



7
May, 2021

Tel Aviv, State of Israel

**FORMATION OF INNOVATIVE
POTENTIAL OF WORLD SCIENCE**
I International Scientific and Theoretical Conference

VOLUME 1

Tel Aviv, 2021



Chairman of the Organizing Committee: Holdenblat M.

Responsible for the layout: Bilous T.

Responsible designer: Bondarenko I.

F 76 **Formation of innovative potential of world science:** collection of scientific papers «SCIENTIA» with Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 1), May 7, 2021. Tel Aviv, State of Israel: European Scientific Platform.

ISBN 978-1-63848-593-3

DOI 10.36074/scientia-07.05.2021

Papers of participants of the I International Multidisciplinary Scientific and Theoretical Conference «Formation of innovative potential of world science», held on May 7, 2021 in Tel Aviv are presented in the collection of scientific papers.



The conference is included in the Academic Research Index ReserchBib International catalog of scientific conferences and registered for holding on the territory of Ukraine in UKRISTEI (Certificate № 225 dated 25 February 2021).

Conference proceedings are publicly available under terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).

UDC 001 (08)

© Participants of the conference, 2021

© Collection of scientific papers «SCIENTIA», 2021

© European Scientific Platform, 2021

ISBN 978-1-63848-593-3

НАУКОВО-ДОСЛІДНА ГРУПА:

Tsekhmistrenko Oksana

канд. с.-г. наук, доцент кафедри екології та біотехнології
Білоцерківський національний аграрний університет, Україна

Bityutsky Volodimir

д-р. с.-г. наук, професор, завідувач кафедри екології та біотехнології
Білоцерківський національний аграрний університет, Україна

Tsekhmistrenko Svitlana

д-р. с.-г. наук, професор, завідувач кафедри хімії
Білоцерківський національний аграрний університет, Україна

Kharchyshyn Viktor

канд. с.-г. наук, доцент кафедри екології та біотехнології
Білоцерківський національний аграрний університет, Україна

Tymoshok Nataliy

канд. біол. наук, с.н.с. відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів
Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Україна

Demchenko Alexander

канд. с.-г. наук, с.н.с. відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів
Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Україна

ВИБІР ПРОБІОТИКУ ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ НАНОЧАСТИНОК СЕЛЕНУ БІОТЕХНОЛОГІЧНИМИ МЕТОДАМИ

Відомо, що бактерії здатні зв'язувати і концентрувати розчинені іони металів і металоїдів [8]. Враховуючи це, деякі бактерії використовуються в якості нанофабрик, що забезпечує новий підхід до видалення металевих або металоїдних іонів і синтез матеріалів із унікальними властивостями. Бактеріальний синтез наночастинок (НЧ) є надзвичайно перспективним через його незначну енергозатратність та урегульованість процесу [1, 2, 8]. НЧ можуть утворюватися бактеріями як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно. Встановлено, що позаклітинний синтез є ефективнішим та йому притаманна простіша екстракція НЧ. При цьому біосинтезові металеві НЧ стійкіші до окиснення, що обумовлює можливість їх застосування в різних галузях [7].

Об'єктами дослідження були штами бактерій, на основі яких створено збагачені селеном кормові добавки: пробіотичні штами *L. casei* IMB В-7280 та *L. plantarum* IMB В-7679 з колекції пробіотичних культур Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України [9]. Відбір цих штамів лактобактерій у якості продуцентів біогенного Nano-Se обумовлений їх здатністю перешкоджати розмноженню патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, підвищувати імунорезистентність макроорганізму та належністю до категорії безпечних мікроорганізмів. Штам *L. casei* IMB В-7280 виділено з біологічного матеріалу кишківнику людини. Штам *L. plantarum* IMB В-7679 був ізольований із кишечника бджіл. Дослідження проводили з використанням ліофілізованих та добових культур бактерій. Їх життєздатність перевіряли шляхом контролю росту на поживному середовищі MRSA за 37 °С продовж 12 год у мікроаерофільних умовах.

