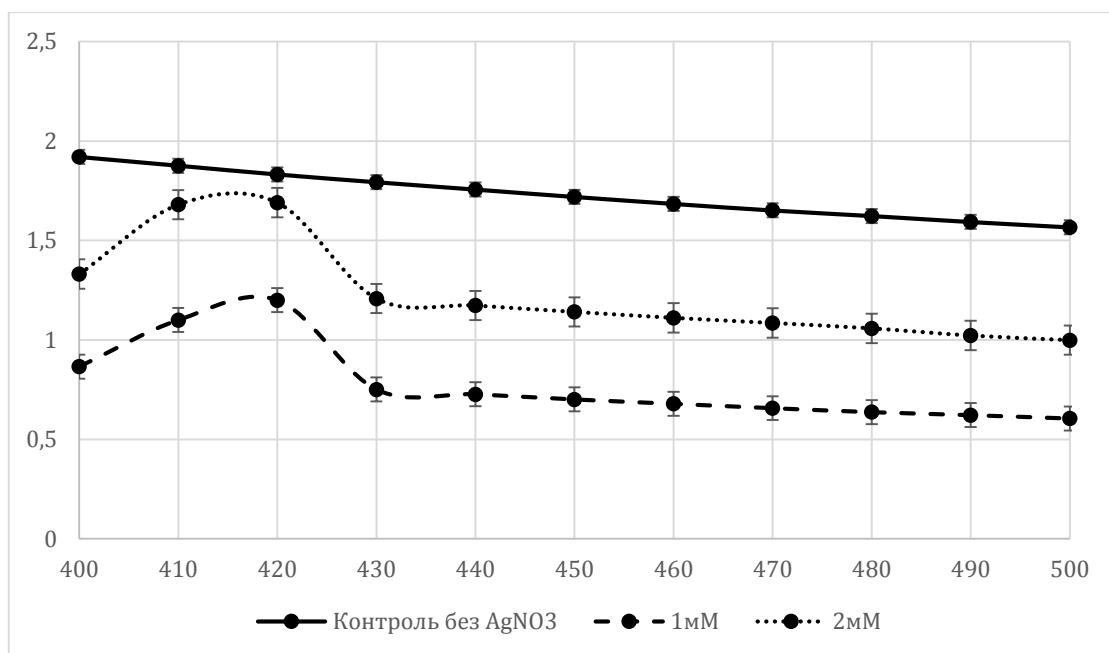


Рис. 3.9. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на ГПС середовищі з AgNO₃

Проаналізувавши отримані результати можемо зробити висновок, що нітрат срібла у концентраціях 1,0 мМ і 2,0 мМ майже не інгібує процес накопичення біомаси (рис. 3.5 та 3.7, 3.9). Біогенні частки змінювали свій колір (рис. 3.6 та 3.8), а спектрометричне вимірювання продемонструвало наявність утворення колоїдних металевих часток, про що свідчить максимальне поглинання наночасток срібла у діапазоні 410 нм. Також варто зазначити, що при рості на ГПС середовищі більший рівень біомаси спостерігався при внесенні солі нітрата срібла у концентрації 2мМ ніж 1мМ.

3.2. Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату срібла після культивування *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus УКМ В-2691 вирощували на двох різних поживних середовищах МРС та ГПС (див. розд. 2.2) упродовж 120 год на перемішуючому пристрої і потім додавали сіль нітрату срібла (AgNO₃) у концентраціях 1,0 мМ та 2,0 мМ. Кожен дослід проводили у трьох повторах. У якості контролю використовували поживне середовище з культураю *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 але без внесеної солі срібла. Після відділяли надосадову рідину методом центрифугування і визначали

спектрометричним методом оптичну густину наночастинок срібла у діапазоні хвиль 400-500 нм.



Рис. 3.10. Фотографія віол супернатанту *Lactobacillus acidophilus* УКМ В-2691 на ГПС середовищі з внесеними солями $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ та AgNO_3 у концентраціях 1 мМ та 2 мМ.

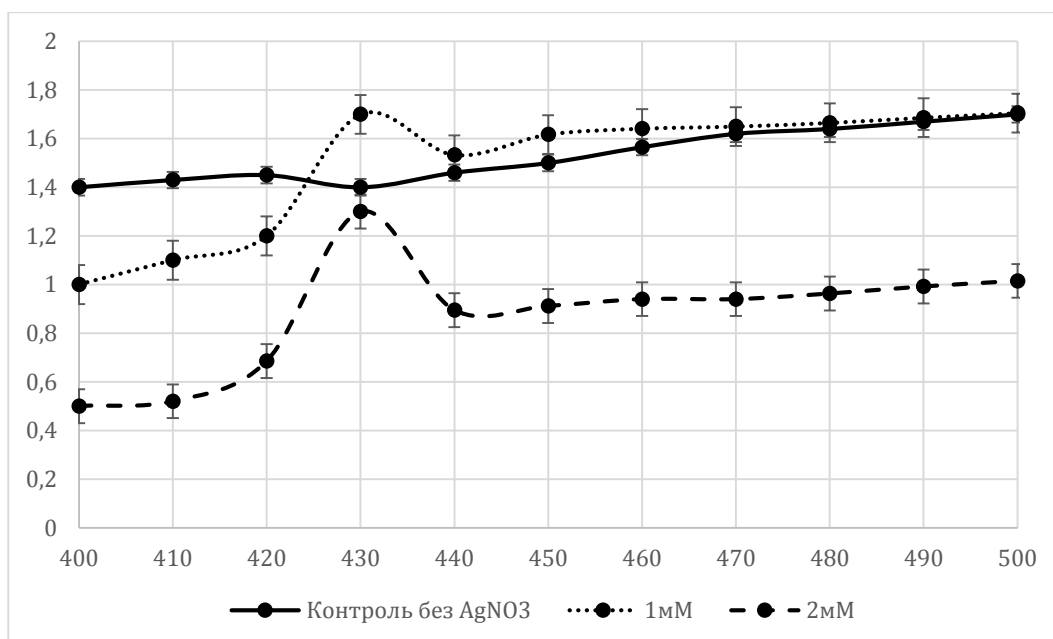


Рис. 3.11. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на МРС середовищі з внесенням AgNO_3 після культивування

