



EUROPEAN CONFERENCE

Conference Proceedings



**The V International Science Conference
«THEORY, PRACTICE AND SCIENCE»**

October 18 – 20, 2021

Tokyo, Japan

THEORY, PRACTICE AND SCIENCE

Abstracts of V International Scientific and Practical Conference

Tokyo, Japan

(October 18 – 20, 2021)

UDC 01.1

ISBN – 978-9-40362-456-3

The V International Science Conference «Theory, practice and science»,
October 18 – 20, Tokyo, Japan. 291 p.

Text Copyright © 2021 by the European Conference (<https://eu-conf.com/>).

Illustrations © 2021 by the European Conference.

Cover design: European Conference (<https://eu-conf.com/>).

© Cover art: European Conference (<https://eu-conf.com/>).

© All rights reserved.

No part of this publication may be reproduced, distributed, or transmitted, in any form or by any means, or stored in a data base or retrieval system, without the prior written permission of the publisher. The content and reliability of the articles are the responsibility of the authors. When using and borrowing materials reference to the publication is required. Collection of scientific articles published is the scientific and practical publication, which contains scientific articles of students, graduate students, Candidates and Doctors of Sciences, research workers and practitioners from Europe, Ukraine, Russia and from neighboring countries and beyond. The articles contain the study, reflecting the processes and changes in the structure of modern science. The collection of scientific articles is for students, postgraduate students, doctoral candidates, teachers, researchers, practitioners and people interested in the trends of modern science development.

The recommended citation for this publication is: Nadtochy P., Ratoshniuk V., Ratoshniuk T. Efficiency of the system of fertilization of field crops in the conditions of Zhytomyr Polissya // Theory, practice and science. Abstracts of V International Scientific and Practical Conference. Tokyo, Japan 2021. Pp. 11-13.

URL: <https://eu-conf.com>

ВПЛИВ СЕЛЕНІТ-ІОНІВ НА *L. CASEI* ІМВ В-7280 ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЗДАТНОСТІ КУЛЬТУРИ ДО УТВОРЕННЯ БІОГЕННОГО NANO-SE

Тимошок Наталія Олександрівна

Кандидат біологічних наук
Інститут вірусології та мікробіології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Демченко Олександр Анатолійович

Кандидат біологічних наук
Інститут вірусології та мікробіології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Бітюцький Володимир Семенович

Доктор сільськогосподарських наук
Білоцерківський національний аграрний університет, Україна

Цехмістренко Світлана Іванівна

Доктор сільськогосподарських наук
Білоцерківський національний аграрний університет, Україна

Біобезпека і екологічна чистота виробництва наночастинок, застосування яких у багатьох секторах економіки зростає значними темпами, є актуальною проблемою [7, 9, 17].

Останнім часом широко почали застосовувати наночастинок Селену. Селен відіграє дуже важливу роль в організмі через поліфакторну дію та його надходження, особливо в районах з ґрунтами, дефіцитними за цим елементом [15, 16, 19]. Враховуючи можливі токсичні ефекти та більш обмежені властивості неорганічних форм селену, існує потреба у розробці нових композицій, зокрема у наноформі [12, 22, 25]. У лабораторних дослідженнях доведено, що наночастинок Селену (SeNPs) не діють виключно як антиоксиданти: встановлена не лише редокс-регулююча активність SeNPs, що може надати їм можливість діяти в якості нетрадиційних антибактеріальних, імуномодулюючих та рістстимулюючих агентів за допомогою різних механізмів регулювання метаболічних процесів [12, 20, 24]. Додавання пробіотичних добавок, в комплексі з наноселеном, до кормів тварин та птиці буде сприяти підвищенню темпів росту і активації антиоксидантного захисту організму, позитивно впливати на їх збереження [1, 4, 5, 18, 21].

Добавки селену з використанням неорганічних і органічних форм застосовуються для підвищення темпів зростання і підвищення антиоксидантного захисту організму [8, 11, 14]. Однак дані форми мають обмеження: вузький інтервал безпеки, неспецифічне зв'язування з тканинними білками. Альтернативною формою можуть слугувати наночастинок селену

(SeNPs), що мають кращу біодоступність, відносно високий запас безпеки і низьку токсичність [16].

