

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 **Біотехнологічний потенціал лактобактерій у косметичних засобах**

Виконав: студент 2 курсу, групи МгБТ-20
спеціальності 162 Біотехнології та
біоінженерія освітньої програми
Біотехнологія високомолекулярних сполук
Тетяна БОЙКО

Керівник к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА

Рецензент доцент кафедри біотехнології,
шкіри та хутра, к.т.н. Леся МАЙСТРЕНКО

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****Бойко Тетяні Олександрівні**

1. Тема роботи: **Біотехнологічний потенціал лактобактерій у косметичних засобах**
науковий керівник роботи к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА
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 використання пробіотичних мікроорганізмів, характеристики косметичних засобів на основі Lactobacillus, використання пробіотиків у косметичних кремахі; технологічна схема біосинтезу Lactobacillus; технологічна схема виготовлення крему з пробіотиком; матеріали наукової конференції.
4. Зміст дипломної роботи: огляд літератури; технологічна частина; контроль якості; 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>Ірина ВОЛОШИНА доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	04.10.2021	30.10.2021
Розділ 2	<i>Ірина ВОЛОШИНА доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	04.10.2021	20.11.2021
Розділ 3	<i>Ірина ВОЛОШИНА доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра</i>	04.10.2021	01.12.2021

6. Дата видачі завдання 04.10.2021 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	2	3	4
1	Вступ	16.10.2021	
2	Розділ 1 Огляд літератури	30.10.2021	
3	Розділ 2 Технологічна частина	10.11.2021	
4	Розділ 3 Контроль якості	20.11.2021	
5	Висновки	22.11.2021	
6	Оформлення дипломної магістерської роботи	25.11.2021	
7	Подання 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 _____

Тетяна БОЙКО

Науковий керівник роботи _____

Ірина ВОЛОШИНА

Директор НМЦУПФ _____

Олена ГРИРОРЕВСЬКА

АНОТАЦІЯ

Бойко Т.О. Біотехнологічний потенціал лактобактерій у косметичних засобах – Рукопис.

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

Дипломну магістерську роботу присвячено вивченню біотехнологічного потенціалу бактерій роду *Lactobacillus*, їх використання у косметичній промисловості, а саме використання у косметичних кремах.

У дипломній роботі обґрунтовано технологію біосинтезу пробіотичного мікроорганізму *Lactobacillus*. Представлено технологічну схему виробництва косметичного крему, що включає стадії вирощування і виділення культури та одержання біомаси бактерій роду *Lactobacillus*. Обґрунтування вибору проведення біосинтезу біомаси лактобактерій та вибору ферментера для для напрацювання біомаси лактобактерій

Дипломна робота включає метод отримання біомаси лактобактерій, блок схему виготовлення косметичних засобів на основі бактерій роду *Lactobacillus* та методики контролю стадій його виробництва.

Ключові слова: *Lactobacillus*, молочна кислота, косметичний засіб, біосинтез, контроль якості.

ABSTRACT

Boyko T.O. Biotechnological potential of lactobacilli in cosmetics - Manuscript.

Master's thesis in specialty 162 - Biotechnology and Bioengineering. - Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2021

The master's thesis is devoted to the study of the biotechnological potential of bacteria of the genus *Lactobacillus*, their use in the cosmetics industry, namely the use in cosmetic creams.

The thesis of biosynthesis of probiotic microorganism *Lactobacillus* is substantiated in the diploma work. The technological scheme of cosmetic cream production is presented, which includes the stages of growing and isolating the culture and obtaining the biomass of bacteria of the genus *Lactobacillus*. Rationale for the choice of lactobacilli biomass biosynthesis and the choice of fermenter for lactobacilli biomass

Thesis includes a method of obtaining biomass of lactobacilli, a block diagram of the manufacture of cosmetics based on bacteria of the genus *Lactobacillus* and methods of controlling the stages of its production.

Key words: Lactobacillus, lactic acid, cosmetic, biosynthesis, quality control.

ЗМІСТ

ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1 Характеристика косметичних кремів з пробіотичними мікроорганізмами	11
1.2 Косметичні засоби, що отримують за допомогою лактобактерій.....	13
1.3 Властивості лактобактерій	14
1.3.1 Антагоністичні властивості лактобактерій	15
1.3.2 Імуномодулюючі властивості лактобактерій	16
1.3.3 Антиоксидантні властивості лактобактерій	18
1.4 Класифікація косметичних кремів	19
Висновок до розділу 1.	22
РОЗДІЛ 2 ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА	23
2.1 Характеристика косметичного крему	23
2.2 Характеристика біологічного агенту <i>Lactobacillus</i>	23
2.2.1 Таксономічний статус <i>Lactobacillus</i>	24
2.2.2 Морфолого-культуральні властивості <i>Lactobacillus</i>	24
2.2.3 Фізіолого-біохімічні властивості <i>Lactobacillus</i>	28
2.3 Обґрунтування вибору основних технологічних складових	32
2.3.1 Виділення і ідентифікація бактерій роду <i>Lactobacillus</i>	32
2.3.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу отримання біомаси лактобактерій	36
2.3.3 Обґрунтування вибору ферментера для отримання біомаси лактобактерій..	40
2.3.4 Обґрунтування вибору косметичного крему.....	46
2.4 Поетапно наведена блок-схема отримання біомаси лактобактерій.....	49
2.5 Опис технологічної схеми отримання біомаси лактобактерій	50
2.6 Поетапно наведена блок-схема отримання косметичного крему	52
2.7 Опис технологічної схеми отримання косметичного крему	53
Висновок до розділу 2	53

РОЗДІЛ 3 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ.....	54
3.1 Методики контролю на стадії біосинтезу.....	54
3.2 Методики контролю готового косметичного крему.....	57
3.3 Екологічна складова.....	64
Висновок до розділу 3	65
ВИСНОВКИ	66
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	67
ДОДАТКИ.....	73

ВСТУП

Актуальність теми дослідження. Догляд за шкірою не настільки простий процес, як здається на перший погляд, особливо це стосується проблемної шкіри. Доволі складно, наразі, підібрати щоденний догляд за шкірою обличчя, що не нашкодить їй. Більшість косметичних засобів створюється на основі штучно-синтезованих речовин, що включають велику кількість консервантів та хімічних сполук.

Використання пробіотиків у косметичній промисловості доволі нове поняття, проте вже встигло спричинити переворот у особистому догляді за шкірою. Пробиотики – мікроорганізми, що мають позитивний вплив на здоров'я людського організму в цілому і на шкіру зокрема. Наша шкіра страждає від шкідливого впливу навколишнього середовища (мікроорганізмів, бруду, ультрафіолетового випромінювання та багатьох інших факторів).

Практичне значення. Світові лідери з виробництва косметичних засобів, такі як Estee Lauder, Clinique та Л'Ореаль вже застосовують технології виготовлення кремів з використанням пробіотиків. Така косметика потребує особливих умов виробництва та зберігання, її вартість доволі висока, тому вона одразу стає преміум сегментом на ринку. Терміни придатності такої косметики не великі, через використання біологічних агентів та особливі умови їх зберігання.

Наукова новизна. Використання пробіотичних мікроорганізмів як компоненту косметичних емульсійних кремів за доглядом за шкірою обличчя, оскільки вони мають низку корисних властивостей, а саме: зміцнюють захисний бар'єр шкіри, врівноважуючи мікробіологічний баланс шкіри, виконують функцію зволоження, знижують рН та знижують чутливість та активність сальних залоз. Найкращі властивості у догляді за обличчям мають бактерії роду *Lactobacillus*. Креми з пробіотиками підходять для всіх типів шкіри, навіть для чутливої та здатні лікувати дерматологічні захворювання.

Мета дослідження полягає у визначенні біотехнологічного потенціалу використання лактобацил в косметичній промисловості.

Завданнями дослідження є:

- здійснити огляд літературних джерел;
- виконати технологічну частину;
- визначити методики проведення контролю якості на етапі біосинтезу пробіотичного мікроорганізму та готового крему.

Об'єкт дослідження – біотехнологічний потенціал лактобацил

Предмет дослідження – визначення біотехнологічного потенціалу лактобацил у косметичній промисловості.

Апробацію наукових результатів проведено через їх оприлюднення на двох конференціях міжнародного рівня: Міжнародній науково-практичній інтернет конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії», що відбулась у Харківському Національному фармацевтичному університеті 11-12 листопада 2021 р. (Додаток А, Б), Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю Київського національного університету технологій та дизайну та кафедри біотехнології, шкіри та хутра «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія» (14-15 травня 2020 р., м. Київ, КНУТД) (Додаток В), VIII Міжнародній науково-практичній онлайн конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» (15 листопада 2019 року, м. Київ). Також частина роботи була представлена у колективній монографії Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія за заг. ред. О.Р. Мокроусової. Київ: Світ Успіху, 2020.

Публікації. Результати досліджень опубліковано у статті за матеріалами міжнародної конференції.

Бібліографія опублікованої роботи:

1. Волошина І.М., **Бойко Т.О.**, Матвієнко В.В. Косметичні засоби з наночастками металів // 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. 264-265.

2. Волошина И.Н., Красинько В.О., **Бойко Т.А.**, Лыч И.В., Шкотова Л.В. Бактериоцины синтезируемые лактобактериями // Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю Київського національного університету технологій та дизайну та кафедри біотехнології, шкіри та хутра «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія» (14-15 травня 2020 р., м. Київ, КНУТД) – с. 40.

3. **Бойко Т.О.**, Драгунов Є.П., Грецкий І.О., Жолобак Н.М. Дослідження впливу сполук церію в умовах електромагнітного випромінювання на виживаність дріждів *Saccharomyces cerevisiae* // Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю Київського національного університету технологій та дизайну та кафедри біотехнології, шкіри та хутра «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія» (14-15 травня 2020 р., м. Київ, КНУТД) – с. 66.

4. Волошина И.Н., Красинько В.О., **Бойко Т.О.**, Лыч И.В., Шкотова Л.В. Бактериоцины синтезируемые *Lactobacillus*. Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія: колективна монографія / за заг. ред. О.Р. Мокроусової. Київ: Світ Успіху, 2020. С.158-177.

5. Волошина И.Н., Шидловская О.А., **Бойко Т.А.** Использование *Saccharomyces* в животноводстве Біотехнологія: звершення та надії: збірник тез VIII Міжнародної науково-практичної онлайн конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (15 листопада 2019 року, м. Київ). – с. 123-124.

Основна частина дипломної магістерської інженерної (теоретично-аналітичної) роботи викладена на 63 сторінках і включає: вступ, три основні розділи, висновки. В роботі представлено список використаних джерел та додатки. Список використаних джерел налічує 52 найменування. Один додаток, що ілюструє виконання індивідуального плану магістра, представлено на 36 сторінках.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика косметичних кремів з пробіотичними мікроорганізмами

Пробіотики – це живі мікроорганізми, що позитивно впливають на здоров'я людини, нормалізують склад і функції мікрофлори шлунково-кишкового тракту. Щоденне споживання цих мікроорганізмів в якості харчової добавки може позитивно відбитися на стані здоров'я. Наразі доведено, що пробіотики можуть бути корисними не тільки для шлунково-кишкового тракту, а й мікрофлори інших органів, в тому числі корисні і для шкіри.

Використання пробіотиків у косметичній промисловості достатньо нове, проте вже встигло спричинити революцію в догляді за шкірою обличчя завдяки своїм позитивним особливостям, що сприяють зміцненню захисного бар'єру шкіри, врівноважуючи мікробіологічний баланс (захисний бар'єр шкіри) і даруючи шкірі довготривалу красу та сяйво. Сучасний стиль життя і забруднення навколишнього середовища негативно впливають на мікробіом шкіри, порушуючи його баланс. В результаті природний бар'єр перестає виконувати свою функцію, що тягне за собою виникнення акне, алергій та інших шкірних захворювань. Косметика, в складі якої є пробіотики, є найбільш ефективним засобом відновлення балансу мікробіому шкіри[48].

Пробіотики насичують шкіру вітамінами, вуглеводами, білками і корисними елементами. Здатні за короткий проміжок часу прибрати зморшки (ліфтинг) і вивести токсини. Цей компонент має протизапальну дію, загоює рубці при дерматологічних захворюваннях (акне), зменшує почервоніння, відновлює і підвищує захисні механізми.

Косметика з пробіотиками – це, фактично, альтернативна косметика, побудована на принципах холістичного підходу до догляду за шкірою. Замість антибактеріальних компонентів, які не вирішують проблем мікробного дисбалансу, вона використовує чисто біологічний підхід до нормалізації функцій шкіри, відновлення та підтримки її природного захисту. Все це робить її

надзвичайно м'якою та застосовною при будь-яких типах шкіри, аж до самої чутливої, в тому числі й для шкіри маленьких дітей. Завдяки таким унікальним властивостям перспективи використання пробіотиків у косметичних засобах величезні, й вони ще не раз заявлять про себе.

Використання косметичних засобів на основі пробіотичних мікроорганізмів – досить молодий напрямок в косметології. Виробники, які спеціалізуються на таких засобах використовують різні штами бактерій. Їх головний принцип не виготовляти косметичні засоби із традиційних складових, а саме, консервантів і спиртів, що значно знижують ефект який дають мікроорганізми. Виробництво таких засобів в першу чергу веде до збільшення собівартості продукту, але дієвість їх набагато більша за звичні нам косметичні засоби на основі консервантів.

Завдяки косметиці з вмістом пробіотиків:

- шкіра отримує додатковий заряд мікроелементів
- посилюються захисні функції по боротьбі з негативним впливом зовнішнього середовища
- забезпечується глибоке зволоження шкірного покриву
- відновлюється необхідний баланс мікробіому
- вирівнюється рельєф і тон, додаючи шкірі матовість

Дана косметика немає протипоказань, окрім індивідуального несприйняття. Однак тестування продукту, щоб визначити реакцію шкіри, ніхто не відміняв. Застосовувати таку косметику найкраще в сироватках, кремах і масках, тобто в тому що найдовше контактує зі шкірою. А от щоденні очисні засоби з пробіотиками не так ефективні, так як відразу змиваються водою, не дозволяючи шкірі насититися корисними мікроорганізмами. Поєднувати засоби з вмістом пробіотиків з іншою косметикою потрібно дуже обережно, так як не всі компоненти товаришують з корисними бактеріями і дають їм працювати. Традиційно ефект від застосування такої косметики йде за накопичувальною дією і буде помітний за 1-3 місяці в залежності від віку.

Пробіотики – це досить примхливий компонент. Перед тим, як бактерія буде додана в косметичний засіб, її потрібно помістити в одноразову ємність на мінімальний термін (у середньому один день). Таке обмеження в часі позначається на якості б'юті-продуктів. Бренди випускають сироватки, маски, креми і флюїди. Також основний ефект залежатиме від концентрації діючого пробіотика у косметичному засобі.

1.2 Косметичні засоби, що отримують за допомогою лактобактерій

Сьогодні провідні світові компанії з виготовлення косметичних засобів випустили цілі серії пробіотичних засобів по догляду за шкірою та волоссям. У зв'язку з чутливістю живої мікрофлори до ряду компонентів косметичних засобів, що забезпечують їх тривале збереження, ці продукти не містять живі бактерії, а тільки структурні компоненти клітин і мікробні метаболіти.

Пробіотичні бактерії можуть поліпшити загальний стан шкіри за рахунок збереження або відновлення нормальної роботи сальних залоз, нормалізувати імунну відповідь, попереджаючи розвиток запальних реакцій, вугрового висипання, екземи, себореї, алергічних проявів. Корисні бактерії пригнічують шкідливу мікрофлору за рахунок продукції протимікробних сполук і нормалізації кислотності шкіри, допомагають зняти запалення, надають заспокійливий ефект, зменшують вираженість роздратування в чутливій шкірі, зволожують її, захищають від ультрафіолетового випромінювання[52].

Ще у 2014-му біотехнологічна компанія АОVіome створила лінійку засобів з гарними бактеріями: передбачалося, що вони й допомагають побороти так званий запах тіла, а також прибрати недосконалість шкіри.

Ймовірно, під цими мікроорганізмами мався на увазі різновид пробіотиків, створений засновником компанії Девідом Вітлоком. Він стверджував, що запах з'являється у результаті розмноження грампозитивних бактерій на зразок *Staphylococcus hominis*. Вони живляться солями, що містяться у поті, і у результаті даного процесу людина починає дивно пахнути.

Пробіотики ж покликані боротися з грампозитивними бактеріями, завдяки чому зникає неприємний запах. Хоча вплив мікроорганізмів на стан шкіри (особливо у пахвовій зоні) досі вивчається, – косметологи дійшли висновку, що їх можна використовувати у виробництві дезодорантів.

Косметика ESSE містить в своєму складі містить пробіотики, які добре впливають на стан шкіри завдяки підтримці життєдіяльності корисних бактерій і підвищенню їхньої популяції. Унікальний склад косметичних засобів із пробіотичними мікроорганізмами дозволяє досягти наступних результатів:

- захистити шкіру, підвищити місцевий імунітет, усунути запальний процес;
- наситити клітини вологою завдяки стимулюванню синтезу власної гіалуронової кислоти та інших зволожуючих речовин;
- підтримати оптимальний рН шкіри за рахунок синтезу антибактеріальних пептидів;
- уповільнити процес старіння тканин.

1.3 Властивості лактобактерій

Протягом ряду років існувало декілька трактувань терміну «пробіотик». Уперше використали цей термін для позначення метаболітів, що продукують одні мікроорганізми для стимуляції росту інших [1]. Fuller трактує поняття «пробіотики» як живі мікроорганізми, що при уведенні в організм хазяїна спричиняють добрий ефект за рахунок корекції кишкової мікрофлори. Parkeг термін «пробіотики» запропонував для позначення природних ад'ювантів – живих мікроорганізмів, уведення яких до організму сприяє підтриманню та відновленню біологічного балансу його нормофлори та справляє на нього позитивну дію [1; 2]. Gibson і Robefroid [3] називають пробіотиками живі мікроорганізми, що повинні бути присутніми у досить великій кількості, залишатися стабільними та життєздатними як при збереженні, так і після уведення до організму; повинні адаптуватися в організмі хазяїна та впливати на його здоров'я.

Більшість пробіотиків-бактерій відноситься до двох родів: лактобактерій (лат. *Lactobacillus*) і біфідобактерій (лат. *Bifidobacterium*) кожна з яких включає безліч видів і штамів, а також багато інших видів бактерій-пробіотиків (непатогенні різновиди *Escherichia coli*, непатогенні різновиди *Bacillus* (*Bacillus subtilis*), непатогенні різновиди *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus salivarius*), молочнокислий стрептокок *Streptococcus thermophilus*, дріжджеві гриби *Saccharomyces boulardii*). Кожен рід бактерій містить значну кількість видів, в кожного виду є різноманітні штами[49].

Типовими представниками біфідобактерій є:

- *Bifidobacterium breve*
- *Bifidobacterium bifidum*
- *Bifidobacterium adolescentis*
- *Bifidobacterium longum*

До лактобацил відносяться:

- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus lactis*
- *Lactobacillus gassed*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus fermentum*
- *Lactobacillus jonsonii*

1.3.1 Антагоністичні властивості лактобактерій

В останні роки вчені все більше приділяють уваги антагоністичній активності молочнокислих бактерій. Антагоністична активність лактобактерій зумовлена дією неспецифічних та специфічних речовин. Деякі штами лактобактерій володіють широким спектром антимікробної дії та проявляють антагоністичну активність у відношенні патогенних мікроорганізмів. Бактерії *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. salivarius*, *L. curvatus*, *L. acidophilus*

продукують молочну кислоту, ферменти, лізоцим, антимікробні речовини білкової природи (нізин і лактоцидін, диплококцин, ацидолін, лактобацилін, болгарин, ацидофілін), біосурфактанти (нейтральні ліпіди, фосфоліпіди та гліколіпіди) [9].