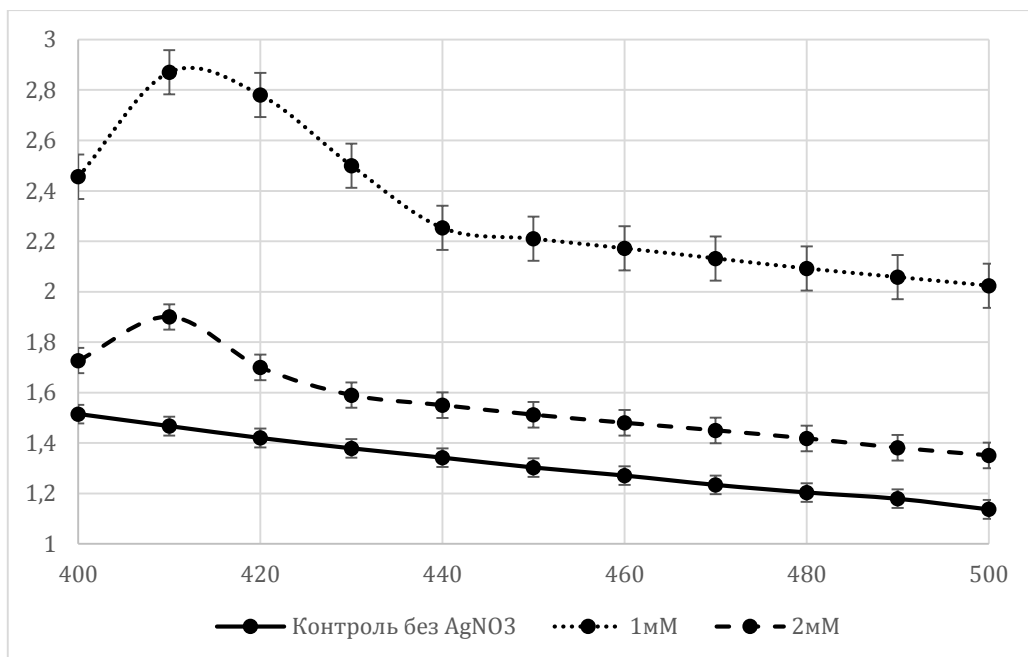


Рис. 3.12. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на ГПС середовищі з внесенням AgNO₃ після культивування

Проаналізувавши отримані результати можемо зробити висновок, що після накопичення біомаси на середовищі ГПС та МРС спостерігається

нітрат срібла у концентраціях 1,0 мМ і 2,0 мМ майже не інгібує процес накопичення біомаси (рис. 3.11 та 3.12). Біогенні частки змінювали свій колір (рис. 3.10) при внесенні нітрату срібла, в той час як після внесення нітрату церію супернотант культуральної рідини майже не змінював колір, а спектрометричне вимірювання продемонструвало наявність утворення колоїдних металевих часток, про що свідчить максимальне поглинання наночасток срібла у діапазоні 430 нм (рис. 3.11) та 410 нм (рис. 3.12).

3.3. Визначення оптичної густини наночастинок срібла при внесенні солі нітрату церію після культивування *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus вирощували на двох різних поживних середовищах МРС та ГПС (див. розд. 2.2) упродовж 120 год на перемішувачу пристрої і потім додавали сіль нітрату церію (Ce(NO₃)₃) у концентраціях 1,0 мМ та 2,0 мМ. Кожен дослід проводили у трьох повторах. У якості контролю

використовували поживне середовище з культураю *Lactobacillus acidophilus* але без внесеної солі $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$. Після відділяли надосадову рідину методом центрифугування і визначали спектрометричним методом оптичну густину наночастинок срібла у діапазоні хвиль 400-500 нм.

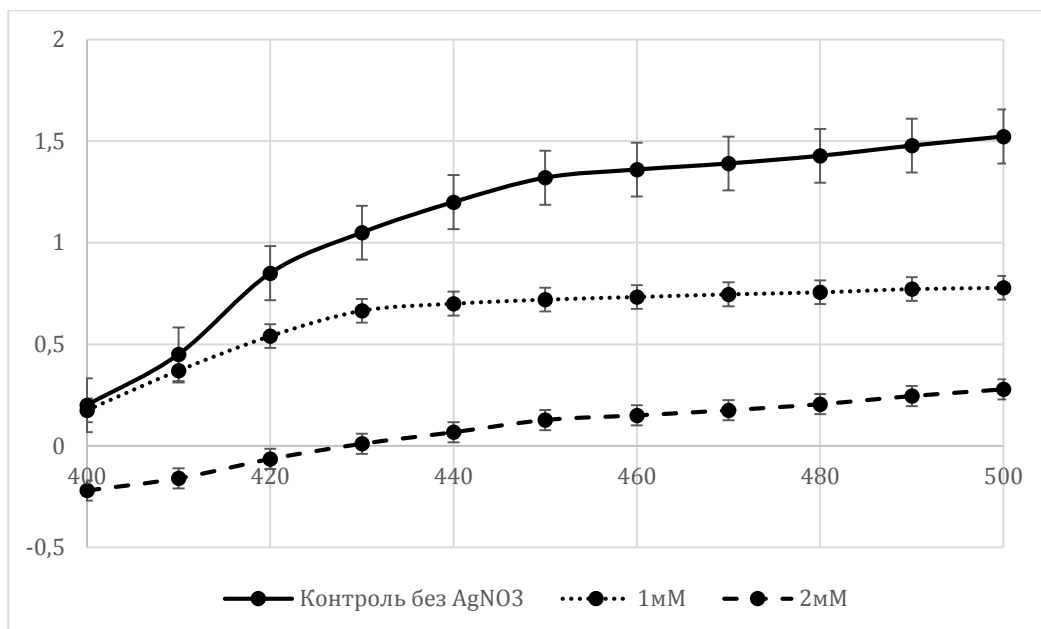


Рис. 3.13. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на МРС середовищі з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ після культивування

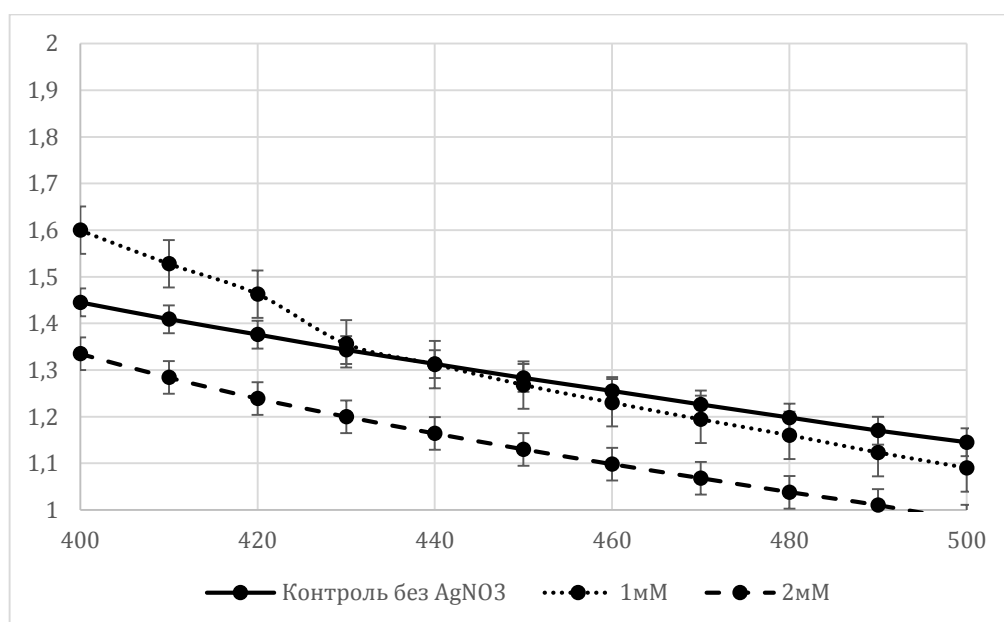


Рис. 3.14. Ріст *Lactobacillus acidophilus* на ГПС середовищі з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ після культивування.