Підхід зеленого синтезу наночастинок заснований на 12 принципах "зеленої" хімії, які включають розробку та проектування наночастинок із використанням нетоксичних хімічних речовин, відновлюваних матеріалів, екологічно безпечних розчинників та, нарешті, відходів, що розкладаються з утворенням нетоксичних сполук. Введення понять «зеленої хімії» і «нанотехнологій» є одним з революційних подій у науці, які вплинули на внесок у проведення досліджень щодо безпечності та зменшення розмірів об'єктів. Об'єднання цих двох областей проклало шлях до нової "зеленої" та нанорозмірно орієнтованої науки під назвою «зелені нанотехнології» або біонанотехнології [2, 23]. Три важливі етапи підготовки наночастинок із сприйняття "зеленої" хімії включають нешкідливе середовище розчинників, нетоксичний відновник та екологічно чисті стабілізатори [3, 6, 17].

Перевага наноструктур, синтезованих зеленим підходом, полягає в тому, що конкретні біооб'єкти (рослини, мікроорганізми) містять велику різноманітність біомолекул, які покривають поверхню синтезованих наночастинок, таким чином утворюючи шари покриття навколо нього, які додатково забезпечують стабільність, біосумісність та унікальну специфічність їх дії. Синтезовані пробіотичними бактеріями наночастинок селену можуть ефективно застосовуватися як альтернатива іншим формам селену в якості кормової добавки завдяки синергізму дії Se і пробіотиків для зменшення окиснювального стресу, підвищення резистентності та продуктивності птиці.

Окислювальний стрес є серйозним згубним фактором для клітинної цілісності за рахунок постійного вивільнення реактивних форм Оксигену, опосередкованих різними біотичними (бактеріями, вірусами, грибами тощо) та абіотичними стресорами. Фундаментальним шляхом у підтримці клітинного окислювально-відновного гомеостазу є редокс-чутлива сигнальна система Keap1/Nrf2/ARE, яка відіграє ключову роль у стресових, запальних, канцерогенних і проапоптотичних умовах. Останнім часом з'явилися повідомлення, що біогенні наночастинок селену, отримані методами "зеленої" хімії за участі лактобактерій, впливають на редокс-чутливий фактор транскрипції Nrf2 (Keap1/Nrf2/ARE сигналізація), який активує транскрипцію та синтез низки антиоксидантних та детоксуючих ензимів [10, 11].

Публікації останніх років досить широко висвітлюють дослідження щодо впливу мінеральних, органічних та нанопрепаратів селену та пробіотиків на ефективність вирощування сільськогосподарської птиці. Нашими дослідженнями доведено позитивний ефект використання різних форм селену [1, 4, 5, 11, 12, 14]. Дані дослідження свідчать про позитивний вплив препаратів селену та пробіотиків на ріст і розвиток птиці та масу тіла, прирости, витрати корму та збереженість поголів'я. Також досліджувались позитивні та негативні ефекти застосування кормових добавок на навколишнє середовище [19, 25] можливість відновлення довкілля з допомогою препаратів селену та внаслідок забруднення препаратами селену.

Селен входить до складу глутатіонпероксидази [24], тиреоредуктази [22] та селеноцистеїну, 21-ї амінокислоти. Кожний білок, який включає Sec у свій поліпептидний ланцюг, визначається як селенопротеїн [17].

У низці досліджень висвітлені результати досліджень щодо впливу на організм птиці неорганічних (селеніт натрію), органічних (Сел-Плекс), нано- та біонанопрепаратів селену [4, 11]. Однак між концентрацією Se є вузький діапазон фізіологічної дії без спричинення токсичного ефекту. У високих концентраціях (900 мкг/добу) селен стає надзвичайно токсичним.

Нормальна кишкова мікрофлора утворює відносно стабільну систему організму тварин та птиці [11, 13], однак дефіцит поживних речовин, що виникає при інтенсивному вирощуванні та різноманітні стрес-чинники зовнішнього середовища, можуть порушувати рівновагу системи [12, 15]. Тому одним із ефективних способів збереження якісного і кількісного складу та біохімічної активності нормальної мікрофлори є використання раціонів, збагачених лактобацилами, які запобігають розвитку захворювань та активують імунну відповідь.