Перекис водню здійснює пригнічувальний ефект на стафілококи, псевдомонади, ешеріхії, сальмонели, зумовлений окиснювальною дією на бактеріальні клітини і руйнуванням молекулярної структури клітинних білків [10,11,12]. Синтез лактобактеріями бактеріоцинів полегшує виживання штамів-продуцентів в умовах змішаних популяцій [13]. Спектр сполук з антибактеріальною активністю залежить від виду та штаму мікроорганізму та умов культивування. Переважно лактобактерії з антибіотичною активністю активно продукують органічні кислоти [14].

Молочнокислі бактерії продукують також біологічно активні речовини, що стимулюють ріст рослин: амінокислоти, вітаміни, ауксини, гібереліни [15,16].

Для підвищення антагоністичної активності молочно-кислих бактерій використовують різні мутагенні фактори – ультрафіолетове випромінювання, хімічні агенти: етиловий ефір, уретан, етиленіміни. Було досліджено, що під дією цих факторів антибіотичні властивості значно підсилюються.

1.3.2 Імуномодулюючі властивості лактобактерій

Дані літературних джерел свідчать, що імуномодулювальні властивості окремих культур лактобактерій суттєво відрізняються між собою, це є їх індивідуальною характеристикою. Останніми роками особливу увагу спрямовано на вивчення механізмів модулювального впливу лактобактерій на імунні реакції організму. Асоційовані зі слизовою оболонкою кишечника лактобактерії мають універсальні імуномодулювальні властивості, що включають як імуностимуляцію, так і імуносупресію. Стимуляційні ефекти лактобактерій проявляються в механізмах активації ретикуло-ендотеліальної системи шлунковокишкового тракту та продукції низки цитокінів, що забезпечують баланс між гуморальним та клітинно-опосередкованим імунітетом. Найважливішим механізмом взаємодії

лактобактерій та взагалі представників облигатної мікрофлори з організмом хазяїна, що спрямовано на підтримку гомеостазу, є стимуляція продукції низки цитокінів.

Кишкова мікрофлора та імунна система органів травлення – єдиний потужний периферичний комплекс імунного захисту, який прямо чи опосередковано впливає на імунофізіологічний стан цілого організму. Актуальність фармакологічної корекції імунодефіцитів зумовлена, у першу чергу, широким їх розповсюдженням, а також тим, що вони є причиною розладів функцій інших систем організму.

За призначенням пробіотики можна класифікувати: 1) для забезпечення функціонального харчування – ФПХ; 2) для терапії та 3) відновлення мікробіоценозу після тривалого застосування антимікробних засобів; 3) для терапії у разі захворювань бактеріальної і вірусної етіології; 4) для імунокорекції під час запальних захворювань – імунобіотики.

Біологічні ефекти пробіотичних мікроорганізмів є штамоспецифічними. Залежно від типу, виду, штаму пробіотичні бактерії можуть справляти імуностимулювальну, імунодевіаторну (біполярну) та імунорегуляторну/супресивну дію.

Імуномодулювальні ефекти пробіотичних бактерій реалізуються через клітиноасоційовані механізми і продукуванням біологічно активних субстанцій з імунорегуляторними властивостями [17-20].

Модуляція імунологічної реактивності – один із важливих механізмів дії пробіотичних мікроорганізмів, що може бути покладений в основу диференційованого застосування пробіотичних засобів з метою профілактики і лікування захворювань. Стратегія ефективного застосування імуномодулювальної дії пробіотиків містить три складових: знання складу і функцій мікрофлори різних біотопів з урахуванням енетротипу, вікових та індивідуальних особливостей, причин та характеру дисбіозів; оцінювання стану системної і локальної імунологічної реактивності, патологічних процесів, циркадної динаміки; аналіз і врахування механізмів дії пробіотичного (-их) мікроорганізму (-ів). Комплексна

оцінка усіх складових дає змогу визначити характер необхідної імуномодуляції, склад пробіотиків і ФПХ та особливості їх застосування.

1.3.3 Антиоксидантні властивості лактобактерій

Виявлено, що бактерії роду *Lactobacillus* можуть захищати організм від впливу вільних радикалів, оскільки вони здатні реалізувати антиоксидантну дію [21]. Активні форми кисню, які утворюються в організмі, можуть викликати пошкодження білків, мутації в ДНК, окиснення мембранних фосфоліпідів і модифікацію ліпопротеїдів низької щільності. Це може призвести до надмірної кількості вільних радикалів і пошкодження клітин, наслідком чого є розвиток атеросклерозу, артриту, діабету, нейродегенеративних захворювань, серцево-судинних захворювань і раку [22].

Окисний стрес визначається як дисбаланс між високим вмістом активних форм кисню та низькою активністю механізмів антиоксидантного захисту [23]. Якщо вміст активних форм кисню перевищує нейтралізуючу здатність ендогенних акцепторів, білків, нуклеїнових кислот, тощо, то відбувається пошкодження клітин під дією окисних процесів. Тому для запобігання негативних наслідків окисативного стресу дуже важливим є додатковий захист організму за допомогою введення різних антиоксидантних речовин. Літературні дані свідчать про те, що пробіотики на основі бактерій роду *Lactobacillus* проявляють антиоксидантну дію на організм. Антиоксидантні властивості різних видів і штамів *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. rhamnosus*) були вивчені з використанням різних методів *in vitro* та *in vivo* та показано, що бактерії роду *Lactobacillus* синтезують ряд ферментів з антиоксидантними властивостями, а саме: глутатіонпероксидазу, глутатіонтрансферазу, хінонредуктазу, УДФ-глюкорозилтрансферазу, α - і β -глюкозидазу, а також супероксид дисмутазу [23, 24]. Виявлено, що бактерії роду *Lactobacillus* можуть захищати організм від впливу вільних радикалів, оскільки вони здатні реалізувати антиоксидантну дію [21]. Активні форми кисню, які утворюються в організмі, можуть викликати пошкодження білків, мутації в ДНК, окиснення мембранних

фосфоліпідів і модифікацію ліпопротеїдів низької щільності. Це може призвести до надмірної кількості вільних радикалів і пошкодження клітин, наслідком чого є розвиток атеросклерозу, артрити, діабету, нейродегенеративних захворювань, серцево-судинних захворювань і раку [22]. Окисний стрес визначається як дисбаланс між високим вмістом активних форм кисню та низькою активністю механізмів антиоксидантного захисту [23]. Якщо вміст активних форм кисню перевищує нейтралізуючу здатність ендogenous акцепторів, білків, нуклеїнових кислот, тощо, то відбувається пошкодження клітин під дією окисних процесів. Тому для запобігання негативних наслідків оксидативного стресу дуже важливим є додатковий захист організму за допомогою введення різних антиоксидантних речовин. Літературні дані свідчать про те, що пробіотики на основі бактерій роду *Lactobacillus* проявляють антиоксидантну дію на організм. Антиоксидантні властивості різних видів і штамів *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. rhamnosus*) були вивчені з використанням різних методів *in vitro* та *in vivo* та показано, що бактерії роду *Lactobacillus* синтезують ряд ферментів з антиоксидантними властивостями, а саме: глутатіонпероксидазу, глутатіонтрансферазу, хінонредуктазу, УДФ-глюкоронозилтрансферазу, α - і β -глюкозидазу, а також супероксид дисмутазу [25].

1.4 Класифікація косметичних кремів

Сучасні креми класифікуються:

1) За складом:

- жирові (кремоподібний стан яких забезпечується комплексом жирів і жироподібних речовин);
- емульсійні (кремоподібний стан визначається наявністю і співвідношенням жирів і води);
- суспензійний (кремоподібний стан забезпечується консистенцією дисперсійного середовища і концентрацією твердої дисперсної фази);

- комбіновані (суспензійні креми в яких як дисперсійне середовище використовуються емульсії);

- безжирові (креми, що не містять у своїй сполуці жирів і жироподібних речовин).

2) За призначенням:

- гігієнічні (у т.ч. креми спеціального призначення);
- лікувально-профілактичні;
- декоративні.

3) За консистенцією:

- рідкі;
- власне креми;
- густі.

Емульсійні системи складають основу більшості форм косметичної продукції – кремів, лосьонів, аерозолей (мусів), бальзамів, декоративної косметики і т.д. , Отже, найчисельнішою, найтиповішою і показовою у всіх відношеннях (фізіологічних, технологічних) є група емульсійних косметичних засобів у формі крему. Це пов'язано, з тим, що засоби по догляду за шкірою є традиційною косметичною продукцією, здатною задовольнити ряд споживчих вимог, а саме:

- вільно видавлюватися з туб чи виливатися з флакона (екструзія);
- легко наноситися, швидко всмоктуватися шкірою;
- мати цілеспрямований косметичний вплив на шкірні покриви;
- легко видалятися при необхідності з поверхні шкіри.

Виконання цих вимог забезпечують структурно-механічні параметри косметичних форм із пружно-в'язким дисперсійним середовищем.

Залежно від значень фізико-хімічних параметрів (в'язкості, пружності, текучості й ін. реологічних характеристик) емульсійні креми розрізняють за консистенцією: рідкі креми; власне креми; густі креми. Як рідкі так і густі креми можуть бути представлені емульсіями 1 і 2 роду, оскільки консистентні

властивості емульсій вода/олія і олія/вода регулюються за допомогою допоміжних речовин (емульгаторів, загущувачів і т.д.)[50].

З огляду на властивості емульсійних систем, здатність їхнього проникнення в шкіру, за ступенем впливу на структури шкіри емульсійні креми можна класифікувати на:

- креми поверхневої дії (епідермальні);
- креми трансдермальної дії.

До першої групи відносяться косметичні засоби , рівень впливу, яких обмежується зовнішнім шаром епідермісу і забезпечує:

- очищення шкіри;
- зволоження шкіри;
- захист від несприятливих атмосферних впливів, дії хімічних реагентів і т.д.

Друга група характеризується наявністю високоактивних біологічних добавок, здатних включатися в біохімічні процеси структур, шкіри, стимулюючи трофіку тканин, і впливати на життєдіяльність організму в цілому. Залежно від специфічної спрямованості дії креми цієї групи можна класифікувати на:

- стимулятори водно-сольового обміну;
- стимулятори ліпідного обміну;
- стимулятори білкового обміну і т.д.

Звичайно цю групу емульсійних називають «живильними» кремами. Однак, і ця класифікація відносна, оскільки сучасною тенденцією при розробці косметичних засобів є створення поліфункціональних високоактивних рецептур, здатних мати, комплексний вплив на структури шкіри Прикладом може служити косметичне молочко, яке містить гідратуючі, утримуючі і біокаталізуючі добавки; креми, що захищають від впливу Уф-променів з біоекстрактами; губні помади, тональні креми, фарби, ополоскувачі для волосся, що містять речовини, які зволожують шкіру.

За місцем застосування емульсійні креми можна поділити, як засоби по догляду:

- за шкірою;
- за волоссям.

У свою чергу, враховуючи анатомічні і фізіологічні особливості різних частин тіла (наприклад, відсутність підшкірної жирової клітковини в зоні шиї, навколо очей; інтенсивність секреції сальних і потових залоз в області чола, носа, волосистої частини голови), що визначають необхідність інтенсивного косметичного впливу а отже, вимог до складу, дерматологічних, косметичних, споживчих характеристик кремів (м'якші, «гіпоалергічні» засоби по догляду за областю навколо очей, шиї), засоби по догляду за шкірою класифікують на:

- Косметичні засоби по догляду за шкірою обличчя (60 % усього торгового обороту);
- Косметичні засоби по догляду за шкірою навколо очей;
- Косметичні засоби по догляду за шкірою шиї;
- Косметичні засоби по догляду за шкірою рук;
- Косметичні засоби по догляду за шкірою ніг.

Висновок до розділу 1.

Використання пробіотиків у косметичній промисловості здійснило переворот у догляді за шкірою обличчя. Пробіотики мають низку корисних властивостей, які позитивно впливають на мікробом шкіри. Найважливішими функціями є врівноваження мікробіологічного балансу, насичення шкіри вітамінами, вуглеводами, білками і корисними елементами, зменшення почервоніння і запалень шкіри, регуляція рельєфу і тону шкіри, глибоке зволоження. Дана косметика не має протипоказань окрім індивідуального несприйняття. Найкраще застосовувати таку косметику у вигляді крему, тобто в тому вигляді, що найдовше контактує зі шкірою.

Найбільше переваг мають емульсійні креми, вони складають основу більшості форм косметичної продукції. Їх виробництво має ряд переваг, та відносну простоту виготовлення.

РОЗДІЛ 2

ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

2.1 Характеристика косметичного крему

Відповідно до Державного стандарту України 2472-94 Продукція парфумерно-косметичної промисловості «Терміни і визначення» косметичний крем – це засіб по догляду за обличчям та тілом у вигляді мазеподібної маси з додаванням активнодіючих речовин [27].

Найбільш поширеною формою є емульсії. Емульсії – це однорідні за зовнішнім виглядом системи, які складаються з двох практично взаємно нерозчинних рідин, одна з яких при цьому знаходиться в диспергованому вигляді, а інша являє собою суцільне середовище з розподіленими в ній частинками першої рідини [28-29].

Обраний пробіотик володіє наступними перевагами:

- 100% натуральний інгредієнт;
- для різних стандартних й органічних косметичних засобів;
- ефективна в боротьбі з акне;
- відзначається антимікробною та протигрибковою активністю;
- стабілізує бар'єрну функцію шкіри;
- зволожує та живить шкіру;
- має плівкоутворювальні властивості [34-35].

2.2 Характеристика біологічного агенту *Lactobacillus*

Лактобацили (лат. *Lactobacillus*) - рід грампозитивних анаеробних неспороутворюючих молочнокислих бактерій.

У вітчизняних працях з технічної мікробіології замість родової назви лактобацили (*Lactobacillus*) можна зустріти визначення лактобактерії (*Lactobacterium*), що вперше використаний Н.А. Красильниковим для позначення бактерій цієї групи в «Визначнику бактерій і актиноміцетів» (1949 р.). Проте, оскільки бактерії цієї групи спор не утворюють, то правильніше називати

їх бактеріями, а не бацилами, але Міжнародним комітетом по номенклатурі бактерій в 1971 році прийнято назву *Lactobacillus*.

Лактобактерії зазвичай мають правильну форму довгої «палички», іноді кокковидної, розташовуються в коротких ланцюжках або поодинокі. У процесі свого нормального метаболізму лактобактерії здатні утворювати молочну кислоту, перекис водню, продукувати лізоцим і речовини з антибіотичною активністю. Вони звичайні і звичайно непатогенні.

2.2.1 Таксономічний статус *Lactobacillus*

Рід *Lactobacillus* належить до відділу *Firmicutes*, класу *Bacilli*, ряду *Lactobacillales*, родини *Lactobacillaceae*. Питання номенклатури і таксономії бактерій роду *Lactobacillus* до теперішнього часу остаточно не вирішені і переглядаються. В даний час рід об'єднує понад 100 видів і представляє найбільшу групу в порядку *Lactobacillales* [4]. Ряд видів включає два і більше підвидів.

Домен: *Bacteria*

Відділ: *Firmicutes*

Клас: *Bacilli*

Ряд: *Lactobacillales*

Родина: *Lactobacillaceae*

Рід: *Lactobacillus*

2.2.2 Морфолого-культуральні властивості *Lactobacillus*

Всередині роду *Lactobacillus* зустрічаються бактерії з різною морфологією. Більшість представників роду мають форму прямих паличок із закругленими кінцями, зібраних в ланцюжки різної довжини, або розташовані поодинокі чи попарно (рис.2.1). Серед лактобацил зустрічаються короткі кокковидні і покручені форми, а також довгі, ниткоподібні палички довжиною від 0,7-1,1мкм до 3,0-8,0 мкм, розташовані поодинокі або зібрані в ланцюжки. Так, вигнута форма клітин властива *L. curvatus* (рис. 2.2); у *L. coryniformis* клітини мають форму вигнутих

грушовидних паличок. Довжина паличок і величина вигину зазвичай залежать від умов зростання: складу поживного середовища, температурного режиму, аерації, а також віку культури. У деяких видів (наприклад, *L. fermentum*, *L. brevis*) культура завжди представлена сумішшю коротких і довгих паличок.

Лактобацили не утворюють ендоспори. За Грамом забарвлюються позитивно (рис. 2.1), 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. Для деяких видів, наприклад, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* і *L. delbrueckii subsp. lactis*, характерна наявність включень зерен волютину (метахроматину, поліфосфатних гранул).

Більшість лактобацил нерухомі. Рухливість спостерігається лише у представників деяких видів (а саме: *L. agilis*, *L. aquaticus*, *L. capillatus*, *L. ghanensis*, *L. mali*, *L. nagelii*, *L. oeni*, *L. ruminis*, *L. satsumensis*, *L. sucicola*, *L. ivarum*, *L. Vini* [5]), при цьому вони пересуваються за допомогою перитрихіальних джгутиків (Рис 2.3). Цікаво відзначити, що переміщатися можуть не тільки окремі клітини, але і ланцюжки з 2-5 клітин. Рухливість в значній мірі залежить від поживного середовища і віку культури; часто вона проявляється тільки при виділенні лактобацил і втрачається після декількох пересівань.