Після культивування *Lactobacillus acidophilus* на ГПС середовищі з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ не має зміни кольору, про що свідчить рис. 3.10. Також на графіках (3.13 та 3.14) не спостерігається піку поглинання наночасток церію у діапазоні 400-500 н.м. Тому можна зробити висновок, що для дослідження солі нітрату церію потрібно змінювати діапазон спектру поглинання наночасток.

Висновки до розділу 3

1. Визначили, що сіль нітрату срібла у низьких концентраціях інгібує процес накопичення біомаси особливо при рості на середовищі ГПС, тому що змінюється значення рН за рахунок накопичення молочної кислоти, у той час як на КС крейда є буфером і рН залишається нейтральним.

2. Встановили, що нітрат срібла у концентраціях 1,0 мМ і 2,0 мМ майже не інгібує процес накопичення біомаси, а біогенні частки змінювали свій колір що спостерігали при спектрометричному вимірюванні супернатанту культуральної рідини. Пік спостерігався у діапазоні 410 нм.

3. Після культивування *Lactobacillus acidophilus* на ГПС та МРС середовищах з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ не має зміни кольору. Також встановили, що для дослідження солі нітрату церію потрібно змінювати діапазон спектру поглинання наночасток.

ВИСНОВКИ

1. Штами роду *Lactobacillus acidophilus* володіють антиоксидантною здатністю на організм людини; лежать в основі виробництва імуномодуляторів – ефективних фармацевтичних препаратів для профілактики та захисту дихальних шляхів від вірусно-бактерійних інфекцій; можуть входити у багатокomпонентні препарати з високою терапевтичною ефективністю; входять до складу косметичних засобів, застосовуваних з метою зволоження шкіри і її захисту від несприятливих зовнішніх факторів.

2. Визначили, що сіль нітрату срібла у низьких концентраціях інгібує процес накопичення біомаси особливо при рості на середовищі ГПС, тому що змінюється значення рН за рахунок накопичення молочної кислоти, у той час як на КС крейда є буфером і рН залишається нейтральним.

3. Встановили, що нітрат срібла у концентраціях 1,0 мМ і 2,0 мМ майже не інгібує процес накопичення біомаси, а біогенні частки змінювали свій колір що спостерігали при спектрометричному вимірюванні супернатанту культуральної рідини. Пік спостерігався у діапазоні 410 нм.

4. Після культивування *Lactobacillus acidophilus* на ГПС та МРС середовищах з внесенням $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ не має зміни кольору. Також встановили, що для дослідження солі нітрату церію потрібно змінювати діапазон спектру поглинання наночасток.

СПИСОК ВИКОРИСТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бактерії роду *Lactobacillus*: загальна характеристика та методи роботи з ними: Навчально-методичний посібник/Д.Р. Ярулліна, Р.Ф. Фахруллін. - Казань: Казанський університет, 2014. - 51 с.
2. Бондаренко В.М., Рубакова Э.И., Лаврова ВА. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве препаратов пробиотиков // ЖМЭИ. - 1998. - № 5. - С. 107-112.
3. Бондаренко В.М., Чуприна Р.Л., Воробьева МЛ. Механизм действия пробиотических препаратов // БИОпрепараты. - 2003. - № 3. - С. 2- 5.
4. Воропаева Е. А. Роль микробиоценозов открытых полостей в формировании реактивности организма: диагностические критерии для оценки состояния здоровья человека: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. 2013. 43 с.
5. Журавлева Наталья Геннадиевна, Шляхтин Олег Александрович. "Наночастица". Роснано. Archived from the original on 2012-06-18. Retrieved 2012-03-08.
6. Іркітова А.Н., Каган Я.Р., Сергеева И.Я. Властивості, екологічні аспекти і практичне значення ацидофільної палички // Актуальні проблеми техніки і технології переробки молока: збірн. Наук. праць. – Барнаул, 2011. – № 8. – С. 230–239.
7. Квасников Е.И. Молочнокислі бактерії та шляхи їх використання. – М.: Наука, 1975. – 384 с.
8. Волошина І.М., Кошелап Б.А., Талашенко Д.О. МОЗ Національний фармацевтичний університет: Біосинтез наночасток *Lactobacillus*, Харків, 2021, 262-263 с.
9. Кошелап Б.А., Талашенко Д.О., Волошина І.М. Застосування пробіотиків *Lactobacillus* в медицині та ветеринарії // Міжнародний науковий журнал “ОСВІТА І НАУКА”: МДУ, 2021. – № 2 (31) – С. 1-13 **друк**

10. Кричевский Г. Е. Экологичный «зеленый» биосинтез наночастиц металлов, реальность и потенциал их использования в различных областях медицины. Часть 1. Портал НОР. <http://www.rusnor.org/pubs/articles/15367.htm>.

11. Кричевский Г.Е. Использование наночастиц металлов в медицине. Портал НОР. <http://www.rusnor.org/pubs/articles/15479.htm>.

12. Онищенко Г. Г., Алешкин В. А., Афанасьев С. С. Иммунобиологические препараты и перспективы их применения в инфектологии / под ред. Г. Г. Онищенко, В. А. Алешкина, С. С. Афанасьева, В. В. Поспеловой. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. 608 с.

13. Соболев А.С. Нанотехнологии в доставке лекарств. // Электронный ресурс, Презентация nano.msu.ru/files/basics/2012/lecture11-Sobolev.pdf.

14. Урбах В.Ю. Статистичний аналіз в біологічних і медичних дослідженнях. – М.: Медицина, 1975. – 296 с.

15. Урсова Н.І. Сучасні технології в корекції дисбактеріозів у дітей. – М., 2003. – С. 2–15.

16. Asian K, Holley P, Geddes CD. Microwave-Accelerated Metal-Enhanced Fluorescence (MAMEF) with silver colloids in 96-well plates: Application to ultra fast and sensitive immunoassays, high throughput screening and drug discovery. *J Immunol Methods*. 2006; 312(1-2): 137-147.

17. ASTM E 2456 – 06 Standard Terminology Relating to Nanotechnology

18. Azzazy HM, Mansour MM, Kazmierczak SC. From diagnostics to therapy: prospects of quantum dots. *Clin Biochem*. 2007; 40(13-14): 917-927.

19. Blanco-Andujar C., NTK Thanh. Synthesis of nanoparticles for biomedical applications. *Annual Reports Section "A" (Inorganic Chemistry)*, 2010, 106, 553-568.

20. Bosi S, Da Ros T, Caste llano S et al Antimycobacterial activity of ionic fullerene derivatives. *Bioorg Med Chem Lett*. 2000; 10(10): 1043-1045.