Лактобацили приймають участь у процесах формування системної та місцевої імунної резистентності [15] завдяки своїм універсальним імуномодельючим властивостям. Вони утворюють асоціації зі слизовою оболонкою кишечника, взаємодіють з епітеліальними та імунокомпетентними клітинами та М-клітинами пейєрових бляшок, стимулюють імунну систему через активацію механізмів гуморальної та клітинно-опосередкованої імунної відповіді, а також функції ретикуло-ендотеліальної системи кишкового-тракту та продукування цитокінів. Лактобактерії активують проліферацію та диференціацію імунокомпетентних клітин [26], приводять до індукції синтезу імуноглобулінів на місцевому та системному рівнях, стимулюють скоротливі функції кишечника, сприяючи травленню. Лактобактерії проявляють антиканцерогенні властивості, посилюючи цитотоксичні функції Т-лімфоцитів, макрофагів та клітин-кілерів, беруть участь у формуванні феномену «оральної толерантності» до харчових антигенів.

Хімічні та фізичні методи, що застосовуються для отримання наночастинок, часто дороги і потенційно небезпечні для навколишнього середовища. Існує очевидна потреба в альтернативних економічно ефективних і в той же час безпечних і екологічно чистих методах виробництва наночастинок [13, 15, 17].

Багато біологічних систем, включаючи бактерії, гриби і рослини показали здатність синтезувати металеві наночастинок і всі ці підходи мають свої переваги і недоліки [13]. Внутрішньоклітинний або позаклітинний синтез, температура, час синтезу, легкість екстракції і відсоток синтезованих продуктів відіграють важливу роль у виробництві біогенних наночастинок. Знаходження оптимального біологічного методу може залежати від ряду змінних факторів. Найбільш важливо, що тип досліджуваної наночастинок металу, металоїду або оксиду металу є життєво важливим, оскільки в цілому організми розвинули стійкість проти невеликої кількості металів, що потенційно обмежує вибір біооб'єкте. Уданий час синтетична біологія яка зароджується як сфера науки, починає вирішувати ці питання з метою створення більш узагальненого шляху,

здатного синтезувати більше одного типу металевих наночастинок з використанням одного і того ж організму.

Дослідження присвячені можливостям синтезу біогенних наночастинок селену з використанням пробіотичних штамів лактобактерій.

Матеріал та методи. Культивування лактобактерій проводили у флаконах (500 см³) на ротаційному шейкері (220 об/хв), за оптимальної температури (30 °C). При цьому термін культивування на поживному середовищі MRS Broth (Conda) становив 2 доби.

У середовище додатково вносили селеніт натрію у різних концентраціях від 1 до 30 ppm за Se. Кількість життєздатних клітин бактерій в 1 мл суспензії визначали методом граничних розведень при висіві аліквот на поживні середовища з 0,2 % агар-агар. Культури *L. casei* IMB B-7280 вирощували у рідкому середовищі MRS Broth (Conda) low pH у присутності та відсутності Na₂SeO₃. Концентрація селеніту натрію складала від 1 до 30 ppm за рівнем Se. Визначення кількості мікроорганізмів проводили шляхом посіву (0,1 мл суспензії) у щільні середовища на чашки з MRS агар, посівна доза складала (10⁷ кл./чашку). Толерантність лактобактерій до впливу селеніт-іонів визначали за зниженням кількості КУО при висіві аліквот відібраних від зразків культури, що росла у присутності селеніту або за його відсутності. Результати дослідів представляли у КУО та переводили у (log cfu/ml). Утворення Nano-Se спостерігали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ).

Результати. На початку процесу культивування штам *L. casei* IMB B-7280 у присутності SeO₃²⁻ та за умов його відсутності (контроль) мав той самий колір. На другу добу культивування *L. casei* IMB B-7280 у поживному середовищі MRS, яке містило SeO₃²⁻, спостерігали зміну забарвлення середовища порівняно з контролем. З культурального середовища проводили відбір аліквот з подальшим осадженням суспензії бактеріальних клітин для визначення здатності *L. casei* IMB B-7280 до трансформації оксианіонів селену та утворення біогенного Nano-Se.