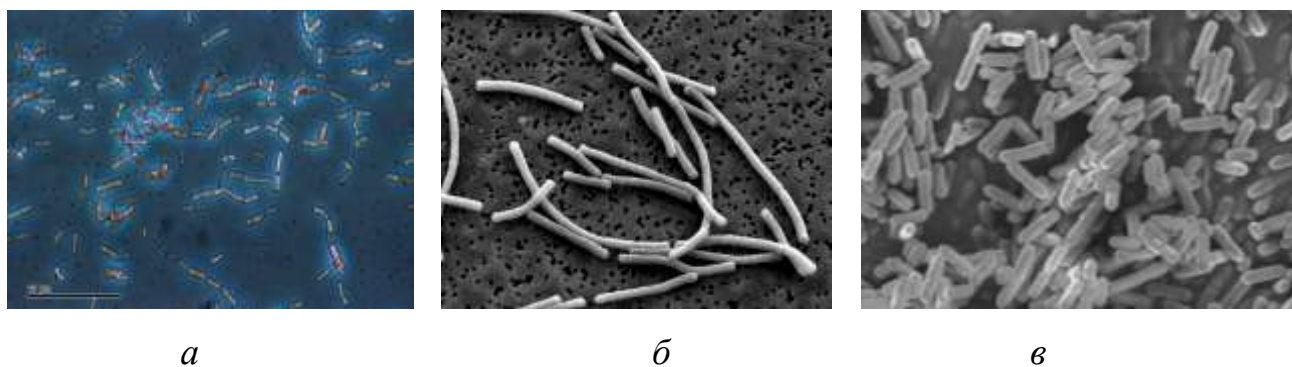


Рис. 2.1 Скануюча електронна мікроскопія клітин: а) *Lactobacillus acidophilus*, б) *Lactobacillus. Bulgaricus*, в) *Lactobacillus spicheri*

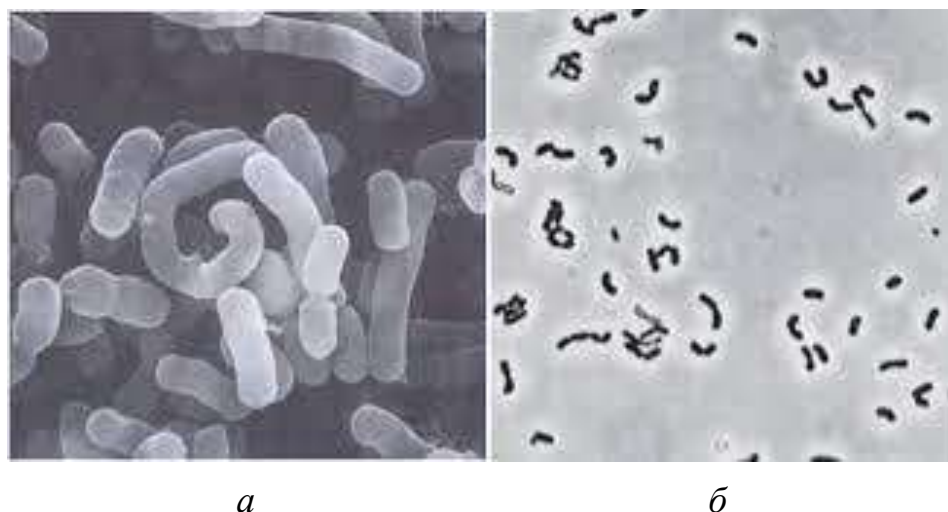


Рис. 2.2 Скануюча електронна (а) і світлова (б) мікроскопія клітин

Lactobacillus curvatus

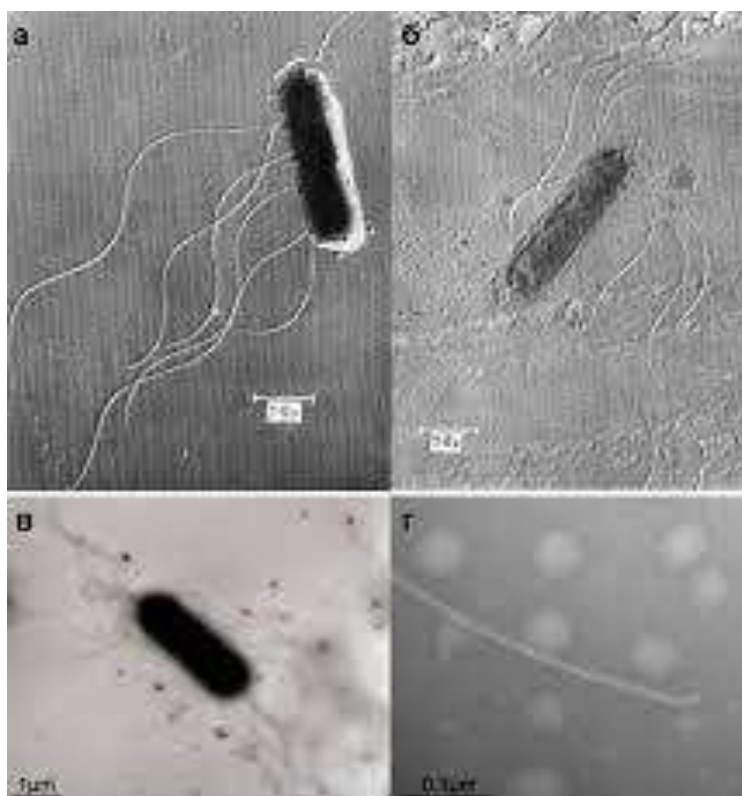


Рис. 2.3 Електронна мікроскопія джгутиків лактобацил. а, б – скануюча електронна мікроскопія рухомих лактобацил, в, г – трансмісійна електронна мікроскопія *L. ruminis*

Багато лактобацил утворюють екзополісахариди (ЕПС), які бувають двох видів: позаклітинні гомополісахариди позаклітинні гетеро полісахариди, іноді

EPS лактобацил представлені капсулою. Так, капсула діаметром 1.5-3 мкм виявлена у бактерій *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, виділених з йогурту і *L. kefiranofaciens*, виділених з кефіру зерна. завдяки здатності утворювати EPS *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* застосовуються у виробництві йогурту, вони забезпечують необхідну текстуру цього харчового продукту. EPS *L. kefiranofaciens* утворюють матрикс, званий «кефірний зерном», який служить своєрідною екологічною нішею для мікробного співжиття дріжджів і лактобацил [5].

На щільних поживних середовищах лактобацили формують сферичні, гладкі, непрозорі, іноді блискучі, опуклі, з рівними чіткими контурами колонії (рис.2.4). Зазвичай колонії дрібні, але у деяких видів їх розмір може перевищувати 4 мм в діаметрі. Колонії як правило, не пігментовані, білі або злегка кремового кольору, іноді - жовтуваті або червонуваті, деякі види утворюють шорсткі (rough) колонії. На середовищах з білками або ліпідами зони просвітління навколо колоній зазвичай не утворюються. Проте, більшість лактобацил мають слабку протеолітичну активність (за рахунок секретуючих і пов'язаних з клітинною стінкою протеаз і пептидаз) і слабку ліполітичну активність (завдяки внутрішньоклітинним ліпазам). Амілолітична активність на щільних середовищах з крохмалем виявляється тільки у деяких видів: *L. amylolyticus*, *L. amylophilus*, *L. amylovorus*, *L. fermentum*. Окремі види лактобацил (*L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. casei*) здатні утворювати позаклітинні нуклеази при вирощуванні на агарі, що містить ДНК або РНК [4].



Рис. 2.4 Колонії *L. plantarum* на агаризованому середовищі MRS

При глибинному посіві на тверде поживне середовище утворюються щільні колонії у вигляді правильних лінз (схожі на сочевицю), трикутної і неправильної форми або ніжні, що нагадують сніжинку або грудочку вати. Якщо в середовище було додана крейда, то навколо колоній внаслідок накопичення молочної кислоти утворюється зона розчинення крейди [6].

Хороший ріст спостерігається в напіврідкому поживному середовищі, що містить 0,15-0,75% агару. Невеликі концентрації агару забезпечують низький окислювально-відновний потенціал середовища і створюють сприятливі мікроаерофільні умови.

За характером росту в напіврідкої середовищі виділяють п'ять варіантів:

- ріст кульками;
- з поздовжньою смугастістю;
- придонний;
- поверхневий;
- рівномірне помутніння середовища.

При розвитку на рідких поживних середовищах лактобацили найчастіше викликають рівномірне помутніння, після припинення росту осідаючи у вигляді рівного гомогенного, рідше пластівчасті осаду, ніколи не утворюючи плівок на поверхні середовища.

2.2.3 Фізіолого-біохімічні властивості *Lactobacillus*

Lactobacillus надзвичайно різноманітні за своїми біохімічними і фізіологічними властивостями. Однак вони всі мають метаболізм бродильного типу, при цьому щонайменше половина вуглецю кінцевих продуктів бродіння припадає на лактат. Залежно від того, які продукти утворюються в результаті бродіння, молочнокислі бактерії прийнято поділяти на 2 групи: гомоферментативні і гетероферментативні [7].

Гомоферментативні види утворюють в результаті бродіння переважно молочну кислоту (85% і більше) і вкрай невелику кількість фумарової та

бурштинової летких кислот, етилового спирту і вуглекислого газу. Вони використовують шлях Ембдена-Меергофа-Парнаса (гліколіз) для утворення 2 молей лактату з кожного моля глюкози. При цьому синтезується 2 молекули АТФ. Оптична активність утвореного лактату відрізняється у різних видів і залежить від стереоспецифічності лактатдегідрогенази (ферменту, що каталізує відновлення пірувату до лактату), а також від того, чи містить клітина лактатрацемазу, що перетворює D-лактат в L-форму.

Гетероферментативні види утворюють з 1 моль глюкози крім 1 моль молочної кислоти, 1 моль етилового спирту (або оцтової кислоти) і 1 моль вуглекислого газу, використовуючи окислювальний пентозо-фосфатний шлях розщеплення глюкози. Енергетичний вихід становить 1 молекулу АТФ на 1 моль витраченої глюкози, проте деякі гетероферментативні види переводять ацетилфосфат частково або повністю в оцтову кислоту, що супроводжується утворенням ще однієї молекули АТФ.

На ферментативном рівні ключова відмінність між гомо- і гетероферментативних видами полягає в наявності у перших гідролітичних ферментів гліколізу (альдолази), а у других – фосфокетолази. Відповідно, гомоферментативні види не здатні зброджувати пентози.

Однак з цього правила є винятки. У *L. brevis* була виявлена здатність зброджувати фруктозу по гомоферментативного шляху за допомогою індукованої фруктозою альдолази. А у *L. acidophilus* виявлена фосфокетолаза і здатність рости на рибозі. Крім того, тип зброджування істотно залежить від субстрату. Факультативно гетероферментативні бактерії *L. plantarum*, *L. casei* зброджують глюкозу по гомоферментативному шляху, а рибозу перетворюють в ацетат і лактат гетероферментативним шляхом. Рибоза індукує у них синтез фосфокетолази [7]. Навіть якщо клітини, які виростили на середовищі з рибозою, відмити, вони будуть зброджувати глюкозу як гетероферментативні бактерії.

Цікаво відзначити, що здатність зброджувати пентози не гарантує ріст на середовищах, що містять ці вуглеводи, оскільки гексози необхідні для конструктивного метаболізму клітини (зокрема, синтезу пептидоглікану).

До затвердження філогенетичного підходу (заснованого на послідовності 16S рРНК) в якості основного в систематиці лактобацил, робилися спроби побудувати систематику на основі типу зброджування цукрів. Враховувалася також морфологія клітин, температурний інтервал (ріст при 15°C і 45°C), харчові потреби. На підставі цих ознак виділяли 3 фізіологічні групи: облігатно гомоферментативні лактобацили (*Thermobacterium*), факультативно гетероферментативні (*Streptobacterium*), облігатно гетероферментативні (*Betabacterium*) [4,6,7].

Якщо взяти до уваги відому варіабельність фізіологічних і біохімічних властивостей лактобацил, очевидні проблемні моменти цієї систематики. Проте, іноді її використовують і сьогодні.

Лактобацилли – хемоорганогетеротрофи. Дуже вимогливі до джерел живлення, потребують багатих складних середовищ. З вуглеводів вони переважно зброджують гексози (глюкозу, фруктозу, манозу, галактозу) і дисахариди (лактозу, мальтозу, сахарозу), і тільки гетероферментативні види, наприклад, деякі штами *L. plantarum*, зброджують пентози (рибозу, ксилозу, арабінозу). Лактоза – дисахарид, тому перш ніж вступити на шлях катаболізму, вона повинна бути розщеплена ферментом галактозидазою до глюкози і галактози. Галактоза потім фосфорилується з утворенням глюкозо-6-фосфату.

Крім вуглеводів, лактобактерії потребують для свого розвитку в різних факторів росту: амінокислот, вітамінів, нуклеотидів. Рибофлавін, пантотенова і нікотинова кислоти є найбільш необхідними для життєдіяльності більшості видів, тіамін необхідний переважно гетероферментативним лактобацилам, біотин і вітамін В12 - тільки для деяких штамів. Потребу в фолієвій кислоті, рибофлавіні, піридоксальфосфаті і параамінобензойній кислоті розрізняють у різних видів.

Іноді лактобацили називають «метаболічними інвалідами», оскільки вони втратили здатність до синтезу ряду метаболітів, ймовірно, внаслідок своєї спеціалізації (зростання в молоці та інших середовищах, багатих поживними і ростовими речовинами). 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 і нітритредуктазну активність і навіть утворювати цитохроми [7].

Майже всі лактобацили – мезофіли. Температурний оптимум розвитку лежить в межах 30-40°C. Верхньої температурної кордоном (максимумом) для них є 40 °С, проте зустрічаються термофільні види, які добре ростуть і мають активний метаболізм при температурі близько 45°C. Психрофільні види також зустрічаються. Температурний діапазон росту 2-53°C. Лактобактерії – факультативні анаероби, іноді мікроаерофіли. Хоча більшість штамів аеротолерантними, оптимальними для росту є анаеробні і мікроаерофільні умови. Лактобацили зазвичай слабо ростуть на повітрі, краще – при пониженому вмісті кисню. Підвищена концентрація вуглекислого газу ($\approx 5\%$) може стимулювати ріст; в строго аеробних умовах, як правило, ріст сповільнюється. Деякі види є строгими анаеробами.

Лактобацили не містять порфіринів, зокрема, гему, тому вони позбавлені таких гемопротеїнів, як цитохроми і каталаза. Незважаючи на це, для них характерні досить різноманітні механізми захисту від токсичної дії активних форм кисню (АФК):

- фермент супероксиддисмутаза, що каталізує реакцію дисмутації супероксидних радикалів з утворенням перекису водню і кисню;
- високі внутрішньоклітинні концентрації іонів Mn^{2+} , які здатні ефективно усувати супероксидні іони;
- псевдокаталаза (у *L. mali*);
- механізм прискорення гліколітичного розчеплення глюкози в аеробних умовах (в аеробних умовах водень з НАД-Н₂ прямо передається на O₂, звільняючи частину пірувату від його акцепторної функції в молочнокислом бродінні. Піруват окислюється до ацетил-КоА, подальше метаболізування якого до ацетату призводить до синтезу молекули АТФ).

Фізіологічною особливістю лактобацил є їх кислотостійкість. Для росту лактобацил найбільш сприятливі злегка підкислені середовища з початковим рН 5,4-6,4, причому ріст культури сповільнюється при досягненні рН 3,6-4,0 в залежності від виду та штаму. *L. suebicus*, *L. casei* і *L. plantarum* зберігають здатність до росту навіть при рН 2,8. У лужних і нейтральних середовищах ріст лактобацил як правило сповільнюється [8].

Пігменти утворюють дуже рідко, жовтого, оранжевого або червоного відтінку. Ще одна відмінна риса цієї групи мікроорганізмів – це їх спиртостійкість. Вони здатні розвиватися в поживних субстратах при високих концентраціях етилового спирту (18-24% об.). Відновлення нітрату для лактобацил не характерно, крім умов, коли кінцевий рН підтримується 6,0 і/ або гем міститься в середовищі. Желатин не розріджують. Казеїн не розщеплюється, але більшість штамів утворюють невеликі кількості розчинного азоту. Індол і сірководень не утворюють. Вміст гуаніну і цитозину в ДНК становить 32-55%.

2.3 Обґрунтування вибору основних технологічних складових

2.3.1 Виділення і ідентифікація бактерій роду *Lactobacillus*

Джерелами для виділення лактобацил служать силос і трави, харчові (особливо кисломолочні) продукти, фекалії. Для визначення присутності і обліку кількості лактобацил наважку досліджуваного матеріалу розводять у фізіологічному розчині і висівають в рідкі накопичувальні середовища або ж відразу на тверді середовища. Оскільки в природних субстратах лактобацили не завжди займають переважаюче становище, для їх виділення використовують елективні поживні середовища, що сприяють їх росту і пригнічують ріст супутньої мікрофлори. Таким чином, до видової ідентифікації лактобацил передуює спочатку отримання накопичувальної культури молочнокислих бактерій, а потім – виділення чистої культури мікроорганізмів на щільних поживних середовищах[51].

Накопичувальна культура – культура, в якій переважають представники однієї фізіологічної групи мікроорганізмів.

Чиста (аксенічна) культура – культура, яка містить мікроорганізми одного виду.

Перший етап: отримання накопичувальної культури

Спосіб отримання накопичувальної культури - використання елективних (синоніми: селективних, накопичувальних) поживних середовищ, тобто поживних середовищ, які сприяють зростанню мікроорганізмів певної групи (в даному випадку - молочнокислих бактерій), а для інших є несприятливими. Це середовища з слабо кислим рН (MRS) або містять етанол (№ 3 і № 6).

Посів на рідкі елективні середовища можна проводити безпосередньо з зразка, що містить лактобацили, або з змиву з нього. Другий варіант частіше використовують при виділенні лактобацил з рослинного матеріалу.

Другий етап: отримання чистої культури

Чисту культуру отримують за допомогою щільних поживних середовищ. На них необхідно отримати окремі колонії культур, які вважають результатом розвитку однієї клітини. Шляхом пересіву окремих колоній вдається виділити чисті культури.

Способи отримання окремих колоній на щільному живильному середовищі:

1) Послідовні розведення (в стерильній водопровідній воді або фізіологічному розчині) з таким розрахунком, щоб при посіві на живильне середовище вирости ізольовані колонії.

Для приготування розведень стерильну водопровідну воду розлити по 9 мл в стерильні пробірки. Стерильною піпеткою/дозатором перенести в першу пробірку 1 мл досліджуваної суспензії мікроорганізмів - це буде перше розведення (1:10). Поміняти наконечник дозатора і ретельно перемішати ним отримане перше розведення (кілька разів втягувати в нього і випускати суспензію клітин). Цим же накінецьником перенести 1 мл з першого розведення в другу пробірку - це буде друге розведення (1: 10²). Повторити ці дії необхідну кількість разів.

Висів на щільні середовища з пробірок з разведеннями можна проводити двома способами:

а) метод поверхневого посіву

Розплавлене і охолоджене до 45-50°C щільне поживне середовище розлити в стерильні чашки Петрі в такій кількості, щоб дно чашки було повністю покрито (15-20 мл). Чашку залишити на горизонтальній поверхні до тих пір, поки не застигне середовище. Для посіву відкрити кришку чашки Петрі і на поверхню щільного середовища нанести піпеткою/дозатором 100 мкл рідкої культури. Швидко розподілити краплю по поверхні середовища за допомогою скляного стерильного шпателя Дригальського.

б) метод глибинного посіву

У разі лактобацил (оскільки вони є факультативними анаеробами і мікроаерофілами) цей спосіб кращий.

У стерильну чашку Петрі внести піпеткою / дозатором 1 мл рідкої культури, після чого налити 15-20 мл розплавленого і охолодженої до 45°C щільного поживного середовища, акуратно перемішати і залишити чашку на горизонтальній поверхні до тих пір, поки не застигне середовище.

2) Посів виснажуючим штрихом

Культуру відбирають петлею і на поверхні щільного середовища проводять штрихи. Отримати окремі колонії можна декількома способами:

а) розділити чашку на 4 сектори і провести штрихи в кожному з секторів.

б) провести посів штрихом по всій поверхні чашки так, щоб штрих був більш частим на початку посіву і більш рідшим в кінці.

в) провести штрихи в порядку виснаження. Перед кожним новим штрихом петлю стерилізувати в полум'я пальника.

Після посіву чашки Петрі поміщають в термостат кришками вниз, щоб конденсаційна вода, що утворилася на кришці при застиганні агару, не завадила отримати ізольовані колонії.

У мікроаерофільних і анаеробних лактобацил може бути відсутнім зростання при посіві виснажують штрихом. У цих випадках необхідно використовувати

методи культивування анаеробних і мікроаерофільних мікроорганізмів; послідовність дій для отримання чистої культури буде наступною:

1) Окремі колонії, мають зони просвітління на середовищі з крейдою, пересіяти на рідку середу MRS або Рогоза і інкубувати при 30-40°C протягом 48 годин.