L. plantarum – це аеротолерантні грам-позитивні бактерії, які ростуть за 15 °С та виробляють обидва ізомери молочної кислоти (D і L). Лактобактерії незвичні тим, що можуть дихати киснем, але не мають дихального ланцюга та цитохромів. Споживаний кисень ці бактерії в кінцевому підсумку перетворюють на пероксид гідрогену [6]. Штам мікроорганізмів *L. plantarum* використовують в якості пробіотика, який продукує поліаміни, монооксид азоту і антиоксидантні сполуки, покращує бар'єрну функцію кишечника, імунітет слизової кишечника і клітинний імунітет та індукує прозапальні цитокіни. Лактобацили ефективні у разі зниження стресостійкості та ослаблення імунної системи. У першу чергу, процеси, які при цьому виникають, завдають шкоди кількості захисних клітин (лейкоцити, макрофаги, лімфоцити, тромбоцити), що циркулюють в організмі, і знижують активність фагоцитів та захисну функцію слизової оболонки [3–5].

Мікробні метаболіти відіграють істотну роль у цілісності слизової, наприклад, коротколанцюгові жирні кислоти, які продукують молочнокислі бактерії, зокрема *L. plantarum* у товстій кишці за багатим волокнами кормом, в основному рослинного походження. Бутират, який виробляють бацили, необхідний для посилення бар'єрної функції слизової оболонки.

Фізіологічна дія поліамінів спрямована на ріст клітин і диференціацію, регулювання імунних клітин і запальної реакції; поліаміни мають антиалергічну дію, стимулюють синтез білка, стабілізують структуру нуклеїнових кислот і контролюють активність ензимів. Поліаміни зменшують утворення виразок кишечника і покращують його слизову оболонку, отже, знижуючи її проникність для макромолекул. При пошкодженні клітин епітелію вироблення поліамінів клітинами мікрофлори кишечника вважають одним з компенсаторних механізмів для модифікації імунної відповіді і регуляції апоптозу. Путресцин отримують за допомогою декількох анаеробів, зокрема і лактобацил, які складають основну частину мікрофлори проксимального відділу товстої кишки. Лактобацили синтезують поліаміни шляхом декарбоксілювання амінокислот, особливо при високих значеннях рН вмісту кишечника. Окрім цього, аргінін є джерелом монооксиду азоту (NO); система NOS-NO проявляє захисний механізм проти зумовленого стресом пошкодження слизової кишечника.

Посівний матеріал штамів *L. casei* IMB B-7280 та *L. plantarum* IMB B-7679 у всіх дослідженнях отримували на поживному середовищі MRS Broth (Conda), до складу якого входили (г/л): глюкоза – 20,0; екстракт яловичини, 10,0; KH_2PO_4 – 2,0; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0,05; пептон – 10,0; CH_3COONa – 5,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2; Твін 80 – 1,0; цитрат триамонію – 2,0; дріжджовий екстракт – 4,0. Культивування проводили у колбах Ерленмейера у динамічному режимі (220 об/хв). Середовища розливали по 200 мл у колби та стерилізували насиченою водяною парою в автоклаві при 1 атм 20 хв. Зберігали в прохолодному місці не більше 2 міс. У ряді дослідів використовували агаризоване середовище MRS, яке отримували шляхом додавання до MRS Broth агар-агару (14,0 г/л).

Для відбору пробіотичних мікроорганізмів, здатних до трансформації селеніту натрію та утворення біогенного наноселену (Nano-Se), культури лактобактерій вирощували упродовж двох діб у рідкому середовищі MRS і висівали суспензію клітин у чашки Петрі з MRSA (10^7 кл/чашку), що містило 0,005–0,01 мг/мл селеніту натрію. Лактобактерії інкубували впродовж двох діб при 37 °С, після чого проводили підрахунок колонієутворюючих одиниць (КУО). У роботі використовували добові культури *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 у дозах (10^2 – 10^8 клітин / cm^3).