21. Buzea, C.; Pacheco, I. I.; Robbie, K. (2007). "Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity". *Biointerphases* 2 (4): MR17–MR71. doi:10.1116/1.2815690. PMID 20419892. Edit

22. C.P. Reis, R.J. Neufeld, A.J. Ribeiro, F.Veiga. Nanoencapsulation I: Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles // *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* — 2006.
23. C.Vauthier, K. Bouchemal. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles // *Pharm. Res.* — 2009.
24. Caetano J. A., Parames M. T., Babo M. J. et al. Immunopharmacological effects of *Saccharomyces boulardii* in healthy human volunteers // *Int. J. Immunopharmacol.* 1986. Vol. 8. P. 245–259.
25. Chaloupka K. et al. Trends in biotechnology: Use of silver and silver nanoparticles. 28(11), 2010, pp. 580–588.
26. Cheng Y, Wang J, Rao T et al. Pharmaceutical applications of dendrimers: promising nanocarriers for drug delivery. *Front Biosci.* 2008; 13: 1447-1471.
27. Dugan LL, Lovett E, Cuddihy S et al. In *Fullerenes: Chemistry, Physics, and Technology*, edited by KM Kadish and RS Ruoff, John Wiley and Sons, New York (2000), p.467.
28. Evanoff, D. D. Synthesis and Optical Properties of Silver Nanoparticles and Arrays / D. D. Evanoff, G. Chumanov // *ChemPhysChem.* – 2005. T. 6. – No 7. – C. 1221–1231.
29. Fahlman, B. D. (2007). *Materials Chemistry*. Springer. pp. 282–283. ISBN 1-4020-6119-6.
30. Fahmy TM, Fong PM, Park J et al. Nanosystems for simultaneous imaging and drug delivery to T cells. *AAPS J.* 2007; 9: E1 71-E 180.
31. Fu HL, Cheng SX, Zhang XZ, Zhuo RX. Dendrimer/DNA complexes encapsulated in a water soluble polymer and supported on fast degrading star poly(DL-lactide) for localized gene delivery. *J Control Release.* 2007; 124: 181-188.
32. Gaucher G, Dufresne MH, Sant VP et al. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery. *J Control Release.* 2005; 109: 169-188.
33. Ge L. et al. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *Int J Nanomedicine.* 2014; 9: 2399–2407.

34. Granqvist, C.; Buhrman, R.; Wyns, J.; Sievers, A. (1976). "Far-Infrared Absorption in Ultrafine Al Particles". *Physical Review Letters* 37 (10): 625. doi:10.1103/PhysRevLett.37.625. edit
35. H. Maeda. SMANCS and polymer-conjugated macromolecular drugs: advantages in cancer chemotherapy // *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2001.
36. Hanaki K, Momo A, Oku T et al. Semiconductor quantum dot/albumin complex is a long—life and highly photostable endosome marker. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003; 302(3): 496-501.
37. Hayashi, C.; Uyeda, R and Tasaki, A. (1997). Ultra-fine particles: exploratory science and technology (1997 Translation of the Japan report of the related ERATO Project 1981–86). Noyes Publications.
38. Kiss, L. B.; Söderlund, J.; Niklasson, G. A.; Granqvist, C. G. (1999). "New approach to the origin of lognormal size distributions of nanoparticles". *Nanotechnology* 10: 25. doi:10.1088/0957-4484/10/1/006. Edit
39. Kobayashi H, Kawamoto S, Jo SK et al. Macromolecular MRI contrast agents with small dendrimers: pharmacokinetic differences between sizes and cores. *Bioconjug Chem*. 2003; 14: 388—394.
40. Kojima C, Kono K, Maruyama K, Takagishi T. Synthesis of polyamidoamine dendrimers having poly (ethylene glycol) grafts and their ability to encapsulate anticancer drugs. *Bioconjug Chem*. 2000; 11: 910-917.
41. Kwon GS. Polymeric micelles for delivery of poorly water—soluble compounds. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 2003; 20: 35 7—403.
42. Lim YT, Kim S, Nakayama A et al. Selection of quantum dot wavelengths for biomedical assays and imaging. *Mol Imaging*. 2003; 2(1): 50—64.
43. Lin MY Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 / MY Lin, FJ.Chang // *Digestive Diseases and Sciences*. - 2000. - № 45(8). – C.1617-22
44. Mecke A, Uppuluri S, Sassanella TM et al. Direct observation of lipid bilayer disruption by poly (amidoamine) dendrimers. *Chem Phys Lipids*. 2004; 132: 3-14.

45. Meydani S.N., Ha W.-K. Immunologic effects of yogurt// *ASCN*. - 2000. - 71, № 4. - P. 861- 872.
46. Mishra M., Chauhan P. Nanosilver and its Medical Implications. *J. Nanomed Res.* 2(5), 2015, 00039.
47. Mohamed A. et al. Nanomaterials and nanotechnology for skin tissue engineering. *Int. J. Burns Trauma* 2012 2(1):29–41.
48. Mroz P, Pawlak A, Satti M et al. Functionalized fullerenes mediate photodynamic killing of cancer cells: Type I versus Type II photochemical mechanism. *Free Radic Biol Med.* 2007; 43(5): 711-719.
49. Ou Q Yuan R, Chai Y et al. A novel amperometric immunosensor based on layer-by-layer assembly of gold nanoparticles-multi-walled carbon nanotubes-thionine multilayer films on polyelectrolyte surface. *Anal Chim Acta.* 2007; 603(2): 205-213.
50. Patel Margi H., Desai Pratibha B. Grafting of Medical Textile using Neem Leaf Extract for Production of Antimicrobial Textile. *Research Journal of Recent Sciences*, Vol. 3, 2014, pp. 24-29.
51. Schinazi RF, Sijbesma R, Srdanov G et al. Synthesis and virucidal activity of a water—soluble, configurationally stable, derivatized C60 fullerene. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37(8): 1707—1710.
52. Tanaka R, Yuhi T, Nagatani N et al. A novel enhancement assay for immunochromatographic test strips using gold nanoparticles. *Anal Bioanal Chem.* 2006; 385(8): 1414-1420.
53. V.P.Torchilin. Multifunctional nanocarriers // *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2006.
54. Wu W, Wieckowski S, Pastorin G et al. Targeted delivery of amphotericin B to cells by using functionalized carbon nanotubes. *Angew Chem Int Edn Engl.* 2005; 44: 6358-6362.

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ
КАФЕДРА ЗАВОДСЬКОЇ ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ**



МАТЕРІАЛИ

VI Міжнародної науково-практичної інтернет – конференції

**«ТЕХНОЛОГІЧНІ ТА БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ
ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ РІЗНОЇ НАПРАВЛЕНОСТІ ДІЇ»**

**«TECHNOLOGICAL AND BIOPHARMACEUTICAL ASPECTS OF DRUGS
DEVELOPING WITH DIFFERENT ORIENTATION OF ACTION»**

**11—12 листопада 2021 р.
м. Харків**

Методи та об'єкти дослідження. У представленій роботі були використані порівняльний та статистичний аналіз електронних і паперових джерел інформації про зареєстровані в Україні ЛЗ.