2) Приготувати послідовні розведення і висіяти глибинно на серовище MRS або Рогоза. Інкубувати при 30-40°C протягом 48 год.

Методи культивування анаеробних і мікроаерофільних мікроорганізмів

Зіткнення клітин анаеробів і мікроаерофілів з киснем повітря має бути зведено до мінімуму або навіть повністю виключено. Цього можна домогтися, якщо використовувати такі прийоми.

Вирощування в високому шарі середовища – найбільш простий спосіб обмеження доступу повітря до клітин мікроорганізмів. Рідке середовище наливають в посудини для культивування мікроорганізмів високим шаром.

Оскільки не можна стерилізувати середовища, якщо вони займають більше половини висоти посудини, частини середовища стерилізують окремо і стерильно доливають його в посудину для культивування відразу після посіву. Безпосередньо перед посівом середовище кип'ятять або прогрівають на киплячій водяній бані 30-40хв, потім швидко охолоджують, щоб в ньому не встиг розчинитися кисень повітря, і вносять на дно посівний матеріал.

Культивування у в'язких середовищах. Дифузія кисню в рідину зменшується зі збільшенням її в'язкості. В'язкість середовищ можна збільшити додаванням до них 0.2-0.3% агару. Також для створення анаеробних умов після посіву нашаровуються поверх рідкого середовища стерильне вазелінову олія.

Вирощування в товщі поживного середовища використовують для отримання ізольованих колоній при виділенні чистих культур або визначення чисельності анаеробних мікроорганізмів.

Посівний матеріал вносять у пробірку, що містить 20-25 мл розплавленого і охолодженого до 45°C щільного поживного середовища, ретельно перемішують і

переливають у кришку стерильної чашки Петрі. Після того, як середовище застигне, щільно притискають до її поверхні дна чашки. Щілину між стінками дна і кришки чашки, де середовище стикається з повітрям, заливають стерильним парафіном.

Вирощування в скляному ексикаторі зі свічкою дозволяє створити мікроаерофільні умови (5% CO₂). Посудини з посівами поміщають в скляний ексикатор, туди ж поміщають запалену свічку. Ексикатор щільно закривають кришкою, краї якої змащені вазеліновою свічкою. Свічка потухне, коли в ексикаторі не залишиться кисню.

Третій етап: визначення належності виділених бактерій до роду Lactobacillus

Визначення належності виділених бактерій до роду Lactobacillus проводять по ГОСТ 10444.11-89 «Продукти харчові. методи виявлення молочнокислих мікроорганізмів »: по відношенню до фарбування за Грамом, рухливості, наявності спороутворення і каталази.

До лактобацил, згідно ГОСТ 10444.11-89, відносяться бактерії:

- грампозитивні;
- неспороутворюючі;
- паличкоподібні (від коротких, кокоподібних до довгих);
- каталазанегативні.

Окремо відзнач в форму, розмір і колір колоній на щільному живильному середовищі [26].

2.3.2 Обґрунтування способу проведення біосинтезу отримання біомаси лактобактерій

На етапах культивування лактобацил необхідним є підбір оптимального складу поживного середовища та умов проведення процесу культивування (температури, рН, відсутність кисню, тривалість культивування тощо), адже від цього залежить рівень біомаси та кількість живих клітин у кінці етапу. Бактерії

роду *Lactobacillus* відносяться до мікроорганізмів, які мають складні потреби у поживних речовинах для свого росту. Для їхнього активного розвитку потрібна наявність речовин, необхідних для побудови бактеріальної клітини (нуклеїнових кислот, полісахаридів, аміноцукрів тощо). Також для росту молочнокислих бактерій необхідні органічні форми азоту, які вони самі не синтезують. Багатьом видам лактобацил для розвитку необхідні вітаміни. Цим пояснюється значний вплив на їхній ріст додавання до живильного середовища різних екстрактів (наприклад, дріжджового, кукурудзяного), а також інших сполук. З численних поживних середовищ, що застосовуються при культивуванні молочнокислих бактерій, найкращими є ті, що збалансовані за азотним, вуглеводним та вітамінним складом і містять всі необхідні поживні та стимулюючі речовини у формі, що легко засвоюється мікроорганізмами [38].

Для бактерій роду *Lactobacillus* оптимальним поживним середовищем для культивування є середовище MRS, адже це середовище багате на поживні речовини і ростові фактори: містить дріжджовий і м'ясний екстракти, глюкозу, пептон, ацетат натрію, цитрат амонію і твін-80 — джерело жирних кислот, необхідних для метаболізму лактобактерій. Тривалість культивування штаму складає 24 год; температура, за якої здійснюється культивування, становить 37°C; оптимальне значення рН – 7,0 [39].

Таблиця 2.1.

Склад поживного середовища MRS

№	Компонент поживного середовища	Концентрація, г/л
1	Дріжджовий екстракт	4,00
2	М'ясний екстракт	10,00
3	Гідролізат казеїну	10,00
4	Глюкоза	20,00
5	Цитрат амонію (двовалентний)	2,00
6	Ацетат натрію	5,00
7	Твин 80	1,00

8	K_2HPO_4	2,00
9	$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	0,20
10	$MgSO_4 \cdot 4 H_2O$	0,05
11	Сорбінова кислота	0,40
12	Цистеїн HCl	0,40

Для отримання щільного поживного середовища додатково додають 20 г агару. Компоненти середовища розчиняють у 1л води, доводять рН до значення 6,2 -6,5, автоклавують при 0,5 атм протягом 20-30 хв [44]. Поживне середовище для культивування бактерій роду *Lactobacillus* з етанолом містить 45 мл знежиреного 41 молока, 5 мл 5% дріжджевого екстракту, 50 мл 2,5% агару. Всі компоненти середовища стерилізують окремо автоклавуванням при 0,5-1 атм протягом 20-30 хв. В отримані 100 мл середовища додають 4-8% етилового спирту. Зберігають середовище не більше двох діб, оскільки спирт випаровується.

Після процесу біосинтезу, отримана культуральна рідина складається із залишків компонентів поживного середовища, метаболітів і біомаси молочнокислих бактерій. З огляду на це необхідним етапом є відокремлення біомаси від культуральної рідини, тому що залишки компонентів поживного середовища та метаболіти можуть погіршити якість готового препарату. Стадії збору як для видалення клітин або клітинних компонентів, так і для збору клітинних компонентів після руйнування слід здійснювати за допомогою обладнання та в зонах, призначених для зведення до мінімуму ризику контамінації.

На сьогодні застосовуються такі методи відокремлення біомаси бактерій від культуральної рідини: фільтрація, флотація, центрифугування та сепарація [40-43].

Таблиця 2.2

Порівняльна характеристика різних методів відділення біомаси

Назва методу	Принцип відділення	Переваги використання	Недоліки використання
1	2	3	4
Фільтрація	Процес відділення твердої фази від рідкої здійснюється шляхом проходження суспензії через фільтруючий матеріал або через полімерну сітку з відповідним діаметром отворів	Є менш енергоємним	Великі втрати біомаси за рахунок проходження частини клітин через пори фільтруючого матеріалу
Флотація	Виділення з рідких середовищ твердих часток або часток іншої рідини здійснюється за допомогою продування крізь неї газу	Економічність, висока продуктивність і можливість використання в безперервних процесах	Великі втрати біомаси
Центрифугування	Процес розділення суспензій на рідку і тверду фази здійснюється під дією відцентрових сил, при цьому суспензія проходить через фільтрувальну тканину або через металеву сітку з одночасним затриманням твердої фази	Можливість автоматизувати процес	Спостерігаються менші втрати біомаси порівняно з фільтрацією та флотацією Менша ефективність порівняно із сепаруванням

Продовження табл. 2.2

1	2	3	4
Сепарування	Процес розділення суспензій на рідку і тверду фази здійснюється під дією відцентрових сил, при цьому суспензія проходить через міжтарілчастий простір сепаратора	Можливість автоматизувати процес Спостерігаються менші втрати біомаси порівняно із фільтрацією та флотацією, більша ефективність порівняно з центрифугуванням	Порівняно вищий механічний вплив на клітини

Аналіз даних (табл. 2.2) показав, що найбільш ефективним методом відокремлення біомаси від культуральної рідини є метод сепарування. Перевагами методу сепарування є:

- менші втрати біомаси порівняно з фільтруванням та флотацією;
- можливість автоматизувати процес;
- більша ефективність порівняно з центрифугуванням.

2.3.3 Обґрунтування вибору ферментера для отримання біомаси лактобактерій

Ферментери (або біореактори) – це спеціальне обладнання для процесу вирощування біологічних культур в контрольованих стабільних умовах. В таких апаратах створюється оптимальне середовище для розмноження культури клітин і життєдіяльності мікроорганізмів. У пристроях здійснюється подача поживного середовища, насичення її киснем і відведення продуктів метаболізму.

Ферментери використовуються в науководослідних і випробувальних лабораторіях, діагностичних центрах і на виробництві в різних галузях. Такі апарати використовуються для біологічного синтезу, інкубування біомас,

ферментації і проведення інших хімічних реакцій. Сфера застосування біореакторів дуже широка і включає наступні галузі:

- мікробіологія;
- медицина і ветеринарія;
- фармацевтика;
- нафтова промисловість;
- хімічна промисловість;
- харчове виробництво;
- енергетика.

У промисловості біореактори застосовуються в процесі виготовлення вакцин і сироваток, виробництва медичних препаратів, біологічно активних добавок, білків, косметичної продукції, полісахаридів, сиропів, пестицидів, барвників, нафтопродуктів тощо. Від того, наскільки ферментаційне обладнання адаптовано до процесів біосинтезу, залежить вихід продукту, який багато в чому визначає продуктивність і економічні показники підприємства. У лабораторних умовах ферментери використовуються для виділення клітин з сировини тваринного походження, культивування вірусів, бактерій і дріжджів, контролю якості харчових продуктів.

За призначенням поділяють біореактори на :

- лабораторні (для роботи з матеріалом невеликих обсягів);
- напівпромислові або пілотні (для технологічних розробок і дрібносерійного виробництва);
- промислові (для виробництва великих партій різної продукції).

За режимом роботи:

- безперервний;
- напівперіодичний;
- періодичний;

За типом культивування:

- для поверхневого культивування;

- для глибинного культивування.

За подачею кисню:

- аеробні;
- анаеробні.

У пристрої біореакторів особливе значення займають системи теплообміну (нагрівання та охолодження), тип перемішування та спосіб стерилізації. Залежно від властивостей біологічного матеріалу для підтримки активності клітин і мікроорганізмів використовуються апарати різних модифікацій. Робота новітніх пристроїв повністю автоматизована за рахунок оснащення високотехнологічними системами управління та контролю процесів.

Рідкі поживні середовища готуються в реакторах мішалкою. Залежно від сумісності і розчинності компонентів поживних середовищ можуть бути застосовані окремі реактори та їх системи. Якщо до складу поживного середовища входять нерозчинні компоненти (борошно, крейда тощо), тоді технологія приготування середовища дещо ускладнюється. Проте апаратурна схема відносно зберігається. Реактори вибираються з якірними або іншого виду мішалками. Для транспорту таких поживних середовищ застосовуються спеціальні насоси, допускають наявність в середовищі твердих часточок. На сьогодні на виробництві домінує термічний метод стерилізації поживних середовищ. Холодна стерилізація (фільтрація) використовується для термолабільних компонентів [45-47].

Такі середовища не повинні містити нерозчинних складових. Найбільш часто використовується принципова схема стерилізації включає нагрів поживного середовища гострою парою (в стерилізаційній колонці) з наступним витриманням при потрібній температурі і охолодження. Для економії теплової енергії лінії стерилізації комплектують з теплообмінник з підігріву поживного середовища до 80-90 °С, що охолоджується стерильною водою, парового інжектора (парової колонки) для підвищення температури стерилізації гострою парою, витримувача, розширювача, в якому відбувається швидке зниження

температури середовища до 90-95 °С, теплообмінників для конденсації пари із розширювача і кінцевого охолодження (після охолодження в нагрівачі свіжого середовища) поживного середовища до температури ферментації. Використовують також спрощені варіанти цієї схеми, в тому числі витримувачі без розширювачів.

Час стерилізації середовищ (витримку) регулюють шляхом вимірювання довжини труби або кількості пластинчатих теплообмінників, температуру – подачею пари підігрів. Для середовищ, що містять термолабільні компоненти, необхідний час витримки становить інколи 18-20 хвилин при порівняно низькій температурі, що досить важко реалізувати в проточних витримувачах. Контрольно-вимірювальна апаратура лінії стерилізації розташована на окремому пульті управління або ж на загальному пульті цеху ферментації[46].

Для біосинтезу бактерій роду *Lactobacillus* використовують глибинний метод культивування. Лактобацили є факультативними анаеробами, тому вони потребують певної концентрації кисню при культивуванні.

Лактобацили – мезофіли, тому оптимальна температура для їхнього культивування складає – 30°С–40°С. Оптимальний рівень рН для культивування сягає близько 6,8–7,0. Зважаючи на це, ферментер має бути оснащений системою для дистанційного контролю за рівнем рН і температурою середовища.

В умовах культивування можуть виживати й інші мікроорганізми (мезофіли та нейтрофіли). Тому необхідним є створення стерильних умов приготування та додавання поживного середовища в асептичних умовах. Що призводить до встановлення ферментері патрубків до яких можна під'єднати систему для подачі необхідних компонентів з колб у асептичних. Ємності з якими контактують компоненти для проведення біосинтезу мають бути простерилізовані в автоклаві. Таких заходів достатньо для проведення процесу культивування у малому за об'ємом апараті. За таких умов не має необхідності використовувати окремі резервуари.

Магнітна муфта з розділовою мембраною, що використовується для передачі крутного моменту на вал мішалки забезпечить стерильність в процесі

культивування. Також це може дозволити уникнути контакту між культуральним середовищем та зовнішніми, нестерильними рухомими частинами ферментера.

Сорочка ферментера призначена для підтримання оптимальної температури, що забезпечить накопичення біомаси і прояв фізіолого-біохімічної активності

Контрольно-вимірвальна техніка дає змогу слідкувати за основними стадіями життєдіяльності лактобацил, за її допомогою у процесі підтримується рівень рН середовища, тиск в середині ферментера, температура тощо

Також у ферментері має бути створена система перенесення інокулянту, додавання компонентів поживного середовища, що необхідні для життєдіяльності пробіотичного мікроорганізму. Не менш важливим є оснащення ферментеру пристроєм для відбору проб.

Одним з сучасних реакторів є ферментер моделі BioFlo Pro 400L («New Brunswick Scientific; Eppendorf North America», USA), саме він підходить за всіма наведеними вище показниками.

Цей ферментер має модульну систему ферментації, що дає змогу для швидкої доставки необхідних компонентів, забезпечує надійну роботу та гнучку систему.

Програмований логічний контролер (ПЛК) Allen Bradley™ Compact Logix™ дозволяє відслідковувати процес.

Для видалення або додавання опцій наявна модульна конструкція, що дозволяє робити це в будь-який час в залежності від вимог процесу.

Датчики рівня рН, розчиненого кисню, додаткові вихідні порти для установки опціональних сенсорів, піногасник, пристрої відведення метаболітів, пристрій для асептичного відбору проб, оглядове вікно з під світкою вже вмонтовані в даний ферментер

Контролер технологічного процесу має сенсорний дисплей діагоналю 38 см і можливість регулювання 32 параметрів, 2 USB порти, управління каскадного типу, та можливість зберігати до 10 наборів команд



Рис. 2.5 Ферментер BioFlo Pro 400L

2.3.4 Обґрунтування вибору косметичного крему

На практиці часто використовуються такі емульсії, в яких одна рідина є водою, а інша – органічною рідиною, умовно званою олією. Косметичні засоби на емульсійній основі найбільш розповсюджені на косметичному ринку [28], що обумовлено такими причинами:

- косметичні переваги (легко всмоктуються, легко наносяться на шкіру тощо);
- можливість уведення в них як жиророзчинних, так і водорозчинних біологічно активних речовин (БАР), що підвищує ефективність препарату;
- можливість отримувати препарати різної консистенції (від рідких до напівтвердих);
- екструзивністю емульсійних засобів, тобто здатністю легко видалятися з туби чи флакону.

Таким чином, косметичні креми, що містять поряд з жировими і жироподібними речовинами воду, носять назву емульсійних [30, 33]. Креми на основі емульсій «олія у воді» показані при нормальній і жирній шкірі, на основі «вода в олії» – переважно при сухій шкірі. Емульсійні креми мають ряд переваг перед чисто жировими. Додавання води до жирових складових надає крему приємний непрозорий вигляд, білий колір і типову консистенцію, збільшує еластичність крему і його охолоджуючі властивості. Блиск, що залишається на шкірі після втирання водомістких кремів значно менше, ніж після втирання безводних кремів, а всмоктуваність жирових речовин, здатних сорбуватись шкірою, прямо пропорційна вмісту води. Усі водомісткі креми мають приємний вигляд, більш еластичні, легко наносяться на шкіру, в порівнянні з безводними кремами; консистенція їх не в такій мірі залежить від температурних коливань [31]. Косметичні компанії у виробництві кремів віддають перевагу косметичній основі «олія у воді», тобто прямим емульсіям. На сьогодні саме емульсійні косметичні креми є найбільш поширеними на косметичному ринку, що обумовлено високою косметичною ефективністю і рентабельністю цієї групи

косметичних виробів [33]. Особливості косметичного впливу емульсійних косметичних кремів обумовлені перш за все [29]:

- фізіологічною виправданістю використання емульсії як основи косметичних засобів, обґрунтованої структурними і функціональними особливостями шкірного покриву, негативні зміни яких попереджають і коригують емульсійні косметичні креми;

- раціональним поєднанням води і жирів в складі емульсій, що забезпечує ряд життєво важливих функцій як шкіри, так і організму в цілому. Водоолійна система, близька за своєю природою та складом, природним складовим шкіри, здатна активно впливати на процеси, що протікають в шкірних структурах. Присутність води сприяє змочуванню, гідратації шкірної поверхні, що, в свою чергу, збільшує її сорбційні властивості. Висока біологічна доступність емульсій обумовлена також здатністю гідратованої шкірної поверхні підвищувати свої «пропускні» здібності. Активація всмоктування багато в чому забезпечується поверхнево-активними речовинами (ПАР) – обов'язковим компонентом емульсійних систем [29], здатних знежирювати шкірну поверхню шляхом сольобілізації нативних ліпідів і деструктувати природні білки, що сприяє підвищенню проникності шкіри. Жири ж, в свою чергу, будучи носієм натуральних поживних речовин [28], здатні функціонально заміщати шкірні ліпіди при їх нестачі;

- можливістю введення в емульсійні системи речовин з різними фізико-хімічними властивостями, здатними активно впливати на біохімічні процеси в шкірних структурах (амінокислоти, мінеральні солі, вуглеводи, жирні кислоти, вітаміни, гормони і багато ін.), що дозволяє збільшити їх біодоступність і направлено впливати на певні порушення структури та властивості шкірної поверхні;

- можливістю варіювати консистенцією і рівнем впливу, зумовленими призначенням крему, залежними від фізико-хімічних властивостей речовин, що входять до складу емульсійного крему. Рідкі емульсії, незважаючи на знижений

вміст жирів, за ступенем пом'якшення шкіри не поступаються кремам з високим вмістом жирових або жироподібних речовин [32]. Пояснюється це тим, що шкіра здатна всмоктувати дуже невелику кількість жиру і для пом'якшення і «харчування» її достатній препарат, що містить 4-7% жирів і жироподібних речовин. Якщо до того ж врахувати, що жирові кульки емульсій дуже малі і легше проникають в пори шкіри і міжклітинний простір, то стане ясным, наскільки емульсійні креми краще чисто жирових [32].