Визначення впливу селеніт-іонів на ріст пробіотичних штамів *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 проводили за наявності селенату натрію в кількості 1–10 ppm. Як посівний матеріал використовували культуру, вирощену на MRS з експоненційної фази росту. Внесення посівного матеріалу у разі культивування проводили в кількості 5 %

від об'єму середовища. Культивування здійснювали у флаконах об'ємом 500 мл зі 100 мл середовища на качалці (220 об/хв) за 30 °C упродовж 120 год.

Контролями росту *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 були їх паралельні посіви на чашки з MRSA. Вплив Na_2SeO_3 на ріст бактерій на рідкому середовищі визначали за (ICS, 1998), шляхом висіву аліквот культур, що росли за наявності селеніту або за його відсутності на MRSA, за зниженням КУО при культивуванні в анаеробних умовах $37 \pm 0,5$ °C (5 % CO_2) впродовж 48 год.

Толерантність лактобактерій до впливу селеніт-іонів проводили на рідкому середовищі MRS. Визначали зниженням КУО при висіву аліквот відібраних із зразків культури, що росла за наявності селеніту або за його відсутності. Відновлення селеніт-іонів SeO_3^{2-} до Se^0 визначали за зміною кольору середовища до різних відтінків коричнево-червоного кольору. Утворення Nano-Se спостерігали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії.

Для відділення клітин від культуральної рідини проводили центрифугування вирослої суспензії клітин штамів за 6000 об/хв впродовж 20 хв. Отриманий осад клітин промивали 0,15 М розчином NaCl. Промитий осад клітин досліджували візуально та за допомогою трансмісійної та скануючої мікроскопії. Відновлення SeO_3^{2-} до Se^0 визначали за зміною кольору середовища до різних відтінків рожево-червоного.

Список використаних джерел:

1. Харчишин, В.М., Бітюцький, В.С., Мельниченко, О.М., Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.І., Тимошок, Н.О., Співак, М.Я. (2021). Ефективність застосування комплексних розробок сучасної біотехнології. Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали I міжнародної наук.-практ. інтернет-конф. (25 березня 2021 р., м. Харків), X.: НФаУ, 329–330.
2. Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. (2020). Нанотехнології і навколишнє середовище. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Біла Церква, 26–29.
3. Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, S.I., Tsekhmistrenko, O.S., Oleshko, O.A., Heiko, L.M. (2020). Influence of selenium on redox processes, selenoprotein metabolism and antioxidant status of aquaculture facilities. Таврійський науковий вісник, 114, 231–240.
4. Tsekhmistrenko, O.S., Bityutsky, V.S., Tsekhmistrenko, S.I., Kharchyshyn, V.M., Tymoshok, N.O., Spivak, M.Ya. (2020). Efficiency of application of inorganic and nanopreparations of selenium and probiotics for growing young quails. Theoretical and Applied Veterinary Medicine, 8(3), 206–212.
5. Bityutsky, V. S., Tsekhmistrenko, S. I., Tsekhmistrenko, O. S., Tymoshok, N. O., & Spivak, M. Y. (2020). Regulation of redox processes in biological systems with the participation of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway, biogenic selenium nanoparticles as Nrf2 activators. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 11(4), 483–493.
6. Tsekhmistrenko, O.S., Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S. (2020). Biological and physiological role and using of selenium compounds in livestock and poultry. Theoretical and practical foundations of social process management. San Francisco, USA, P. 105–110.
7. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, O.S. (2020). Markers of oxidative stress in the blood of quails under the influence of selenium nanoparticles. Impact of modernity on science and practice. Abstracts of XVIII International Scientific and Practical Conference. Boston, USA, 177–180.
8. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, O.S., Horalskyi, L.P., Tymoshok, N.O., Spivak M.Y. (2020). Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. Biosystems Diversity, 28(1), 9–17.
9. Tymoshok, N.O., Kharchuk, M.S., Kaplunencko, V.G., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, S.I., Tsekhmistrenko, O.S., Spivak, M.Y., Melnichenko, O.M. (2019). Evaluation of effects of selenium nanoparticles on *Bacillus subtilis*. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 10(4), 544–552.