Основні результати. За результатами аналізу встановлено, що на даний момент препарати на основі липи представлені українськими виробниками (ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола», ПрАТ «Ліктрави», Україна, ТОВ «Тернофарм», ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика») та налічують лише чотири торгових найменувань. Досліджена група препаратів випускаються у двох лікарських формах – лікарський рослинний чай та сироп.

Липи квітки у вигляді збору рекомендовано застосовувати внутрішньо – при застудних захворюваннях, бронхітах, зовнішньо — при ангінах, стоматитах, ларингітах, гінгівітах (у складі комплексної терапії). Лікарський засіб Маліпін (виробник ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика») використовується як допоміжний засіб при ГРВІ, запаленні горла, кашлі, які супроводжуються підвищеною температурою тіла.

Висновки. Отже, обмежений асортимент лікарських засобів на основі сировини липи сердцелистої обумовлює розробку нових ефективних препаратів, зокрема для лікування гострих респіраторних вірусних інфекцій.

Біосинтез наночасток *Lactobacillus*

Волошина І.М., Кошелап Б.А., Галашенко Д.О.

Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна

wim@ukr.net

Вступ. Останнім часом нанотехнології є одним із сучасних напрямів у розвитку біотехнології, оскільки наночастки набувають значної уваги завдяки їх застосуванню в різних галузях. Наночастки завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям, таким як електрична і теплопровідність, фотоелектрохімічна активність, хімічна стабільність і висока каталітична і антимікробна активність [1] привертають увагу науковців і застосовуються у різних галузях, таких як електроніка, каталіз, доставка ліків або зондування, тощо. Наночастки можна синтезувати з використанням різних хімічних і фізичних процесів, однак вони характеризуються низькою стабільністю, токсичністю хімічних речовин і складністю контролю росту кристалів [2, 3].

Мета дослідження. Провести літературний пошук у наукометричних базах даних, щодо біосинтезу наночасток *Lactobacillus*.

Методи та об'єкти дослідження. Аналіз масиву наукових літературних даних.

Основні результати. В літературі зустрічається багато інформації використання солей різних металів для отримання відповідних наночастинок за допомогою різних біологічних об'єктів. Більш того, різні біологічні агенти, такі як бактерії, водорості, гриби, рослини, їх ферменти і екстракти, синтезують наночастинки різного розміру і форми та мають різні механічні, електричні та структурні властивості [4].

З літератури відомо, що наночастинки срібла (AgNP), отримані за допомогою біосинтезу з використанням екзополісахариду *Lactobacillus brevis* MSR104 [5] мають різний розмір та кристалічну природу. Результати антимікробного аналізу показали, що AgNP виявляли виняткову антимікробну активність залежно від дози. Вчені довели, що новосинтезовані наночастинки срібла мають антибактеріальні, антиоксидантні та протипухлинні застосування в сільськогосподарській та харчовій промисловості [5].

Також відомо, що неорганічні наночастинки проявляють антибактеріальну дію різних доз наночастинок на *Lactobacillus plantarum* та *Lactobacillus fermentum*, змінюючи при цьому їх морфологічні властивості руйнуючи їх клітинні мембрани [6]. Позаклітинна біомаса *Lactobacillus reuteri*, використовувалася як відновник та укупорюючий агент для синтезу гібридних наночастинок хітозану-срібла (CS-AgNP). Синтезовані CS-AgNP продемонстрували потенційну антибактеріальну активність дискової дифузії щодо збудників *B. subtilis* та *E. coli* [7].

Висновки. Враховуючи літературні дані можна зробити висновок, що метод біосинтезу наночастинок за допомогою молочнокислих бактерій набуває дуже важливого значення завдяки їх економічним та екологічним перевагам. Більш того, синтезовані наноконкомпозити демонстрували антимікробні, антиоксидантні та протипухлинні властивості, що дає змогу їх використовувати у сільськогосподарській, харчовій та медичній промисловості.

Список літератури

1. Rasheed, T.; Bilal, M.; Iqbal, H.M.N.; Li, C.L. Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. *Colloid Surf. B* 2017, *158*, 408–415. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.07.020.
2. Saratale, R.G.; Karuppusamy, I.; Saratale, G.D.; Pugazhendhi, A.; Kumar, G.; Park, Y.; Ghodake, G.S.; Bharagava, R.N.; Bannu, J.R.; Shin, H.S. A comprehensive review on green nanomaterials using biological systems: Recent perception and their future applications. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2018, *170*, 20–35. doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.05.045.
3. Izadiyan, Z.; Shameli, K.; Hara, H.; Taib, S.H.M. Cytotoxicity assay of biosynthesis gold nanoparticles mediated by walnut (*Juglans regia*) green husk extract. *J. Mol. Struct.* 2018, *1151*, 97–105. doi.10.1016/j.molstruc.2017.09.039.
4. Roya, S.; Das, T.K.; Maiti, G.P.; Basu, U. Microbial biosynthesis of nontoxic gold nanoparticles. *Mater. Sci. Eng. B Adv.* 2016, *203*, 41–51. doi: 10.1016/j.mseb.2015.10.008.

5. Rajoka M. Sh. R., Melwishi H. M., Zhanga H., et.al. Antibacterial and antioxidant activity of exopolysaccharide mediated silver nanoparticle synthesized by *Lactobacillus brevis* isolated from Chinese koumiss. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2020, 186, 110734. doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110734.
6. Wang M., Li Y., Yang J., Shi R., Xiong L., Sun Q. Effects of food-grade inorganic nanoparticles on the probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus fermentum*. *LWT*, 2021, 139, 110540. doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110540.
7. Tharani Sh., Bharathi D., Ranjithkumar R. Extracellular green synthesis of chitosan-silver nanoparticles using *Lactobacillus reuteri* for antibacterial applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, 30, 101838. doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101838.

Косметичні засоби з наночастками металів

Волошина І.М., Бойко Т., Матвієнко В.В.

Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна

wim@ukr.net

Вступ. Використання косметичних засобів зростає дуже швидкими темпами порівняно з іншими засобами особистої гігієни. В літературі зазначається [1-3], що частіше починають використовувати косметичні засоби на основі нанотехнологій для догляду за волоссям, шкірою, зубами, губами та нігтями. Ці продукти розроблені для вирішення таких проблем, як старіння, гіперпигментація, акне, лупа, грибкова інфекція, пошкодження та випадання волосся, а також карієс. Для розробки косметичної продукції використовують багато нових наноносіїв/наноматеріалів, таких як ліпосоми, наноемульсії, тверді наночастинки ліпідів, наночастинки срібла, наночастинки золота та фулерени. Виявлено, що ці продукти є більш корисними з точки зору наявності різноманітних продуктів, покращеної естетичної привабливості, підвищеної ефективності та безпеки та тривалого ефекту [1-3].

Мета дослідження. Провести літературний пошук у наукометричних базах даних, щодо засобів з наночастками металів.

Методи та об'єкти дослідження. Аналіз масиву наукових літературних даних.