Таким чином, прямі емульсії, в тому числі з невисоким вмістом масляної фази, є одним з найважливіших об'єктів косметичної промисловості. Для даного дипломного проекту обрано крем, основа якого – емульсія типу «олія у воді». Креми типу о/в представляють собою напівтверді, дисперсні препарати, у яких в сполученій гідрофільній фазі диспергована і стабілізована емульгаторами ліпофільна фаза [27]. Такі креми добре змиваються водою і виявляють охолоджуючий ефект, на який можна впливати шляхом підбору системи емульгатора. Вони придатні для застосування на нормальній і жирній шкірі і швидко поглинаються. Для протидії висиханню продукту необхідна добавка гігроскопічних речовин. Креми типу о/в характеризуються великим різноманіттям застосовуваних речовин в порівнянні з іншими напівтвердими системами – як у відношенні компонентів дисперсної масляної фази, так і можливої системи емульгаторів.

2.4 Поетапно наведена блок-схема отримання біомаси лактобактерій



2.5 Опис технологічної схеми отримання біомаси лактобактерій

1.1 Отримання культури I генерації

Для отримання культури *Lactobacillus* I генерації необхідно мати два флакони ліофілізату культури клітин та внести певну кількість розчину натрію хлориду. Струсити флакони та пересіяти у пробірки з середовищем MRS. У розведенні 1:10, тобто 1мл вмісту флакона і 9мл середовища MRS.

Розрахунок середовища 1 пробірка на 1 колбу.

Пробірки поміщають у анаеростат і вирощують за температури 38°C протягом 12 год.

1.2 Отримання культури II генерації

Для отримання культури другої генерації, культуру першої генерації переносять в колбу та ретельно перемішують, закривають пробкою та ставлять на інкубацію у анаеростат при температурі 37±1°C упродовж 24 годин, при цьому ретельно перемішують вміст кожних 4 год.

Після інкубації вміст колби можна використовувати для засіву інокулятора.

1.3 Вирощування посівного матеріалу в інокуляторі

У колбу для засіву поміщають необхідну кількість рідкого посівного матеріалу 1, 2, 3 частини та поступово перемішують для вирощування в інокуляторі. Далі способом самопливу поживне середовище переносять у простерилізований інокулятор.

Стерильно вноситься посівний матеріал II генерації в інокулятор. В Інокулятор вирощують при температурі 30°C протягом 12 год. Проби відбирають кожні 3 години при процесі вирощування.

1.4 Вирощування культури у ферментері

У стерильний біореактор подається рідке, стерильне поживне середовище та вноситься посівний матеріал культури *Lactobacillus*. Культивування відбувається при температурі 37°C протягом 24 годин періодично перемішуючи зі швидкістю 70 об/хв. періодично через 4 год.

Далі відбувається накопичення біомаси, її проводять нейтралізацією культуральної рідини 20 % розчином NaON періодично, до досягнення водневого

показника рН $5,5 \pm 0,1$. Перша нейтралізація відбувається через 3 години, а потім через кожні 1,5 години.

Важливим є підтримання температури за допомогою періодичної подачі води у сорочку біореактора

Ферментація завершена коли концентрація мікроорганізмів складає близько $1 \cdot 10^7$ протягом 24 годин.

*1.5 Сепарування біомаси *Lactobacillus**

По закінченню культивування рідина з ферментера потрапляє на відділення біомаси від культуральної рідини до сепаратора. Подача відбувається за допомогою насоса зверху до корпусу апарата та входить в його міжтарілчастий простір.

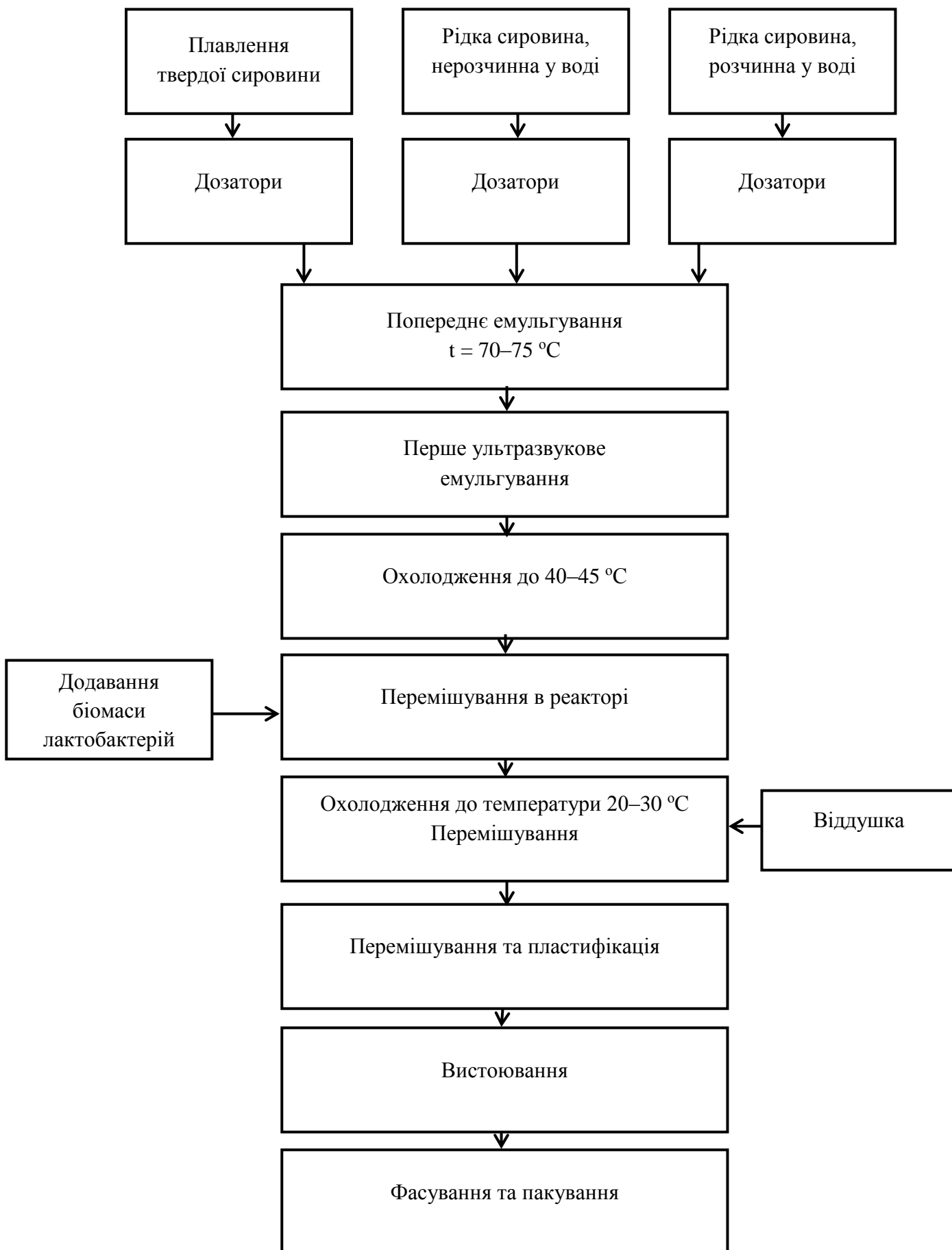
Культуральна рідина потрапляючи в поле відцентрових сил закручується разом з тарілками сепаратора та на периферію відкидається концентрована біомаса. Час концентрування складає 5-7 хв. при 10 тис. об./хв.

Для отримання біомаси можна використовувати сепаратор ОТС 2-02-137 «GEA Westfalia Separator» (див. Рис. 2.6). Даний сепаратор має легку конструкцію, герметичний, майже безшумний та має продуктивність до 2500 л/год, в ньому є можливість підключення до система СІР-мийки.



Рис. 2.6 Сепаратор моделі ОТС 2-02-137 «GEA Westfalia Separator»

2.6 Поетапно наведена блок-схема отримання косметичного крему



2.7 Опис технологічної схеми отримання косметичного крему

У диспергаторах рідина продавлюється під високим тиском через невеликі отвори; в гомогенізаторах рідина проходить через кільцевий простір між стінками рухомого валу та апарата. Розмір частинок емульсії повинен бути 0,4–0,6 мкм.

Емульсатором є апарат, обладнаний мішалкою та водяною сорочкою. До нього з мірників подається жирова сировина та гаряча вода з температурою 70°C, решта компонентів подається дозатором. Суміш підігрівається до температури 70-75°C і при інтенсивному перемішуванні емульгується протягом 10-15 хв. Потім емульсія насосом подається в котел-холодильник, який оснащений сорочкою та мішалкою. Охолодження проводиться повільно і поступово (20-30 хв) і після досягнення температури 40-45°C вводяться вітаміни та віддушка. Після цього емульсію охолоджують до температури 30-32°C.

Охолоджена суміш насосом перекачується до приймального бункера, розташованого над вальцовою машиною, де вона піддається пластичній обробці. Вальці нагріваються до температури 40-45°C. Проводиться подвійне вальцювання. Подвійне пластичне оброблення поліпшує емульгування, структуру крему та його однорідність. При другому вальцюванні температура вальців повинна бути в межах 32-34°C.

Після цього маса крему подається в вакуум-збірник, а потім надходить на фасування та пакування (для фасування та пакування встановлено спеціальні автоматичні лінії) [27].

Висновок до розділу 2

Косметичні креми виготовляються відповідно до ДСТУ 29189-91 «Креми косметичні». Основними технологічними етапами є допоміжні роботи, напрацювання біомаси лактобактерій та технологічне виготовлення косметичного крему. Відповідно до обраного пробіотичного організму *Lactobacillus*, мають бути створені спеціальні умови для культивування. Найкращим середовищем для культивування обрано середовище MRS. У даному розділі наведено блок-схему отримання готового косметичного крему у промислових умовах. Обрано найдоцільніший метод виготовлення емульсійного крему з лактобактеріями.

РОЗДІЛ 3

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

3.1 Методики контролю на стадії біосинтезу

Контроль на підприємствах з виробництва косметичних засобів проводиться для забезпечення відповідності готового продукту вимогам нормативно-технічної документації.

Контроль проводиться на всіх етапах виробництва починають з перевірки на чистоту виробничих приміщень та обладнання, закінчуючи проведенням методик контролю готового продукту.

Перед початком будь якого процесу відбувається контроль якості сировини та матеріалів, що будуть використовуватись у процесі виробництва.

Вся сировина та поживні середовища мають проходити мікробіологічний контроль згідно вимог специфікації. Відбір проб проводить окремо навчений персонал. Відповідальність за проведення контролю лежить повністю на лабораторії.

На м'ясо-пептонний агар і сусло агар роблять висіви змивів з сировини після певного розведення. Підрахунок проводять через 24-72 годин для визначення рівня контамінації сировини. Режим стерилізації встановлюють в залежності від рівня контамінації. Контроль проводиться для кожної окремої партії адже вона може відрізнитися. Всі данні протоколюють відповідно нормативної документації. Протокол має обов'язково містити назву та вид сировини, номер партії та її масу, дату виготовлення, термін зберігання, показники якості.

Мікробіологічний контроль

Мікробіологічний контроль повинен здійснюватися протягом всього процесу на основних стадіях. Проби відбирають за допомогою пробовідбірника, що вже встановлений у ферментері. Конструкція пробовідбірника спроектована таким чином, щоб запобігти перехресній контамінації.

Проведення мікробіологічного контролю відбувається шляхом висіву матеріалу на м'ясо-пептонний агар та прямим мікроскопічним методом. Для

обліку результатів застосовують чашковий метод для виявленню кількості колоніє-утворюючих одиниць. Вважається, що один мікроорганізм при посіві на щільне поживне середовище утворює одну колонію. Поведення аналізу відбувається методом Коха. Метод Коха включає три основних етапи: приготування необхідної кількості розведень, висів на щільне поживне середовище у чашках Петрі, підрахунок колоній, що утворилися. Задовільним результатом вважається відсутність будь-якої сторонньої мікрофлори у поживному середовищі. Не опускається наявність сторонньої мікрофлори і при перевірці обладнання та приміщень. На всіх етапах біосинтезу при перевірці чистоти продукту у пробах ає бути відсутня будь-яка інша мікрофлора, крім маточної культури клітин та культуральної рідини.

Для того щоб виявити окремі колонії пробу матеріалу десятикратно розводять за методом Коха. Для цього у стерильні пробірки роливають по 5 мл стерильної води або фізіологічного розчину та додають 1 мл матеріалу для дослідження, добре перемішують та отримують перше розведення 1:10

Для отримання подальших розведень 1 мл суспензії з першої пробіркиносять в другу та додають 9мл води, отримуючи друге розведення 1:10². Таким чином готують всі подальші розведення до 1:10⁸. Всі процедури виконуються стерильно, в асептичних умовах.

Розведення 1:10⁸ та 1:10⁷ висівають на чашки Петрі з МПА; кожне розведення при цьому висівають на 3 різні чашки. Посів здійснюється мікробіологічною петлею над полум'ям пальника, стерильно. Петлею відбирають необхідне розведення, та методом штриха проводять посів на чашку Петрі. Чашку закривають та поміщають у термостат при температурі 37°C.

Посіви на МПА інкубують при температурі 37±1 °C спочатку у горизонтальному положенні (протягом 2 діб), потім – у вертикальному. Облік результатів можна виконувати 48 та 72 години і остаточно – через 8 діб.

По закінченню інкубації в чашках Петрі повинен бути відсутній ріст колоній сторонньої мікрофлори.

Визначення концентрації біомаси

Для визначення концентрації біомаси використовують метод вимірювання за оптичною густиною.

Оптичну густину культуральної рідини вимірюють на фотоелектроколориметрі при заданій довжині хвилі $\lambda = 540$ нм, довжина світлового потоку сягає 5 мм. В ситуаціях коли неможливо виміряти оптичну густину, вимірювання проводять на розведеній культуральній рідині. Далі отримані результати множать на кількість розведень для складання калібрувального графіка в якому вказано кількість абсолютно сухої біомаси (г/л).

Для визначення кількості життєздатних пробіотичних мікрорганізмів, а саме лактобактерій використовують метод Коха. Основою методу є посів певного об'єму культуральної рідини на чашки Петрі з щільним поживним середовищем. При підрахунку колоній ведуть вважають, що кожна клітина виростає у одну колонію. Для визначення проводять три етапи: приготування розведень, висів на поживне середовище в чашки Петрі, підрахунок колоній. Для отримання достовірних результатів зазвичай готують ряд розведень, щоб отримати окремі колонії та провести правильний підрахунок. Розведення проводять у 0,85 % ізотонічному розчині хлориду натрію.

Для цього готують розведення: у сухі стерильні пробірки вносять 9 мл розчину хлориду натрію та 1 мл суспензії культури, суспендують та в результаті отримують розведення 10^{-1} . Для отримання розведення 10^{-2} процедуру повторюють у наступній пробірці, беручи 9 мл розчину натрій хлориду та 1 мл суспензії минулого розведення. Та продовжують готувати наступні розведення.

Далі проводять посів на щільне поживне середовище в чашках Петрі певного об'єму розведення та розподіляють стерильним шпателем Дригальського по поверхні агаризованого середовища. Проводять підрахунок кількості колоній у чашках Петрі.

3.2 Методики контролю готового косметичного крему

Косметичні креми виготовляються лише у відповідності до вимог нормативної документації, по технологічних інструкціях і рецептурах, затверджених в установленому порядку.

Відповідно до вимог ДСТУ 29189-91 «Креми косметичні» за органолептичними і фізико-хімічними показниками повинні відповідати вимогам і нормам, приведеним в табл. 3.1. Конкретні значення наводяться в нормативно-технічній документації на кожне найменування крему.

Таблиця 3.1

Органолептичні та фізико-хімічні показники косметичних кремів

Назва показника	Характеристика і норма			Метод випробовування
	Емульсійні креми	Жирові креми	Креми на гелевій основі	
Зовнішній вигляд	Однорідна маса без сторонніх домішок			ГОСТ 29188.0
Колір	Власний колір встановленому в технічних вимогах на крем конкретної назви			ГОСТ 29188.0
Запах	Власний запах встановленому в технічних вимогах на крем конкретної назви			ГОСТ 29188.0
Масова частка води і летких речовин, %	5,0 – 98,0	–	5,0 – 98,0	ГОСТ 29188.4
Водневий показник (рН)	5,0 – 9,0			ГОСТ 29188.2
Колоїдна стабільність	Стабільна	–	Стабільна	ГОСТ 29188.3
Термостабільність	Стабільна	–	Стабільна	ГОСТ 29188.3
Температура заплігання, °С	–	39 – 55	–	ГОСТ 29188.1

Косметичні креми зберігають в сухих приміщеннях з відносною вологістю не більше 70%, при температурі не нижче +5°C і не вище +25°C. Гарантійний

термін зберігання косметичних кремів – 12 місяців; рідких кремів і біокремів – 6 місяців з моменту виготовлення.

Зовнішній вигляд і колір косметичних кремів визначають переглядом проби, поміщеної тонким, рівним шаром на предметне скло або аркуш білого паперу. Однорідність – відсутність грудок і крупинок, – визначають на дотик легким розтиранням проби.

Розшарування крему оцінюють візуально

Запах кремів визначають органолептичним методом.

Методи контролю косметичного крему можуть бути поділені на фізико-хімічні і хімічні. Фізико-хімічні методи контролю передбачають визначення таких показників, як стабільність, рН, тип емульсії, консистенція. Дані показники характеризують споживчі властивості косметичних кремів. Хімічні методи аналізу дозволяють визначити компоненти, що входять до складу кремів.

Зважаючи на те, що крем має у своєму складі біологічний агент для нього також додається показник визначення кількості життєздатних бактерій

Фізико-хімічні методи випробувань косметичних кремів.

1) Визначення стабільності

Стабільність – один з основних параметрів, що характеризує якість косметичних кремів. У них не повинна відділятися жирова чи водна фаза впродовж всього гарантійного терміну зберігання, а також при зміні температури навколишнього середовища.

Методи визначення стійкості емульсійних кремів поділяють на тривалі (випробувані в умовах, при яких вони зберігаються) і прискорені. Тривалі мають велике значення для дослідження стабільності нових видів косметичних засобів.

При розробці рецептур косметичних кремів, а також для контролю якості виробництва потрібні прискорені методи. До них відносяться методи, ґрунтовані на пришвидшенні коагуляції і коалесценції в емульсійних косметичних засобах в результаті накладення термічної або фізичної напруги. При підвищенні температури в'язкість дисперсійного середовища може значно знижуватись. Внаслідок збільшення кінетичної енергії системи інтенсивність зіткнення часток

різко зростає, що призводить до прискорення процесу руйнування емульсій. На цьому принципі засновані методи визначення стабільності кремів шляхом витримки їх при підвищених температурах впродовж 7-14 діб або в умовах різкого коливання температур.

Для проведення стабільності косметичних емульсійних засобів використовують два методи. Перший заснований на визначенні колоїдної стабільності методом центрифугування, другою, – а визначенні термостабільності при різних температурах.