Суспензію бактеріальних клітин в об'ємі 1,5 мл осаджували в мікроцентрифузі. Осад ресуспендували в 1 мл 0,15 М NaCl. Результати дослідження виявили зміну забарвлення осаду бактеріальних клітин при культивуванні з SeO₃²⁻ до рожево-червоного кольору.

Відновлення SeO₃²⁻ до Se⁰ визначали по зміні кольору середовища до різних відтінків червоного. Такий колір може бути зумовлений продуктами окисно-відновних процесів, що призводять до утворення наночасток елементного Se⁰ біогенного походження.

Для проведення ТЕМ аліквоти суспензії бактеріальних клітин, відібрані у стаціонарну фазу росту, об'ємом 1,5 мл осаджували в мікроцентрифузі. Осад ресуспендували в 1 мл 0,15М NaCl. Центрифугування культури для осадження клітин *L. casei* IMB B-7280, дало змогу видалити супернатант та відмити культуру. Аналіз ТЕМ дозволив виявити електроно щільні сфери, різні за розміром: дрібні (30–50 нм) та великі діаметром приблизно 150–250 нм. Великі та малі наночастки, мали округлу форму, деякі Nano-Se мали не рівномірну оточуючу мембрану. Виявлено наявність позаклітинних електрон-щільних частинок при збагаченні культурального середовища 5 ppm Se (IV) та

культивуванні протягом 24 год, аеробно. Дослідження за допомогою ТЕМ високої роздільної здатності, дозволило виявити округлі депозити Nano-Se різні за розміром у внутрішніх компартаментах клітин *L. casei* ІМВ В-7280.

У результаті проведених нами досліджень встановлено здатність пробіотичного штаму лактобактерій (*L. casei* ІМВ В-7280) до відновлення селеніту в аеробних умовах з утворенням різних за розміром біогенних наночастинок селену.

Список літератури

1. Shabani R., Fakhraei J., Yarahmadi H. M., & Seidavi A. (2019). Effect of different sources of selenium on performance and characteristics of immune system of broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48.
2. Тимошок Н.О., Співак М.Я., Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. Процеси біологічної трансформації різних форм селену бактеріями. Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. 31 жовтня 2019 р. м. Біла Церква. Біла Церква: БНАУ. – С. 5–7.
3. Altaf M., Manoharadas S., & Zeyad M. T. (2021). Green synthesis of cerium oxide nanoparticles using *Acorus calamus* extract and their antibiofilm activity against bacterial pathogens. *Microscopy Research and Technique*.
4. Цехмістренко О., Бітюцький В., Цехмістренко С. Вплив селеновмісних пробіотичних препаратів на метаболічні процеси в організмі птиці. *Animal welfare in the conditions of global climate change. The 1st International Scientific and Practical Conference.* – April 21–22 Dnipro, Ukraine 2020. – С. 36–38.
5. Zambonino M. C., Quizhpe E. M., Jaramillo F. E., Rahman A., Santiago Vispo, N., Jeffryes C., & Dahoumane S. A. (2021). Green Synthesis of Selenium and Tellurium Nanoparticles: Current Trends, Biological Properties and Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 989.
6. Wadhvani S. A., Gorain M., Banerjee P., Shedbalkar U. U., Singh R., Kund G. C., & Chopade B. A. (2017). Green synthesis of selenium nanoparticles using *Acinetobacter* sp. SW30: Optimization, characterization and its anticancer activity in breast cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 12, 6841.
7. Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. «Зелені» технології у синтезі наночастинок селену. Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах: тези доп. І міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 28-29 травня 2020 р. – Дніпро, 2020. – Т.2. – С. 506–509.
8. Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. Нанотехнології і навколишнє середовище. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування. Біла Церква, 2020. – С. 26–29.
9. Reda M., Ashames A., Edis Z., Bloukh S., Bhandare R., & Abu Sara, H. (2019). Green synthesis of potent antimicrobial silver nanoparticles using different plant extracts and their mixtures. *Processes*, 7(8), 510.