Основні результати. Потенційно присутні в косметичні наночастки (НЧ) металів і оксидів металів, такі як діоксид титану та оксид цинку, є звичайними інгредієнтами, доданими для забезпечення достатнього захисту від сонця. Також дуже часто згадується додавання НЧ срібла та золота в косметичні засоби для їх підвищення антибактеріальних та фунгіцидних властивостей проти *Aspergillus niger* і *Saccharomyces cerevisiae* [2, 3]. НЧ срібла та золота додають у косметичні засоби декоративної косметики, креми проти старіння, гелі для душу, мила, маски та зубні пастки [1]. Наносрібло додають в шампуні проти лупи, для проблемної шкіри голови та зменшення воровлення шкірного сала. Виробники засобів інтимної гігієни з

Міністерство охорони здоров'я України
 Ministry of Health of Ukraine
 Національний фармацевтичний університет
 National University of Pharmacy
 Кафедра заводської технології ліків
 Industrial technology of drugs
 Кафедра технології ліків
 Technology of drugs



СЕРТИФІКАТ CERTIFICATE №215

Цим засвідчується, що
 This is to certify that

Кошелюк Б. А.

брав(ла) участь у роботі VI Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції
 participated in the VI International scientific and practical Internet - conference

ТЕХНОЛОГІЧНІ ТА БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ РІЗНОЇ НАПРАВЛЕНОСТІ ДІЇ

TECHNOLOGICAL AND BIOPHARMACEUTICAL ASPECTS OF THE
 CREATION OF DRUGS OF DIFFERENT DIRECTIONS OF ACTION

11-12 листопада 2021 року, м. Харків
 November 11-12, 2021, Kharkiv

Ректор НаУФУ
 Rector of
 prof.



Алла КОТВИЦЬКА

ALLA KOTVITSKA





СЕРТИФІКАТ

засвідчує,
що наукова стаття
**"ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ
LACTOBACILLUS В МЕДИЦИНІ ТА
ВЕТЕРИНАРІЇ"**
автора(ів)

Кошелупи Б.А., Талашенка Д.О., Волошина І.М.

опублікована в
**Міжнародному науковому журналі
«ОСВІТА І НАУКА», випуск 2(31) 2021**

Головний редактор



Т. Д. Щербан



УДК 604+612.1/8

**ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКІВ *LACTOBACILLUS*
В МЕДИЦИНІ ТА ВЕТЕРИНАРІЇ
THE APPLICATION OF PROBIOTIC *LACTOBACILLUS* IN
MEDICINE AND VETERINARY MEDICINE**

Б.А. Кошелап, Д.О. Талашченко, І.М. Волошина

Киевский национальный университет технологий дизайна,

Украина, 01011, Киев, ул. Немировича-Данченка, 2

Bogdan Koshelap, Daniil Talashchenko, Iryna Voloshyna

National University of Technologies and Design,

2, Nemyrovycha-Danchenka Str., Kyiv, Ukraine 01011

Стаття присвячена актуальним напрямкам використання пробіотичних препаратів на основі бактерії роду *Lactobacillus*, оскільки вони здатні синтезувати різні речовини, а саме кислоти (молочну, оцтову), лізоцим, речовини з антибіотичною активністю, перекис водню, тощо. Ці речовини широко застосовується в медицині та ветеринарії, оскільки допомагають стимулювати шлункові соки і ферменти, необхідні для покращення процесів травлення, здатні зменшувати побічні ефекти антибіотиків, сприяти розщепленню солей жовчних кислот і нормалізації ліпідного обміну, тощо.

Ключові слова: *Lactobacillus*, пробіотики, біотехнологія, медицина, ветеринарія, мікроорганізми.

The article is devoted to the actual directions of obtaining biopreparations, the basis of which are bacteria of the genus *Lactobacillus*. Because lactobacilli have a diverse range of biological activities, for example, they help stimulate gastric juices and enzymes needed to improve digestive processes, reduce the side effects of antibiotics, promote the splitting of bile acid salts and normalize lipid metabolism,

protect epithelial cells from damage, they are widely used in medicine, cosmetology, food and agriculture, and veterinary medicine.

Having analyzed the literature data, we can say that preparations based on bacteria of the genus *Lactobacillus* are effective for use in medicine and veterinary medicine. In the course of its normal metabolism, *Lactobacillus* are capable of forming lactic acid, hydrogen peroxide, producing lysozyme and substances with antibiotic activity: reuterin, plantaricin, lactocidine, lactolin. Scientists also create new probiotic drugs based on *lactobacilli*, because they are highly effective means of correction of microbiocenosis and exhibit high activity in the microorganisms of the genera *Staphylococcus* and *Candida*. Many reports have been published on the use of *Lactobacillus* in the prevention and treatment of allergic and inflammatory diseases of the intestine, mucous membrane, respiratory tract, and the like. They are also used in the feeding of cattle and poultry, since they are normal microbiota.

The creation of new effective drugs is also relevant because in the modern world viruses and bacteria undergo mutations, which complicates the treatment of various diseases. Therefore, it is necessary to search for new effective probiotic strains of the genus *Lactobacillus*, to create more effective drugs.

Key words: *Lactobacillus*, probiotics, biotechnology, medicine, veterinary, microorganisms.

Keywords: *Bifidobacterium*, probiotics, antagonistic properties, bacteriocins.

Серед ефективних пробіотиків все більшого використання набувають біопрепарати, основу яких складають бактерії роду *Lactobacillus*. Опубліковано багато повідомлень про високу ефективність препаратів на основі лактобацил як засобів лікування захворювань, викликаних патогенними та умовно патогенними мікроорганізмами. Бактерії родини *Lactobacillus* відносять до основної мікрофлори людини і виявляють майже в усіх біотопах травного тракту [1]. Лактобактерії є грампозитивними неспороутворюючими бактеріями, які наймовірно різноманітні за формою та розмірами. Вони можуть мати форму від коротких до довгих ниткоподібних паличок, що можуть розташовуватись

поодинокі, парами або короткими ланцюжками. У процесі свого нормального метаболізму лактобацили здатні утворювати молочну кислоту, перекис водню, продукувати лізоцим і речовини з антибіотичною активністю: реутерін, плантаріцин, лактоцидін, лактолін. Гетероферментативні види лактобацил в якості кінцевих продуктів, крім того, можуть продукувати молочну, оцтову та інші кислоти і вуглекислий газ [2].

Однією з головних властивостей штаму є здатність до адгезії на стінках шлунково-кишкового тракту. Вони володіють різноманітним спектром біологічних активностей, наприклад, допомагають стимулювати шлункові соки і ферменти, необхідні для покращення процесів травлення, здатні зменшувати побічні ефекти антибіотиків, сприяти розщепленню солей жовчних кислот і нормалізації ліпідного обміну. Іншою важливою характеристикою є здатність захищати клітини епітелію від пошкодження і посилювати регенерацію слизової оболонки кишківника, пом'якшувати запальні процеси за рахунок нормалізації загальної мікрофлори людини [3]. Створення медичних та ветеринарних препаратів на основі лактобацил зможе суттєво допомогти покращити якість життя людства.