Визначення колоїдної стабільності емульсійних кремів методом центрифугування. Крем вважається стабільним, якщо після центрифугування в пробірках не спостерігається відділення жирової чи водної (розшарування і осідання) фази. Якщо навіть в одній з пробірок спостерігається розшарування крему або випадіння осаду, то повторюють випробування з новими зразками. Крем вважається нестабільним, якщо при повторному аналізі буде помічено розшарування його або осідання буде наявним хоча б в одній з пробірок.

Визначення термостабільності. Для визначення 5-6 пробірок наповнюють 6-10 мл досліджуваного крему і поміщають їх в термостат при температурі 40-45°C на 7 діб. Потім ці зразки зберігають 7 діб в холодильнику з температурою 10-12°C, після чого крем впродовж 3 діб витримують при звичайній кімнатній температурі. Стабільність визначають візуальним контролем: якщо в жодній з пробірок не спостерігається розшарування крему, він вважається термостабільним.

Метод визначення центрифугуванням дозволяє в найбільш короткий термін встановити стабільність досліджуваної системи і може бути використаний для контролю виробництва, при розробці рецептур нових косметичних кремів і виборі оптимального способу їх отримання.

Методи визначення термостабільності можна використовувати для оцінки якості кремів що випускаються, а також при створенні нових рецептур косметичних засобів.

2) Дисперсійний аналіз

При визначенні властивостей емульсійних систем дисперсність є основною характеристикою. Дисперсність емульсій вимірюється величиною діаметру часток дисперсної фази. Діаметр часток фази в емульсіях зазвичай складає 0,1-10 мкм. Завдання дисперсійного аналізу полягає в тому, щоб встановити розміри часток, наявних в цій емульсії, і їх фракційний склад. Міра дисперсності косметичних емульсійних кремів служить важливою ознакою, оскільки визначає їх стабільність і консистенцію.

Нині найбільше поширення знаходить мікроскопічний метод. Під мікроскоп з допомогою окуляр мікрометра встановлюють діаметр не менше 100 часток і потім обчислюють зміст кожної фракції в емульсіях. Для полегшення обчислення результатів застосовують фарбування дисперсної фази за допомогою водорозчинних барвників (метиленовий блакитний або метиловий помаранчевий). Цим методом можна визначити дисперсійний склад емульсійних кремів типу олія/вода. Для емульсійних кремів типу вода/олія, що мають складну колоїдну структуру, цей спосіб непридатний.

Визначення міри дисперсності емульсійних кремів типу олія/вода. Для полегшення процесу мікроскопіювання при дисперсному аналізі знижують концентрацію дисперсної фази. Емульсії, що містять 15% жирової фази, розводять дистильованою водою в співвідношенні 1:100, 20%-ві – в співвідношенні 1:200, 30%-ві – в співвідношенні 1:300 і т. д.

З метою отримання зразка, необхідного для дисперсійного аналізу, в склянку наливають дистильовану воду залежно від змісту жирової фази, 1 г. досліджуваного крему і 1-2 краплі розчину барвника. Дану суміш ретельно перемішують скляною паличкою з гумовим наконечником до утворення однорідної системи.

Аналіз проводять таким чином: у камеру Горяєва з щільно притертим покривним склом піпеткою вносять досліджуваний зразок і поміщають її під об'єктив мікроскопа. Цей метод використовують для визначення міри дисперсності емульсійних кремів типу олія/вода при розробці рецептур нових

косметичних виробів, виборі оптимального режиму приготування, а також для проведення вибіркових досліджень.

3) Метод розбавлення і фарбування.

Метод розбавлення заснований на наступному: декілька крапель досліджуваного зразку вноситься у воду. Якщо великі краплі швидко розбиваються на більш дрібні, а потім розповсюджуються по поверхні води або навколо крапель утворюється каламутний шар, то така досліджувана система вважається емульсією 1 роду.

Якщо емульсія у воді, утворює незмочувані глобули чи прилипає до шпателя і на силу або зовсім не поширюється, то її відносять до системи 2 роду.

Такий метод не є надійним: емульсії 2 роду можуть частково розподілитися у воді, якщо в них наявні ПАВ, наприклад, натрію лаурилсульфат. Поблизу критичної точки звернення фаз або у разі множинних емульсій такий метод не дає точного результату.

Метод фарбування, широко використовуваний на практиці, заснований на тому, що крапля розчину малорозчинного барвника (наприклад, судан III або ж іншого) обережно наноситься на поверхню досліджуваного зразка. Якщо дисперсійним середовищем емульсії служить олія, то крапля буде розтікатися по поверхні і відбудеться досить швидке фарбування. Якщо ж розтікання відсутнє то емульсія належить до систем 1 роду. Повністю аналогічне фарбування проводять з водорозчинним барвником (метиловий блакитний або метиленовий помаранчевий).

Наразі кондуктометричний метод став на заміну вище перерахованим методам визначення типу емульсії, він заснований на різній електропровідності фаз.

Олійна фаза має малу електропровідність, в той час як вода має досить високий показник електропровідності. Тому емульсії типу вода/олію мають значно нижчу електропровідність в порівнянні з емульсіями 1 роду.

4) Визначення рН

Останнім часом до рецептури косметичних кремів вводять різні речовини, що впливають на значення водневого показника кремів. Кислі (рН нижче 4,5), так само як і занадто лужні (рН вище 8,5), креми чинять негативну дію на шкіру. Для визначення рН в кремах застосовують потенціометричний і індикаторний методи.

Потенціометричний метод дозволяє встановити рН кремів з точністю до сотих доль.

У емульсійних косметичних кремах типу олія/вода рН встановлюють безпосередньо в досліджуваних зразках.

5) Визначення консистенції

Окрім основного призначення – чинити сприятливу дію на шкіру, креми мають мати низку інших властивостей та переваг: легко наноситися, швидко вбиратися, вільно видавлюватися з туб. Ці властивості багато в чому залежать від консистенції крему, яка є одним з найбільш важливих показників, що визначають їх споживчі властивості.

Швидкість проникнення в шкіру біологічних речовин напряду залежить від консистенції крему, це є важливою ознакою ефективності

Особливе значення має консистенція для емульсійних кремів типу вода/олія, що містять значну кількість структуротворних речовин, а також для рідких емульсійних кремів. Рідкі емульсійні креми повинні вільно вилитися з флаконів і зберігати плинність впродовж гарантійного терміну зберігання.

Хімічні методи випробувань косметичних кремів

За допомогою титриметричного методу можна визначити низку важливих показників: масову долю гліцерину, загального лугу, масову долю монометилового ефіру гідрохінону (у відбілювальних кремах)

Гравіметричний метод застосовують для визначення масової долі води і летких речовин.

Метод визначення температури краплепадіння емульсійних кремів ґрунтований на вимірі температури, при якій відбувається падіння першої краплі розплавленого крему, що поміщеного в чашку приладу і нагрівається в певних умовах [28,34,35].

Визначення життєздатності клітин

Важливою характеристикою лактобац є їхня життєздатність, оскільки лише такі мікроорганізми здатні приносити користь для організму людини.

Пристроєм для визначення визначення життєздатності пробіотичних бактерій є датчик Aber Futura (рис. 3.1) – це система для виміру концентрації життєздатних клітин. Вона є простою та компактною, вимірювання проводить в on-line режимі, та враховує всі потреби потреб для проведення якісного дослідження.

На біореакторі кріпиться датчик, який може в on-line режимі вимірювати концентрацію біомаси. Його робота заснована на вимірюванні заряду що створею кожна клітина, а плазматична мембрана його накопичує. Таким чином датчик вимірює даний заряд і може визначити кількість життєздатних клітин.

Результат виірювань досить точний тому що, заряд залежить від типу клітини і прямо пропорційний об'єму клітин, які містять непошкоджену мембрану.



Рис. 3.1. Датчик Aber Futura для визначення життєздатності клітин

3.3 Екологічна складова

Вимоги безпеки до виробничого обладнання конкретних груп, видів, моделей розробляються з урахуванням призначення, виконання та умов його експлуатації. Відповідно до ГОСТ 31833-2012 вимоги безпеки до ферментерів є наступними:

- Ферментатори повинні бути оснащені витяжними трубами, перетин яких має повністю забезпечувати видалення повітря, що подається на аерацію, з робочих приміщень в атмосферу.
- Пара після стерилізації ферментаторів, комунікацій і арматури повинна відводитися в атмосферу поза будівлями.
- Ферментатори повинні бути оснащені контрольно-вимірювальними приладами для визначення рН середовища, температури середовища, рівня рідини в апараті та ін., згідно з технологічною схемою ведення процесу.
- Відбір проб з ферментаторів повинен проводитися способами, що виключають контакт обслуговуючого персоналу з культуральними рідинами
- Всі роботи з ферментаторів повинні проводитися відповідно до регламентів та експлуатаційними документами, затвердженими в установленому порядку.

Вищезазначені умови безпеки при праці з біореакторами пов'язані з тим, що особливістю роботи з даним типом обладнання, з точки зору біологічної безпеки, є підвищений, у порівнянні з атмосферним, тиск повітря в ферментерах в момент посіву культури, відбору проб матеріалу і протягом всього процесу вирощування глибинним методом. Це створює реальну загрозу для працюючого персоналу внаслідок викиду в навколишнє середовище бактеріального аерозолі – суспензії, з рідкими або твердими частинками, що містять мікроорганізми. Крім того, при експлуатації установок виникає проблема деконтамінації відпрацьованого повітря, що використовувалося для барботування живильного середовища в процесі культивування [36].

Стічні води, що утворюється після культивування продуцента можуть містити як залишки мінеральних солей, так і органічні компоненти, що включають залишки мікроорганізмів.

В промисловості використовують декілька способів очистки стоків. Спочатку проводять механічне очищення: проціджування крізь сітки, фільтрування, відстоювання, оброблення в гідроциклонах, флотацію. Ступінь очищення після механічної очистки складає 50-70%.

Подальше очищення стоків від органічних і неорганічних залишків може відбуватися наступним чином:

- Хімічне очищення – додавання до стоків реактивів для осадження домішок або виділення газів;
- Фізико-хімічне очищення – шляхом коагуляції флокуляції, сорбції. Як коагулятор застосовують сульфат алюмінію, також поширеним є використання активованого вугілля в якості сорбента.
- Біологічне очищення – утилізація мікроорганізмами залишків органічних речовин [37].

Висновок до розділу 3

Для забезпечення відповідності проводиться контроль на підприємствах з виробництва косметичних засобів. Контроль проводиться на всіх етапах виробництва починаючи від допоміжних робіт, завершуючи проведеннями випробувань готового косметичного засобу. Вся сировина та поживні середовища мають проходити контроль якості. На підприємствах відповідальність за проведення контролю лежить на функціонуючій лабораторії. Контролі проводяться для кожного окремого процесу та кожної окремої партії крему.

Методики контролю розділяють відповідно до процесів: напрацювання біомаси *Lactobacillus* та виготовлення готового косметичного крему.

Головними методами випробувань є: органолептичні показники(запах, колір, однорідність), визначення стабільності, дисперсійний аналіз, метод розбавлення і фарбування, визначення рН, визначення консистенції, визначення масової частини води.

ВИСНОВКИ

1. Використання пробіотиків у косметичній промисловості здійснило переворот у догляді за шкірою обличчя. Пробіотики мають низку корисних властивостей, які позитивно впливають на мікробом шкіри. Найважливішими функціями є врівноваження мікробіологічного балансу, насичення шкіри вітамінами, вуглеводами, білками і корисними елементами, зменшення почервоніння і запалень шкіри, регуляція рельєфу і тону шкіри, глибоке зволоження. Дана косметика не має протипоказань окрім індивідуального несприйняття. Найкраще застосовувати таку косметику у вигляді крему, тобто в тому вигляді, що найдовше контактує зі шкірою. Найбільше переваг мають емульсійні креми, вони складають основу більшості форм косметичної продукції. Їх виробництво має ряд переваг, та відносну простоту виготовлення.

2. Для забезпечення відповідності проводиться контроль на підприємствах з виробництва косметичних засобів. Контроль проводиться на всіх етапах виробництва починаючи від допоміжних робіт, завершуючи проведеннями випробувань готового косметичного засобу. Вся сировина та поживні середовища мають проходити контроль якості. На підприємствах відповідальність за проведення контролю лежить на функціонуючій лабораторії. Контролі проводяться для кожного окремого процесу та кожної окремої партії крему.

3. Методики контролю розділяють відповідно до процесів: напрацювання біомаси *Lactobacillus* та виготовлення готового косметичного крему.

4. Головними методами випробувань є: органолептичні показники (запах, колір, однорідність), визначення стабільності, дисперсійний аналіз, метод розбавлення і фарбування, визначення рН, визначення консистенції, визначення масової частки води.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Fuller R. History and development of probiotics // Probiotics. The scientific basis. – London: Chapman and Hall, 1992. – P. 1–9.
2. Хорошилова Н. В. Иммунотерапевтические аспекты применения пробиотиков в клинической практике // Лечащий врач. – 2003. – № 2. – С. 71–73.
3. Шевелева С. А. Пробиотики, пребиотики и пробиотические продукты. Современное состояние вопроса // Вопр. питания. – 1999. – № 2. – С. 32–40.
4. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / [P. De Vos, G. M. Garrity, D. Jones та ін.] // The Firmicutes / [P. De Vos, G. M. Garrity, D. Jones and other]. – New York: Springer, 2009. – (2nd ed.). – P. 465–511.
5. Jankovic I., Ventura M., Meylan V., Rouvet M., Elli M., Zink R. Contribution of aggregation-promoting factor to maintenance of cell shape in *Lactobacillus gasseri* 4B2 // J. Bacteriol. 2003. V. 185(11). P. 3288-3296.
6. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія : Підручник / Т. П. Пирог – Київ: НУХТ, 2004. – 471с.
7. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними: Учебно-методическое пособие / Д.Р. Яруллина, Р.Ф. Фахруллин. – Казань: Казанский университет, 2014. – 51 с.
8. *Lactobacillus mulieris* sp. nov., a new species of *Lactobacillus delbrueckii* group / [J. Rocha, J. Botelho, M. Ksiezarek etc.]. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2020. – P. 1522–1527.
9. Limanska N., Korotaeva N., Biscola V., Ivanytsia T., Merlich A., Franco B.D.G.M., Chobert J.M., Ivanytsia V., Haertle T. Study of the potential application of lactic acid bacteria in the control of infection caused by *Agrobacterium tumefaciens* // Plant Pathology and Microbiology. – 2015. – Vol. 6, № 8: doi: 10.4172/2157-7471.1000292.
10. Batdorj B., Trinetta V., Dalgalarondo M. et al. Isolation, taxonomic identification and hydrogen peroxide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* T31, isolated from Mongolian yoghurt: inhibitory activity on food-borne pathogens. // Journal of Applied Microbiology. – 2007. – V. 103. – P. 584–593.

11. Cebeci A., Gurakan C. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. // *Food Microbiology*. – 2003. – 20. – P. 511–518.
12. Самусенко Н. В. Научное обоснование применения бактерий-антагонистов при длительном холодильном хранении корнеплодов моркови: автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. техн. наук. – Санкт-Петербург, 2001. – 20 с.
13. Kleerebezem M. Quorum sensing control of lantibiotic production; nisin and subtilin autoregulate their own biosynthesis. // *Peptides*. – 2004. – Vol. 25 (9). – P. 1405–1414.
14. Тихонович И. А., Проворов Н. А. Кооперация растений и микроорганизмов: новые подходы к конструированию экологически устойчивых агросистем // *Усп. совр. биол.* – 2007. – 4. – С. 339–357.
15. Klein G., Pack A., Bonaparte C. and Reuter G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. // *International Journal of Food Microbiology*. – 1998. – 41. – P. 103–125.
16. Карапетян К. Дж. Сравнительная оценка ряда свойств новых штаммов молочнокислых бактерий // *Биолог. журн. Армении*. – 2009. – Т. 4 (61). – С. 36–42.
17. Yan F, Polk DB. Probiotics and immune health. *Curr Opin Gastroenterol*. 2011; 27(6):496–501. doi:10.1097/MOG.0b013e32834baa4d.
18. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* influence on the indices of immune influence on the indices of immune response of the organism showed on 136 experimental model / M. Ya. Spivak, V. S. Pidgorsky, L. M. Lazarenko [et al.] // *Microbiology @ Biotechnology*. – 2009. – № 1 (5). – P. 39–46.
19. New aspects the regulation of immune response through balance Th1/Th2 cytokines / N.O Tymoshok, Y.A. Melnichenko, M.Ya. Spivak [et al.] // *EPMA World Congress 2013 (20–21 September 2013, Brussels, Belgium)* // *EPMA Journal*. – 2014. – Vol. 5. – P. 134.
20. Shanmugasundaram R. Effect of yeast cell product (CitriStim) supplementation on broiler performance and intestinal immune cell parameters during an experimental coccidial infection / R. Shanmugasundaram, M. Sifri, R. K. Selvaraj // *Poultry Science*. – 2013. – Vol. 92, №. 2. – P. 358–363.

21. Tang W, Xing Z, Li C, Wang J, Wang Y. Molecular mechanisms and in vitro antioxidant effects of *Lactobacillus plantarum* MA2. *Food Chemistry*. 2017; 221:1642–1649. doi:10.1016/j.foodchem.2016.10.124.
22. Son SH, Yang SJ, Jeon HL, Yu HS, Lee NK, Park YS, et al. Antioxidant and immunostimulatory effect of potential probiotic *Lactobacillus paraplantarum* SC61 isolated from Korean traditional fermented food, jangajji. *Microbial Pathogenesis*. 2018; 125:486–492. doi:10.1016/j.micpath.2018.10.018.
23. Min WH, Fang XB, Wu T, Fang L, Liu CL, Wang J. Characterization and antioxidant activity of an acidic exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* JLAU103. *JBiosci Bioeng*. 2018; 1389–1723(18):30832–6. doi:10.1016/j.jbiosc.2018.12.004.
24. Aguilar-Toalá JE, Estrada-Montoya MC, Liceaga AM, Garcia HS, González-Aguilar GA, Vallejo-Cordoba B, et al. An insight on antioxidant properties of the intracellular content of *Lactobacillus casei* CRL-431. *LWT*. 2019 102:58–63. doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.015.
25. І.М. Волошина, Л.В. Шкотова, С.О. Скороход, І.Є. Апполонова, Н.М. Жолобак БАКТЕРІЇ РОДУ *LACTOBACILLUS*: БІОЛОГІЧНІ ТА ЛІКУВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ // Мікробіол. журн., 2019, Т. 81, № 6.
26. Яруллина, Д.Р. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними: учебно-методическое пособие / Д.Р. Яруллина, Р.Ф. Фахруллин. Казань: Казанский университет, 2014.
27. Пешук Л.В., Бавіка Л.І., Демідов І.Н. Технологія парфумерно-косметичних продуктів.-К.: Центр учбової літератури, 2007.-376 с.
28. Технологія косметичних засобів: Навчальний посібник для студ. фармац. спец. вищих навчальних закладів / Башура О.Г., Половко Н.П., Ковальова Т.М. та ін. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 360 с.
29. Ефимова В.Г., Пилипенко Т.Н., Никора А.В. Получение и свойства косметических эмульсий // VI Міжнародна конференція студентів, аспірантів та молодих вчених з хімії та хімічної технології, 20-22 квітня 2016 р.: збірка тез доповідей. – Київ, 2016. – С.246.