10. Kumar C.G., Poornachandra Y., & Chandrasekhar C. (2015). Green synthesis of bacterial mediated anti-proliferative gold nanoparticles: inducing mitotic arrest (G2/M phase) and apoptosis (intrinsic pathway). *Nanoscale*, 7(44), 18738-18750.
11. Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., Tsekhmistrenko O.S., Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. 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*. 2020. – 11(4). – P. 483–493.
12. Bityutskyy V., Tsekhmistrenko S., Tsekhmistrenko O., Melnychenko O., Kharchyshyn V. (2019) Effects of Different Dietary Selenium Sources Including Probiotics Mixture on Growth Performance, Feed Utilization and Serum Biochemical Profile of Quails. In: Nadykto V. (eds) *Modern Development Paths of Agricultural Production*. Springer, Cham. – P. 623-632.
13. Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I., Tsekhmistrenko O.S., Oleshko O.A. Influence of selenium on redox processes, selenoprotein metabolism and antioxidant status of aquaculture facilities. *Таврійський науковий вісник*, 2020, 114, 231–240.
14. Tippayawat P., Phromviyo N., Boueroy P., & Chompoosor A. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles in aloe vera plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity. *PeerJ*, 4, e2589.
15. Tsekhmistrenko O.S., Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchyshyn V.M., Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. Efficiency of application of inorganic and nanopreparations of selenium and probiotics for growing young quails. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 2020, 8(3). – С. 206–212.
16. Tsekhmistrenko O.S., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchishin V.M., Melnichenko O.M., Rozputnyy O.I., Melnichenko Y.O., Vered P.I., Shulko O.P., L.S. Onyshchenko L.S. (2020). Nanotechnologies and environment: A review of pros and cons. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(3), 162–172.
17. Gottimukkala K. S. V., Harika R. P., & Zamare D. (2017). Green synthesis of iron nanoparticles using green tea leaves extract. *J. Nanomed. Biother. Discovery*, 7(151.10), 4172..
18. Tsekhmistrenko S., Bityutskyy V., Tsekhmistrenko O., Merzlov S., Tymoshok N., Melnichenko A., Polishcuk S., Demchenko A., Yakymenko I. (2021). Bionanotechnologies: synthesis of metals' nanoparticles with using plants and their applications in the food industry: a review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(6), e1513.
19. Park S., Sung H. K., & Kim Y. (2016). Green synthesis of metal nanoparticles using sprout plants: pros and cons. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 16(5), 4444-4449..
20. Tsekhmistrenko S.I., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko O.S., Kharchishin V.M., Tymoshok N.O., Demchenko A.A., Spivak M.Ya. Ecological and toxicological characteristics of selenium nanocompounds. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2021, 11(3), 199-204.
21. Tsekhmistrenko O.S., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I. Influence of selenium compounds on histological indicators of quails in the age aspect. *Perspective*

directions for the development of science and practice. Abstracts of XX International Scientific and Practical Conference. Athens, Greece 2020. P. 95-98.

22. Torres S.K., Campos V.L., León C.G., Rodríguez-Llamazares S.M., Rojas S.M. et al. (2012). Biosynthesis of selenium nanoparticles by *Pantoea agglomerans* and their antioxidant activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(11), 1236.

23. Tsekhmistrenko O.S., Tsekhmistrenko S.I., Bityutskyy V.S. Biological and physiological role and using of selenium compounds in livestock and poultry. Theoretical and practical foundations of social process management. Abstracts of XXIII International Scientific and Practical Conference. San Francisco, 2020. P. 105-110.

24. Khoso P. A., Zhang Y., Yin H., Teng X., & Li S. (2019). Selenium deficiency affects immune function by influencing selenoprotein and cytokine expression in chicken spleen. *Biological trace element research*, 187(2), 506-516.

25. Tsekhmistrenko O.S., Bityutsky, V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchyshyn, V.M., Tymoshok N.O., Demchenko O.A., & Spivak, M.Ya. (2021). Determination of toxicity of selenium nanocompounds. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 7, 157–162.

26. Tymoshok N.O., Kharchuk M.S., Kaplunenko V.G., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I., Tsekhmistrenko O.S., Spivak M.Y., Melnichenko O.M. Evaluation of effects of selenium nanoparticles on *Bacillus subtilis*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. – 10(4). – P. 544–552.