Застосування в медицині. Відомо, що пробіотичні препарати проявляють високу активність до мікроорганізмів родів *Staphylococcus* і *Candida*. В даний час їх вважають високоефективними та найбільш фізіологічно активними засобами корекції мікробіоценозу [4]. Опубліковано багато повідомлень про роль бактерій, у тому числі *Lactobacillus*, у профілактиці та лікуванні алергічних та запальних захворювань. Пробіотики на основі лактобацил покращували баланс мікроорганізмів кишківника, зменшували запалення і підвищували толерантність слизової оболонки, а також пригнічували гіперчутливість дихальних шляхів до метахоліну і значно зменшували кількість інфільтруючих запальних клітин і цитокінів в рідині та сироватці взятій із бронхоальвеолярного лаважу [1]. З літературних даних відомо, що бактерії *Lactobacillus rhamnosus* виявляють протизапальну дію на запалення дихальних шляхів, і можуть бути використанні в якості додаткової

терапії при алергічних захворюваннях дихальних шляхів [5]. Пробиотики на основі *Lactobacillus gasseri* збільшують секрецію інсуліну в організмі людини [6, 7]. Також є кілька досліджень, що вказують на специфічність бактеріального роду *Lactobacillus*, які мають здатність надавати захист проти алергії та астми [8].

Деякі види *Lactobacillus* можуть використовуватися як харчові добавки для індукції вироблення антимікробних і протизапальних факторів, в якості пробіотичного лікування остеоартриту. Лікування пробіотиком на основі *Lactobacillus casei* Shirota сприяє метаболізму кісткової тканини, зменшує біль і запальні реакції вікових розладів, пов'язаних з опорно-руховим апаратом, в тому числі остеоартриту [9]. Окрім колінних суглобів артрит також впливає на деякі інші важливі органи, як печінка, нирки і яєчники. Препарат на основі *Lactobacillus acidophilus* нормалізує мікрофлору організму та запобігає пошкодженню суглобів, а також захищає печінку, нирки і яєчники від впливу на них різних цитокінів. Також полегшує інфільтрацію запальних клітин, сприяючи адгезії нейтрофілів і лімфоцитів до ендотеліальних клітин. Всі дані автори підтверджують гістопатологічним аналізом [10].

Досліджували *Lactobacillus plantarum* WLPL04, який виділений з грудного молока людини, на його пробіотичні властивості та толерантність до кислот і жовчних солей, виживаність в шлунково-кишковому тракті, інгібування патогенних мікроорганізмів, чутливість до антибіотиків, вихід екзополісахаридів, захист від шкідливого впливу додецилсульфату натрію і протизапального стресу на культуру клітин. Результати показали, що *L. plantarum* WLPL04 володіє активністю широкого спектра відносно грампозитивних і грамнегативних штамів. Тести на чутливість до антибіотиків показали, що *L. plantarum* WLPL04 є чутливим до еритроміцину і нітрофурантоїну, і стійкий до канаміцину і бацитрацину. *Lactobacillus plantarum* WLPL04 здатний існувати в шлунково-кишковому тракті та може розглядатися в якості пробіотичного препарату для нормалізації мікрофлори людини [11].

Застосування в ветеринарії. Пробіотичні препарати на основі штаму *Lactobacillus plantarum* також використовують в сільському господарстві при вигодовуванні великої рогатої худоби та птиці. Наприклад, при силосуванні люцерни для відгодівлі великої рогатої худоби штам *Lactobacillus plantarum* застосовують для більшого вмісту молочної кислоти і більш низького рівня рН при силосуванні люцерни [12]. *Lactobacillus* використовують також в якості пробіотиків для вигодовування свиней, оскільки здатні до запобігання шлунково-кишкових інфекцій, що сприятиме покращенню показників їх росту та накопиченню маси туші. Також є дослідження, які підтверджують, що лактобацили здатні регулювати імунну систему хазяїна, покращувати метаболічні можливості кишківника та підтримувати баланс в мікробіоті кишківника [12].

Також вчені досліджували вплив *Lactobacillus* на шлунково-кишковий тракт (ШКТ) курчат, оскільки вони є важливими автохтонними резидентами їх організму [13]. Було відмічено, що введення пробіотичних бактерій може привести до колонізації їх в ШКТ курчат перед першим контактом з мікроорганізмами навколишнього середовища утворюючи захисну поверхню, в якій будуть накопичуватися метаболіти (молочна кислота, бактеріоцини), що проявлятимуть антимікробні властивості відносно патогенних мікроорганізмів. Це важливо, тому що може бути профілактикою сальмонельозу курчат та бути альтернативною заміною антибіотиків. Також це сприятиме процесам що відносяться до розвитку і формуванню імунної системи птахів. Крім того *Lactobacillus* покращують процеси травлення курчат, що позитивно впливатиме на коефіцієнт конверсії корму та призведе до кращого приросту м'яса [13].

Висновки. В статті показано, що використання бактерії роду *Lactobacillus* в медицині та ветеринарії є актуальним, оскільки вони здатні утворювати молочну, оцтову кислоти, перекис водню, продукувати лізоцим і речовини з антибіотичною активністю: реутерін, плантаріцин, лактоцидін, лактолін. Також лактобацили за рахунок своїх метаболітів допомагають стимулювати шлункові соки і ферменти, необхідні для покращення процесів

травлення, здатні зменшувати побічні ефекти антибіотиків, сприяти розщепленню солей жовчних кислот і нормалізації ліпідного обміну, захищають клітини епітелію від пошкоджень. Тому застосування препаратів пробіотичних мікроорганізмів роду *Lactobacillus* є одним з перспективних напрямків для нормалізації мікрофлори людини, тварин і птахів.

Література

1. Wu, C.T. Effects of immunomodulatory supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* on airway inflammation in a mouse asthma model [Text] / Wu C.T., Chen P.J., Lee Y.T., Ko J.L., Lue K.H. // J. Microbiol. Immunol. Infect – 2016. – Vol. 49, Issue 5. – P. 625–635. doi: 10.1016/j.jmii.2014.08.001.

2. Voloshyna, I.M. *Lactobacillus* bacteria: biological and therapeutic properties [Text] / I.M.Voloshyna, L.V.Shkotova, S.O.Skorokhod, I.Ye.Appolonova, N.M.Zholobak // Mikrobiol. Z., 2019, Vol 81., № 6. – P. 131-146. doi: <https://doi.org/10.15407/mikrobiolj81.06.131>.

3. Kim, M.S. A probiotic combination attenuates experimental colitis through inhibition of innate cytokine production [Text] / Kim M.S., Byun J.S., Yoon Y.S., Yum D.Y., Chung M.J., Lee J.C. // Benefic. Microbes. – 2017. – Vol. 8, Issue 2. – P.231 – 241. doi: 10.3920/BM2016.0031.