30. Фридман Р.А. Технология косметики. М.:Пищевая промышленность,1984. - 487с.
31. Handbook of cosmetic science and technology. – Information health eave.USA.- 2009. – 877 p.
32. Tadros Th.F. Emulsion Science and Technology ISBN: 978-3-527-32525-2 Hardcover, 344 pages, March 2009.
33. Самуйлова Л.В. Косметическая химия учебн. издание в 2 частях, часть I Ингредиенты / Самуйлова Л.В., Пучкова Т.В.- М.: Школа косметических химиков.-2005.-336с.
34. Крисенко О.В., Скляр Т.В., Вінніков А.І. Мікробіологічні аспекти пробіотичних препаратів. Вісник Дніпропетровського університету. Серія «Біологія. Екологія». 2010. Т. 2, Вип. 18. С. 25–33.
35. Mielle de Vrese, J. Schrezenme A Probiotics, prebiotics and synbiotic. Food Biotechnology: Advances in Biochemical Engineering. Biotechnology. 2008. V. 111/ P. 1–66.
36. МУ 1.3.2411-08. Биологическая безопасность при глубинном аппаратном культивировании микроорганизмов I - II групп патогенности. [Чинний від 2008 – 09 - 01]. Москва, 2012. 15 с. (Інформація та документація).
37. Данилов І.П., Самойленко С.І. Апарати мікробіологічної промисловості: навчальний посібник. Харків: НТУУ «ХПІ», 2008. 272 с.
38. Anandharaj M., Rani R. P., Swain M. R. Production of High-Quality Probiotics by Fermentation. Microbial Functional foods and Nutraceuticals. 2017. P. 235—266.
39. Anandharaj M., Rani R. P., Swain M. R. Production of High-Quality Probiotics by Fermentation. Microbial Functional foods and Nutraceuticals. 2017. P. 235—266.
40. Барышников Н. А., Беяков Г. В., Таирова А. А., Филиппов А. Н. Фильтрация суспензии через пористую среду с учетом гравитации. Мембраны и мембранные технологии. 2016. Т. 6, № 1. С. 92—98.
41. Флотация. URL: <https://medic.studio/biotehnologii/flotatsiya-70593.html> (дата звернення 17.02.2020).

42. Черевко О. І, Поперечний А. М. Процеси і апарати харчових виробництв: підручник / О. І. Черевко, А. М. Поперечний. 2-е видання, доп. та випр. Х.: Світ Книг, 2014. 495 с.

43. Doran P. M. Unit Operations. Bioprocess Engineering Principles. 2013. P. 445—595.

44. Комментарии к руководству Европейского союза по надлежащей практике производства лекарственных средств для человека и применения в ветеринарии / под ред. С.Н.Быковского, И.А.Василенко, С.В.Максимова. – М.: Издательство «Перо», 2014. – 488 с.

45. Brondani G. E. Chemical sterilization of culture medium: a low cost alternative to in vitro establishment of plants. / G. E. Brondani, T. Bergonci, A. N. Gonçalves. // Scientia Forestalis. – 2013. – №41. – P. 257–264.

46. Preparation and Chemistry of the Artificial Algal Culture Medium Aquil / [N. M. Price, G. I. Harrison, J. G. Hering etc]. // Biological Oceanography. – 1989. – №6. – P. 443–461.

47. Teixeira S. L. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior / S. L. Teixeira. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2006. – №86. – С. 375–378.

48. Волошина І.М., Бойко Т.О., Матвієнко В.В. Косметичні засоби з наночастками металів // 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. 264-265.

49. Волошина І.Н., Красинько В.О., Бойко Т., Лыч И.В., Шкотова Л.В. Бактериоцины синтезируемые лактобактериями // Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю Київського національного університету технологій та дизайну та кафедри біотехнології, шкіри та хутра «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія» (14-15 травня 2020 р., м. Київ, КНУТД) – с. 40.

50. Бойко Т.О., Драгунов Є.П., Грецький І.О., Жолобак Н.М. Дослідження впливу сполук церію в умовах електромагнітного випромінювання на виживаність дріждів *Saccharomyces cerevisiae* // Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю Київського національного університету технологій та дизайну та кафедри біотехнології, шкіри та хутра «Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія» (14-15 травня 2020 р., м. Київ, КНУТД) – с. 66.

51. Волошина И.Н., Красинько В.О., Бойко Т.О., Лыч И.В., Шкотова Л.В. Бактериоцины синтезируемые *Lactobacillus*. Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія: колективна монографія / за заг. ред. О.Р. Мокроусової. Київ: Світ Успіху, 2020. С.158-177.

52. Волошина И.Н., Шидловская О.А., Бойко Т.А. Использование *Saccharomyces* в животноводстве Біотехнологія: звершення та надії: збірник тез VIII Міжнародної науково-практичної онлайн конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (15 листопада 2019 року, м. Київ). – с. 123-124.

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

№114

Цим засвідчується, що
 This is to certify that

Бойко Т.

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 НаУФарм,
 проф.
 Rector of NaUPharm,
 prof.

Алла КОТВИЦЬКА
 Alla KOTVITSKA



**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**

5. Rajoka M. Sh. R., Mehwish 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, грибова 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 ворування шкірного сала. Виробники засобів інтимної гігієни з

НЧ срібла і міді зазначають, що ці засоби прискорюють загоєння дрібних ран та пригнічують розвиток інфекцій [2]. Також використовують зубні пасти з НЧ золота, що володіють антибактеріальним ефектом забезпечують швидше загоєння ран ротової порожнини [3].

Висновки. Однак, дослідження профілю токсичності нанопродуктів викликали побоювання, пов'язані з їх використанням у косметичній [3]. Вони можуть потрапляти в організм людини різними шляхами, такими як вдихання, ковтання та проникнення через шкіру, і можуть становити потенційну небезпеку для здоров'я людини. Особливу увагу потрібно приділяти концентрації НЧ, що вносять у косметичні засоби. Найвищу проникність кремів з НЧ срібла та золота підтверджено в концентрації 110-200 мг/кг. Ця концентрація викликає занепокоєння, тому що НЧ металів можуть токсично впливати на клітини живих організмів через косметичні засоби [3].

Список літератури

1. Contado C., Nanomaterials in consumer products: a challenging analytical problem. *Front. Chem.* 2015, 3:48. doi.org/10.3389/fchem.2015.00048.
2. Parveen A., Kulkarni N., Yalagatti M., Abbaraju V., Deshpande R. In vivo efficacy of biocompatible silver nanoparticles cream for empirical wound healing. *J. of Tissue Viability*, 2018, 27 (4), 257-261. doi.org/10.1016/j.jtv.2018.08.007 рани
3. Pulit-Prociak J., Grabowska A., Chwastowski J., Majka T. M., Banach M. Safety of the application of nanosilver and nanogold in topical cosmetic preparations. *Colloid Surf. B Biointerfaces*, 2019, 183, 110416. doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110416.

Оптимізація біосинтезу екзополісахариду етаполану під час культивування

Acinetobacter sp. ІМВ В-7005 на суміші етанолу та соняшникової олії

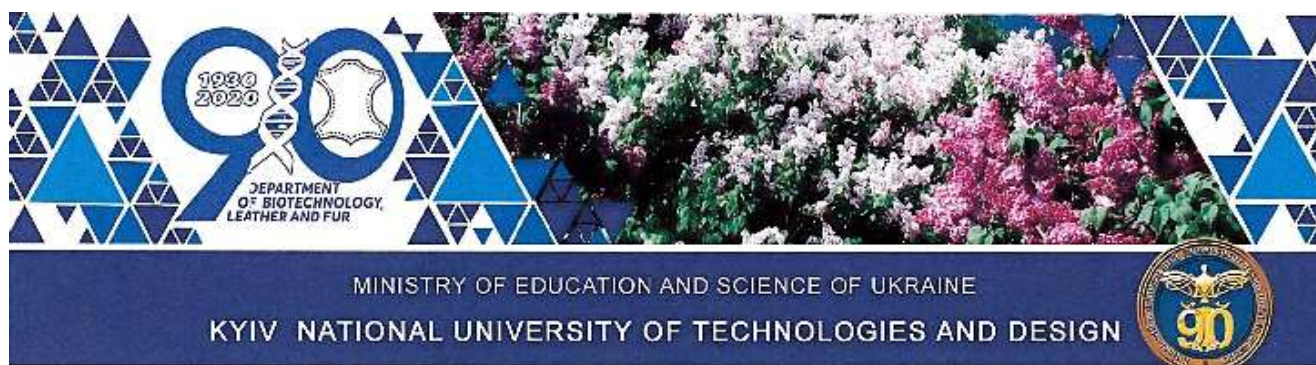
Вороненко А.А., Пирог Т.П.

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

voronenkoandr@gmail.com

Вступ. При розробці технологій мікробного синтезу одним із ключових показників є концентрація цільового продукту, що досягає максимального рівня за оптимальних умов культивування продуцента [1].

У попередніх дослідженнях продемонстровано можливість синтезу мікробного екзополісахариду (ЕПС) етаполану (продуцент *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005) на суміші етанолу та рафінованої соняшникової олії [4]. Недоліком даної технології було значне зниження показників синтезу ЕПС при підвищенні концентрацій субстратів у суміші понад 1 % етанолу та 0,3 % олії внаслідок зниження рН культуральної рідини з 7,2 до 5,5 (оптимум



CERTIFICATE

Tetiana Boiko

for participation in the International scientific-practical conference devoted to 90th Anniversary of Kyiv National University of Technologies and Design and the Department of Biotechnology, Leather and Fur

«Advanced materials and innovative technologies:
Biotechnology, Applied Chemistry and Ecology»

OLENA MOKROUSOVA
Head of department of BLF, prof.

IVAN GRYSHCENKO
Rector of KNUTD, prof.

Ukraine, Kyiv
May 14-15, 2020



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Київський національний університет технологій та дизайну
Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

**«ПЕРСПЕКТИВНІ МАТЕРІАЛИ
ТА ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ:
БІОТЕХНОЛОГІЯ, ПРИКЛАДНА ХІМІЯ
ТА ЕКОЛОГІЯ»**

ЗБІРНИК ТЕЗ

Міжнародної науково-практичної конференції,
присвяченої 90-річчю
Київського національного університету технологій та дизайну
та кафедри біотехнології, шкіри та хутра

*УКРАЇНА, КИЇВ, КНУТД
14-15 ТРАВНЯ 2020 р.*

Секція 4

**БИОМАТЕРИАЛИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ /
BIOMATERIALS AND BIOTECHNOLOGIES**

23	THE INFLUENCE OF SURFACTANTS IN THE CONTEXT OF NOVEL BIOTECHNOLOGIES FOR ELASTIN MEMBRANE PREPARATION Simion D., Gaidau C., Paun G., Berechet D., Niculescu O., Stanca M.	33
24	ALKALINE AND ENZYMATIC KERATIN HYDROLYSATES OBTAINED FROM SHEEP WOOL Berechet M. D., Gaidau C., Stanca M., Simion D., Alexe C., Gurau D., Rapa M., Becheritu M.	34
25	EFFECT OF CO-CULTURING YEAST STRAINS ON CELL DENSITY Zelena L., Nevmyvaka S., Hretskyi I.	35
26	CONTINUOUS CULTIVATION SYSTEM PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM FOR BIOLOGICAL MONITORING OF THE GEOMAGNETIC FIELD Sydorenko D., Hretskyi I.	36
27	EUROPEAN TOAD GLANDULAR SECRETIONS COMPONENTS INDUCE PLATELET ADHESION AND AGGREGATION Udovychenko I.V., Halenova T.I., Savchuk O.M.	37
28	COMPARISON OF IN VITRO ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SKIN GLAND SECRETIONS FROM SIX AMPHIBIANS LIVING ON THE TERRITORY OF UKRAINE Kyriachenko Y.S., Halenova T.I., Raksha N.G.	38
29	ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И КОЛЛОИДНО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОЛЛАГЕНОВОЙ МАТРИЦЫ Шалбуев Дм.В., Тумурова Т.Б.	39
30	БАКТЕРИОЦИНЫ СИНТЕЗИРУЕМЫЕ ЛАКТОБАКТЕРИЯМИ Волощина И.Н., Красинько В.О., Бойко Т.О., Лыч И.В., Шкотова Л.В. ..	40
31	БИОСИНТЕЗ МИКРОБНОГО ЭКЗОПОЛИСАХАРИДА ЭТАПОЛАНА НА СМЕСИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИ ИЗБЫТОЧНЫХ СУБСТРАТОВ Ярош М.Б., Вороненко А.А., Пирог Т.П.	41
32	ТИОСУЛЬФОНАТИ - ШЛЯХИ ЇХ СИНТЕЗУ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ Монька Н.Я., Василюк С.В., Баранович Д.Б., Стадницька Н.Є., Парашин Ж.Д., Хоміцька Г.М., Шиян Г.Б., Комаровська-Порохнявеш О.З., Гавриляк В.В., Швед О.В., Новіков В.П., Лубенеш В.І.	42
33	ІННОВАЦІЙНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН В ПРИРОДІ Петріна Р.О., Загородня Д.С., Суберляк С.А., Князєва К.С., Гавриляк В.В.	43
34	ІННОВАЦІЙНІ НАНОТЕХНОЛОГІЇ В КОСМЕТИЦІ Гавриляк В.В., Федорова О.В., Петріна Р.О.	44
35	ПОШУК АЛЬТЕРНАТИВНИХ ДЖЕРЕЛ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ ДЛЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ Бурлаченко К.М., Ракша Н.Г., Масєвська Т.М., Савчук О.М.	45

50	ІНТЕРФЕРОНИ – ПЕРСПЕКТИВНІ ОБ’ЄКТИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ РОЗРОБОК ДЛЯ СТВОРЕННЯ АНТИВІРУСНИХ ТА ПРОТИПУХЛИННИХ ПРЕПАРАТІВ Зайченко А.В., Жолобак Н.М.	60
51	ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНЕ БІОТЕСТУВАННЯ РАДІОЧАСТОТНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛЮМІНЕСЦЕНТНИХ БАКТЕРІЙ PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM Кондратюк О.О., Сидоренко Д.В., Грецький І.О.	61
52	БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ VIFIDOBACTERIUM Васильєва К.О., Волошина І.М.	62
53	ВПЛИВ АЦИЛГОМОСЕРИН ЛАКТОНІВ НА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ ПШЕНИЦІ Мельник М.І., Барабаш М.О., Юнгін О.С.	63
54	БІОЛОГІЧНІ СПОСОБИ ОЧИЩЕННЯ ПРОМИСЛОВИХ СТІЧНИХ ВОД Вовкодав Ю.І., Ребрикова П.А., Мокроусова О.Р.	64
55	МІКРОБНИЙ СИНТЕЗ ЛІЗОЦИМУ Мариняко А.І., Шидловська О.А., Волошина І.М.	65
56	ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СПОЛУК ЦЕРІУ В УМОВАХ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ВИЖИВАНІСТЬ ДРІЖДІВ SACCCHAROMYCES CEREVISIAE Бойко Т.О., Драгунов Є.П., Грецький І.О., Жолобак Н.М.	66
57	БІОАКТИВНІ ПЕПТИДИ МОЛОЗИВА ЯК СКЛАДОВІ КОМПОНЕНТИ СУМІШІ ДЛЯ ДІТЕЙ Лич І.В., Моцар А., Волошина І.М.	67

Секція 5

ПРОМИСЛОВА ЕКОЛОГІЯ / INDUSTRIAL ECOLOGY

58	АДСОРБЦІЙНЕ ВИЛУЧЕННЯ ІОНІВ ХРОМУ (III) БЕНТОНІТОВИМИ ГЛИНАМИ Воротнюк О., Чорна О., Сакалова Г.В., Васи́лінч Т.М.	68
59	СУЧАСНІ МЕТОДИ ОЧИЩЕННЯ СТІЧНИХ ВОД ВИРОБНИЦТВ МОЛОЧНОЇ ПРОДУКЦІЇ Мазур І.В., Саблій Л.А.	69
60	ОСОБЛИВОСТІ ОЧИСТКИ СТІЧНИХ ВОД ПРОМИСЛОВИХ ПІДПРИЄМСТВ Кокілько Ю.С., Ліасова Ю.В.	70
61	ШЛЯХИ ВТОРИННОЇ ПЕРЕРОБКИ ПОБІЧНИХ ПРОДУКТІВ ШКІРЯНОГО ВИРОБНИЦТВА Горбенко А.В., Охмат О.А.	71

УДК 606.61:579.864: [579.2/6+612.392.98]

БАКТЕРИОЦИНЫ СИНТЕЗИРУЕМЫЕ ЛАКТОБАКТЕРИЯМИ

Волошина И.Н.^{1,2}, Красинько В.О.², Бойко Т.О.¹, Лыч И.В.², Шкотова Л.В.³

¹Киевский национальный университет технологий и дизайна, г. Киев, Украина

²Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

³Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, г. Киев, Украина
wirn@ukr.net

Одним из современных направлений поиска препаратов с антимикробной активностью является получение и использование бактериоцинов. У большинства молочнокислых бактерий выявлена способность к их синтезу [1].

Бактериоцины лактобактерий условно разделяют на три класса: I класс – лантибиотики (содержат лантионин и является пептидами с молекулярной массой менее 5 кДа), II класс – немодифицированные бактериоцины, которые также называются нелантибиотики (термостойкие пептиды, которые не содержат лантионин и имеют молекулярную массу меньшую, чем 10 кДа) [2] и III класс включает в себя мало изученную группу термолabile белков с молекулярной массой более 30 кДа [2].

В настоящее время ведутся активные исследования механизмов антимикробного действия бактериоцинов. Установлено, что бактериоцины лактобактерий содержат белковые компоненты, которые фиксируются на специфических клеточных рецепторах клеточной мишеней и нарушают процессы транспорта различных катионов через клеточную мембрану микроорганизмов [1]. Показано, что большинство бактериоцинов обладают широким спектром антимикробной активности против грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том числе против *Listeria* и *Pseudomonas*. Значительная часть бактериоцинов характеризуется значительной термостабильностью и активностью в широком диапазоне pH, а также стойкостью к действию желчных кислот [1, 3].

Наиболее перспективным источником получения бактериоцинов являются лактобактерии – представители нормальной микрофлоры человека, учитывая безопасность штаммов, которые имеют также пробиотическое значение.

В условиях распространяющейся резистентности патогенных микроорганизмов к антибиотикам одним из современных направлений поиска препаратов с антимикробной активностью является использование бактериоцинов – веществ белково-пептидной природы, обладающих широким спектром антимикробного действия.

Бактериоцины молочнокислых бактерий могут быть выделены из различных биотопов человека, а также различных пищевых ферментированных и кисломолочных продуктов.

Перспективными направлениями получения бактериоцинов лактобактерий являются этапы выделение микробных культур из природных источников, скрининг наиболее активных продуцентов, экспериментальное повышение активности продуцентов, включая классические методы мутагенеза и генно-инженерные манипуляции.