4. Tetili, F., Anti-staphylococcal enterotoxinogenesis of *Lactococcus lactis* in algerian raw milk cheese [Text] / Tetili F., Bendali F., Perrier J., Sadoun D. // Food Technol. Biotechnol. – 2017. – Vol. 55, Issue 4. – P.511 – 518. doi: 10.17113 /ftb.55.04.17.5105.

5. Wu, Z. Peptidoglycan diversity and anti-inflammatory capacity in *Lactobacillus strains* [Text] / Wu Z., Pan D., Guo Y., Sun Y., Zeng X. // Carbohydr. Polym. – 2015. – Vol. 128. – P.130–137. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.04.026.

6. Dao, M.C. Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology [Text] / Dao M.C., Everard A., Aron-Wisnewsky J., Sokolovska N., Prifti E., Verger E.O., et al. // Gut. – 2016. – Vol. 65, Issue 3. – P. 426–436. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308778.

7. Voloshyna, I.M. Bacteriocins *Lactobacillus* – an alternative to antimicrobial drugs [Text] / Voloshyna, I.M., Soloshenko, K.I., Krasinko, V.O., Lych, I.V., Shkotova, L.V. // Biopolymers and Cell, 2021, 37(2), P. 85–97 doi: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A4E>.

8. Panzer, A.R. Influence and effect of the human microbiome in allergy and asthma [Text] / Panzer A.R., Lynch S.V. // Curr. Opin. Rheumatol. – 2015. – Vol. 27, Issue 4. – P. 373–380. doi: 10.1097/BOR.0000000000000191.

9. Lei, M. The effect of probiotic *Lactobacillus casei* Shirota on knee osteoarthritis: a randomised double-blind, placebo-controlled clinical trial [Text] / Lei M., Guo C., Wang D., Zhang C., Hua L. // *Benef. Microbes.* – 2017. – Vol. 8, Issue 5. – P. 697-703. doi: 10.3920/BM2016.0207.
10. Amdekar, S. *Lactobacillus acidophilus* maintained oxidative stress from reproductive organs in collagen-induced arthritic rats [Text] / Amdekar S, Singh V. // *J Hum Reprod Sci.* – 2016. – Vol. 9, Issue 1. – P. 41-46. doi: 10.4103/0974-1208.178638.
11. Jiang, M. Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* WLPL04 isolated from human breast milk [Text] / Jiang M., Zhang F., Wan C., Xiong Y., Shah N.P., Wei H., Tao X. // *J. Dairy Sci.* – 2016. – Vol. 99, Issue 3. – C. 1736-1746. doi: 10.3168/jds.2015-10434.
12. Valeriano, V.D.V. Probiotic roles of *Lactobacillus* sp. in swine: insights from gut microbiota [Text] / Valeriano V.D.V., Balolong M.P., Kang D.-K. // *J. of Appl. Microbiology.* – 2017. – Vol. 122, Issue 3. – P. 554–567. doi: 10.1111/jam.13364.
13. Lebeer, S. FISH analysis of *Lactobacillus* biofilms in the gastrointestinal tract of different hosts [Text] / Lebeer S., Verhoeven T.L.A., Claes I.J.J., Hertogh G. De., Vermeire S., Buyse J., Immerseel F. Van, Vanderleyden J., De Keersmaecker S.C.J. // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2011. – Vol. 52, Issue 3. – P. 220–226. doi: 10.1111/j.1472-765X.2010.02994.x.

References

1. Wu, C.T., Chen, P.J., Lee, Y.T., Ko, J.L., Lue, K.H. (2016). Effects of immunomodulatory supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* on airway inflammation in a mouse asthma model. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 49 (5), 625 – 635. doi: 10.1016/j.jmii.2014.08.001.
2. Voloshyna, I.M., Shkotova, L.V. Skorokhod, S.O. Appolonova, I.Ye. Zholobak N.M. (2019) *Lactobacillus* bacteria: biological and therapeutic properties. *Mikrobiol. Z.*, 81 (6), 131-146. doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.06.131>.
3. Kim, M.S., Byun, J.S., Yoon, Y.S., Yum, D.Y., Chung, M.J., Lee, J.C. (2017). A probiotic combination attenuates experimental colitis through inhibition of innate cytokine production. *Benefic. Microbes*, 8 (2), 231–241. doi: 10.3920/BM2016.0031.
4. Tetili, F., Bendali, F., Perrier, J., Sadoun, D. (2017). Anti-staphylococcal enterotoxinogenesis of *Lactococcus lactis* in algerian raw milk cheese. *Food Technol. Biotechnol.*, 55 (4), 511 – 518. doi: 10.17113/ftb.55.04.17.5105
5. Wu, Z., Pan, D., Guo, Y., Sun, Y., Zeng, X. (2015). Peptidoglycan diversity and anti-inflammatory capacity in *Lactobacillus* strains. *Carbohydr. Polym.*, 128, 130–137. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.04.026.

6. Dao, M.C., Everard, A., Aron-Wisnewsky, J., Sokolovska, N., Prifti, E., Verger, E.O., et al. (2016). Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut*, 65 (3), 426–436. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308778.
7. Voloshyna, I.M., Soloshenko, K.I., Krasinko, V.O., Lych, I.V., Shkotova, L.V. (2021) Bacteriocins *Lactobacillus* – an alternative to antimicrobial drugs. *Biopolymers and Cell*. 37(2), 85–97 doi: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A4E>
8. Panzer, A.R., Lynch, S.V. (2015). Influence and effect of the human microbiome in allergy and asthma. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 27 (4), 373–380. doi: 10.1097/BOR.0000000000000191.
9. Lei, M., Guo, C., Wang, D., Zhang, C., Hua, L. (2017). The effect of probiotic *Lactobacillus casei* Shirota on knee osteoarthritis: a randomised double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Benef. Microbes.*, 8 (5), 697 – 703. doi: 10.3920/BM2016.0207.
10. Amdekar, S, Singh, V. (2016). *Lactobacillus acidophilus* maintained oxidative stress from reproductive organs in collagen-induced arthritic rats. *J Hum. Reprod Sci.*, 9 (1), 41-46. doi: 10.4103/0974-1208.178638.
11. Jiang, M., Zhang, F., Wan, C., Xiong, Y., Shah, N.P., Wei, H., Tao, X. (2016). Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* WLPL04 isolated from human breast milk. *J. Dairy Sci.*, 99 (3), 1736-1746. doi: 10.3168/jds.2015-10434.
12. Valeriano, V.D.V., Balolong, M.P., Kang, D.-K. (2017). Probiotic roles of *Lactobacillus* sp. in swine: insights from gut microbiota. *J. of Appl. Microbiology*, 122 (3), P. 554–567. doi: 10.1111/jam.13364.
13. Lebeer, S., Verhoeven, T.L.A., Claes, I.J.J., Hertogh, G. De., Vermeire, S., Buyse, J., Immerseel, F. Van, Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S.C.J. (2011). FISH analysis of *Lactobacillus* biofilms in the gastrointestinal tract of different hosts. *Lett. Appl. Microbiol.*, 52 (3), 220–226. doi: 10.1111/j.1472-765X.2010.02994.x.