Список использованной литературы

1. Voloshyna I.M., Shkotova L.V., Skorokhod S.O., Appolonova I.Ye., Zholobak N.M. Lactobacillus bacteria: biological and therapeutic properties // Mikrobiol. Z. 2019; 81(6):131-146. Ukrainian. doi: <https://doi.org/10.15407/mikrobiolj81.06.131>.
2. Diep D., Skaugen M., Salehian Z. et al. Common mechanisms of target cell recognition and immunity for class II bacteriocins. J. Applied and Environmental Microbiology. 2007; 104(7):447-455.
3. Balciunas E. M., Castillo Martinez F. A., Todorov S.D., de Melo Franco B. D. G., Converti A., Oliveira R. P. de S. Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. Food Control. 2013; 32(1): 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>.

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СПОЛУК ЦЕРІУ В УМОВАХ
ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ВИЖИВАНІСТЬ ДРІЖДІВ
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Бойко Т.О.¹, Драгунов Є.П.¹, Греський І.О.^{1,2}, Жолобак Н.М.^{1,2}

¹Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, Україна

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, м. Київ, Україна
ihorhrejskiy@gmail.com

У зв'язку з інтенсивним розвитком мобільних засобів комунікації вивчення наслідків впливу електромагнітного випромінювання (ЕМВ) на навколишню біоту є надзвичайно важливим. Класичним модельним об'єктом таких досліджень є еукаріотичні мікроорганізми – дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*. Вплив енергії ЕМВ викликає ряд змін у природних мікробних асоціаціях, а присутність в них рідкоземельних елементів може суттєво змінювати наслідки такого впливу. Саме тому метою роботи було визначення вкладу сполук церію у відповідь *S.cerevisiae* на короткочасне ЕМВ.

Дослідження було проведено на двох штаммах модельних еукаріотичних мікроорганізмів – дріжджах *S.cerevisiae* УКМ Y-517 та Y-2519 з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. До 18 год суспензії *S. cerevisiae* УКМ Y-517 (1×10^6 мікробних клітин/мл) та Y-2519 (1×10^5 мікробних клітин/мл) вносили наночастинки діоксиду церію (CND, синтезовані О.Б.Щербаковим) чи сіль CeCl_3 (Sigma, USA) в концентрації $C = 1$ мМ. Як джерело ЕМВ було використано апарат для СМХ-терапії "Луч-11" з потужністю опромінення 15 Вт на частоті 2450 МГц. Через 30 хв після опромінення проводили висів дріжджів та через 72 год визначали кількість живих клітин *S. cerevisiae* як у неопромінених, так і у опромінених зразках.

Результати, отримані на однодобовій культурі дріжджів, показали, що у порівнянні з неопроміненими зразками кількість життєздатних клітин *S. cerevisiae* УКМ Y-517 після 15 хв впливу ЕМВ зменшувалась вдвічі, тоді як для штаму *S. cerevisiae* УКМ Y-2519 показано зменшення кількості живих клітин на ~30%. Внесення CND чи CeCl_3 у неопромінену культуру *S. cerevisiae* УКМ Y-517 на 50% пригнічувало кількість життєздатних клітин, тоді як за дії ЕМВ показано відсутність токсичної дії CND чи навпаки – збільшення кількості життєздатних клітин до рівня контрольних неопромінених в присутності CeCl_3 . Культура *S. cerevisiae* УКМ Y-2519 виявилась значно чутливішою до дії досліджених зразків церію: зниження кількості життєздатних клітин в присутності CND чи CeCl_3 показано як без опромінення, так і за дії ЕМВ на 20-70% та 50-70% відповідно.

Таким чином, з'ясовано, що за дії ЕМВ наявність сполук церію в середовищі або не впливає на життєздатність дикого штаму *S. cerevisiae* УКМ Y-517, або стимулює його ріст, тоді як високоспеціалізована культура *S. cerevisiae* УКМ Y-2519 на 20-70% втрачає свою життєздатність. Виявлені особливості зумовлені певними біохімічними змінами в процесі створення нових високопродуктивних штамів *S. cerevisiae* та потребують подальшого вивчення.

**ПЕРСПЕКТИВНІ МАТЕРІАЛИ
ТА ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ:
БІОТЕХНОЛОГІЯ, ПРИКЛАДНА
ХІМІЯ ТА ЕКОЛОГІЯ**

Колективна монографія

Київ
«Світ Успіху»
2020

УДК 60+54+675.6.01](02)
П27

*Рекомендовано до видання
Вченою радою Київського національного університету
технологій та дизайну МОН України
Протокол № 7 від 29.05.2020 р.*

Рецензенти:

Чумак Віталій Луквич — доктор хімічних наук, професор, завідувач кафедри хімії і хімічної технології Національного авіаційного університету.

Кузьмінський Євген Васильович — доктор хімічних наук, професор, завідувач кафедри екобіотехнології та біоенергетики Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського».

П27 Перспективні матеріали та інноваційні технології: біотехнологія, прикладна хімія та екологія : колективна монографія / за заг. ред. О. Р. Мокроусової. Київ : Світ Успіху, 2020. 492 с.

ISBN 978-617-7324-38-5

Колективна монографія відображає результати актуальних наукових досліджень, розроблень, апробацій та практичного застосування у галузі біотехнології, хімічної технології шкіри та хутра, екології та товарознавства шкіряно-хутрової продукції.

Розглянуто питання розроблення та створення нових речовин та матеріалів для хімічних і біотехнологій, удосконалення процесів перероблення сировини біогенного походження, започаткування принципів раціонального природокористування та ресурсозбереження у технологіях виробництва шкіри та хутра, екологічних аспектів виробництва різнофункціональних матеріалів, удосконалення методів очищення промислових стоків, розширення асортименту та підвищення якості натуральних і синтетичних шкір.

Колективна монографія рекомендується для студентів, аспірантів, дослідників, науковців та експертів, що спеціалізуються у галузі біотехнології, хімічної технології та екології.

ISBN 978-617-7324-38-5

© КНУТД, 2020
© Світ Успіху, 2020

1.8 Тіосульфонати: шляхи їх синтезу та перспективи застосування.....	116
Монька Н. Я., Василюк С. В., Баранович Д. Б., Стадницька Н. Є., Паращин Ж. Д., Хоміцька Г. М., Шиян Г. Б., Комаровська-Порохнявець О. З., Гавриляк В. В., Швед О. В., Мартирисян І. А., Бочарова О. В., Новіков В. П., Лубенець В. І.	
1.9 Біотехнологія калусної біомаси як метод збереження біорізноманіття лікарських рослин.....	137
Петріна Р. О., Загородня Д. С., Льків Б. В. В., Суверляк С. А., Князева К. С., Гавриляк В. В.	
1.10 Нанокосметика: плюси та мінуси	146
Гавриляк В. В., Федорова О. В., Петріна Р. О.	
1.11 Бактериоцины, синтезируемые <i>Lactobacillus</i>	158
Волошина І. Н., Красинько В. О., Бойко Т. О., Лыч І. В., Шкотова Л. В.	
1.12 Основні ресурси хітину і хітозану грибного походження...178	
Нікітіна О. О., Нікіфорова Д. О.	
1.13 Біоломінесцентне тестування та особливості тест-систем на основі люмінесцентних бактерій	188
Кондратюк О. О., Сидоренко Д. В., Грецький І. О.	
1.14 Сучасні біотехнологічні методи отримання колагену....	198
Шидловська О. А.	
1.15 Особливості виділення колагену біомедичного призначення зі шкур ссавців	212
Майстренко Л. А.	
1.16 Особливості функціонування колагену в процесі загоєння ран	224
Юнгін О. С.	
1.17 Біотехнологічні аспекти розробки вірусних вакцинних препаратів	232
Жолобак Н. М.	

1.11 БАКТЕРИОЦИНЫ, СИНТЕЗИРУЕМЫЕ *LACTOBACILLUS*

Волошина И. Н.^{1,2}, Красинько В. О.², Бойко Т. О.¹,
Лыч И. В.², Шкотова Л. В.³

¹ Киевский национальный университет технологий дизайна, Украина

² Национальный университет пищевых технологий, Украина

³ Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
wirn@ukr.net

*В обзоре приведены литературные данные относительно характеристики бактерий семейства *Lactobacillus* и их способности синтезировать различные бактериоцины. Показана классификация бактериоцинов лактобактерий, которая включает три класса: I класс — лантибиотики (содержат лантионин и являются пептидами с молекулярной массой менее 5 кДа), II класс — немодифицированные бактериоцины, которые также называют нелантибиотики (термостойкие пептиды, не содержащие лантионин и имеющие молекулярную массу меньше 10 кДа) и III класс — мало изученная группа термолабильных белков с молекулярной массой более 30 кДа.*

*Показано, что *Lactobacillus* синтезируют очень широкий спектр бактериоцинов, которые обладают многообразием действия и способны ингибировать рост многочисленных видов условно-патогенной грамположительной микрофлоры.*

Также в статье приведены примеры бактериоцинов лактобактерий, которые выделены из пищевых продуктов (ферментированного мяса, рыбы, чайного гриба, козьего молока, кумыса и т.д.) и различных биотопов человека (микробиоты материнского молока, кишечного тракта и влагалищного секрета). Показана перспективность широкого применения синтезированных лактобактериями бактериоцинов в пищевой и фармацевтической отраслях промышленности.

Ключевые слова: бактериоцины, *Lactobacillus*, лактококки, молочнокислые бактерии, пробиотики

На фармацевтическом рынке существует множество разнообразных лекарственных препаратов, однако тенденция к увеличению заболеваемости не снижается. Это связано

с влиянием различных экзо- и эндогенных факторов, которые негативно сказываются на нормальном функционировании основных систем организма человека. Прежде всего, это влияние неблагоприятных экологических условий окружающей среды, несбалансированное питание, дефицит витаминов и микроэлементов, увеличение количества стрессовых ситуаций, а также — массовое неконтролируемое применение химиотерапевтических и антибиотических препаратов. В итоге, совокупность перечисленных факторов приводит к резистентности патогенных микроорганизмов к антибиотикам, что вызывает необходимость разработки новых, действенных, антимикробных препаратов. Одним из современных направлений поиска препаратов с антимикробной активностью является использование бактериоцинов [1, 42].

Бактериоцины представляют собой продуцируемые бактериями пептиды/белки, синтезированные на рибосомах. Эти соединения обладают антибактериальной активностью в отношении других бактерий, которые обычно тесно связаны со штаммом-продуцентом [17].

Бактериоцины синтезируются различными микроорганизмами и уже нашли широкое применение в медицине, ветеринарии и пищевых технологиях в качестве лечебного средства, а также пищевого консерванта для борьбы с различными инфекционными и пищевыми патогенами.

Некоторые антибиотики оказывают вредное побочное действие на здоровье человека, в то время как бактериоцины имеют низкую цитотоксичность или не имеют ее вообще [1, 9, 17], главным образом потому, что тестируемые бактериоцины продуцировались молочнокислыми бактериями, которые долгое время использовались в ферментации и молочных продуктах в качестве биоконсервантов, а также являются одним из факторов гиперколонизации пищеварительного тракта здорового человека нормальной микробиотой. Полезные свойства бактериоцинов могут позволить им заменять антибиотики или стимулировать действие последних, а также могут снизить скорость появления антибиотикорезистентных штаммов.

Дружественные бактерии человеческой микробиоты могут быть мобилизованы для производства бактериоцинов и предотвращения бактериальной инфекции на внешней поверхности человеческого эпителия желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [9, 17, 36].

Характеристика *Lactobacillus*. Молочнокислые бактерии (МКБ) — разнообразная и чрезвычайно практически ценная группа микроорганизмов, которые, не придерживаясь строгой таксономической классификации, объединены на основе их общих свойств и имеют общую особенность — способность синтезировать молочную кислоту (МК) как главный или единственный продукт ферментации [42].

Бактерии рода *Lactobacillus* локализуются почти во всех биотопах пищеварительного тракта, и потому их относят к основной микробиоте человека [8, 45]. Род *Lactobacillus* насчитывает несколько сотен видов. На основе анализа последовательности 16S рРНК лактобактерии филогенетически разделены на семь групп: *Lactobacillus buchneri* (bu); *Lactobacillus casei* (ca); *Lactobacillus delbrueckii* (de); *Lactobacillus plantarum* (pl); *Lactobacillus reuteri* (re); *Lactobacillus sakei* (sa) и *Lactobacillus salivarius* (sl). Традиционно, в зависимости от путей ферментации углеводов, бактерии рода *Lactobacillus* принято делить на три группы: 1) облигатные гомоферментативные; 2) факультативные гетероферментативные; 3) облигатные гетероферментативные [7].

Lactobacillus являются грамположительными неспорообразующими бактериями, облигатными или факультативными анаэробами с высокой ферментативной активностью, которые невероятно разнообразны по форме и размерам. Они могут иметь форму от коротких до длинных нитевидных палочек, располагаются одиночно, парами или короткими цепочками. В процессе своего нормального метаболизма *Lactobacillus* способны образовывать молочную кислоту, перекись водорода, продуцировать лизоцим и вещества с антибиотической активностью: реутерин, плантарицин, лактоцидин, лактолин [19]. Гетероферментативные виды *Lactobacillus* могут также про-

изводить молочную, уксусную, масляную, ряд других кислот, а также углекислый газ [33, 36].

Lactobacillus обладают разнообразным спектром биологических активностей, например, помогают стимулировать секрецию желудочного сока и ферментов, необходимых для повышения эффективности процессов пищеварения, способны уменьшать побочные эффекты антибиотиков, способствовать расщеплению солей желчных кислот и нормализации липидного обмена. Другой важной их характеристикой является способность защищать клетки эпителия от повреждения и усиливать регенерацию слизистой оболочки кишечника, смягчать воспалительные процессы путем нормализации общего состава микрофлоры [22, 24].

У большинства молочнокислых бактерий выявлена способность синтезировать антибиотические вещества белково-пептидной природы, которые уничтожают или задерживают рост родственных видов и/или штаммов бактерий, а также обладают широким спектром антибактериального действия и потому называемых бактериоцинами. В основном это термостабильные высокомолекулярные вещества, характеризующиеся молекулярной массой до 10–30 кДа. Их биосинтез кодируется особыми плазидами и происходит на рибосомах [13, 25]. Представляется интересным подробнее рассмотреть классификацию и свойства бактериоцинов лактобактерий.

Классификация бактериоцинов. Бактериоцины условно разделяют на три класса: I класс — лантибиотики, II класс — немодифицированные бактериоцины, которые также называют нелантибиотики [12, 25, 27], и III класс включает в себя группу термолabile белков с молекулярной массой более 30 кДа [38].

Бактериоцины I класса (содержат лантионин) являются пептидами с молекулярной массой менее 5 кДа. В их состав входят такие аминокислоты, как лантионин (Lan), α -метиллантионин (MeLan), дегидроаланин и дегидробутирин. Данный класс, согласно химического строения и антимикробных свойств, разделяют на лантибиотики типа А и В [10, 25]. Лантибиотики

типа А — это малые катионные пептиды, проявляют антибактериальную активность путем формирования пор в бактериальных мембранах. Представители типа В — малые анионные или нейтральные пептиды глобулярной формы. Антимикробные свойства проявляют за счет ингибирования специфических ферментов.

Бактериоцины II класса — термостойкие пептиды, которые не содержат лантионин и имеют молекулярную массу меньшую, чем 10 кДа [5, 10, 25]. Представители этой группы проявляют антилистерийную активность и способны разрушать целостность микробной мембраны, что приводит к ионному дисбалансу и потере органического фосфора клеток-мишеней. Представители II класса делятся на четыре подгруппы. Класс II a — пептидицинообразные бактериоцины, они содержат N-терминальную последовательность Tug-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys (TGAGV). Класс II b — двухпептидные бактериоцины, активность которых зависит от двух различных пептидов. Эти два пептида могут проявлять свою активность независимо друг от друга, но проявляют синергизм при совместном функционировании. Класс II c — циклические бактериоцины и класс II d — немодифицированные линейные непептидицинообразные бактериоцины [5, 10, 25].

Бактериоцины III класса включают в себя группу термолабильных белков с молекулярной массой большей, чем 30 кДа. К сожалению, их свойства изучены недостаточно [25, 38, 39].

Многообразие бактериоцинов *Lactobacillus*. *Lactobacillus* синтезируют очень широкий спектр бактериоцинов. Эти вещества обладают многообразием действия и ингибируют рост многочисленных видов условно-патогенной грамположительной микрофлоры, например *Listeria monocytogenes*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus* spp. и др. Синтез активных бактериоцинов является одним из факторов, который обеспечивает высокие колонизационные свойства и регулирующую роль лактобактерии в поддержании физиологического микробного баланса в биоценозах [13].

Большинство бактериоцинов представляют собой небольшие молекулы с амфифильными характеристиками и высоки-

ми значениями изоэлектрических точек. Клетки-продуценты устойчивы к бактериоцинам, которые они продуцируют, благодаря синтезу белков специфического иммунитета [11, 21].

В настоящее время ведутся активные исследования механизмов антимикробного действия бактериоцинов. Установлено, что бактериоцины лактобактерий содержат белковые компоненты, которые фиксируются на специфических клеточных рецепторах клеток-мишеней и нарушают процессы транспорта различных катионов через клеточную мембрану микроорганизмов. Наиболее изученными бактериоцинами *Lactobacillus* являются амиловорин 471 (*L. amylovorus* 471119); ацидоцин В (*L. acidophilus*); баварицин MN (*L. bavaricus* MN); казеинин (*L. casei*); курвацин FS47 и А (*L. curvatus* FS47 та *L. curvatus* LTH1174); лактоцин S (*L. sake* L 45); плантарицин А и С (*L. plantarum*); плантацин 154 (*L. plantarum* LTF154); сакацин 674 (*L. sake* Lb674) и др. [11]. В литературе также имеется информация про новые бактериоцины *Lactobacillus*, а именно саливарицин mmaye 1 (*L. salivarius*) и Bac F1 и Bac F2 (*L. plantarum* subsp. *argenteratensis* SJ33) [1, 44].

Бактериоцины *Lactobacillus*, выделенные из пищевых продуктов. Благодаря своим уникальным свойствам бактериоцины широко используют в пищевой промышленности. Их применяют в частично очищенном или очищенном концентрированном виде в качестве консервантов. До недавнего времени бактериоцинами, которые лицензированы как консерванты пищевых продуктов, являлись низин и педиоцин РА-1 [41]. Важно отметить, что использование бактериоцинов снижает затраты на производство и сохранность пищевых продуктов, не снижая пищевую и биологическую ценность последних.

Молочнокислые бактерии (МКБ) важны в технологиях производства ферментированных пищевых продуктов, где их роль заключается в предотвращении развития патогенных микроорганизмов и порчи в целом, путем подкисления среды и активного синтеза противомикробных соединений, что способствует не только повышению качества, но и безопасности [3]. Молочнокислые бактерии, особенно *Lactobacillus sakei* и *Lactobacillus curvatus*,

являются частью микробиоты многих видов ферментированных мясных продуктов. Эти виды хорошо адаптированы к мясной среде, обеспечивая улучшенный вкус и ускоренное созревание ферментированных мясных продуктов [15, 26].

Бактериоцины, продуцируемые молочнокислыми бактериями, хорошо известны своей активностью против *Listeria monocytogenes*, распространенного грамположительного патогена, который в последние десятилетия вызвал несколько вспышек заболеваний, связанных с пищевыми продуктами. В одной из классификаций бактериоцинов существует специальный класс, к которому относят бактериоцины с активностью против *Listeria* [21]. Борьба с *L. monocytogenes* в пищевых продуктах представляет собой серьезную проблему из-за способности данного микроорганизма сохранять свою жизнеспособность при низких значениях pH, повышенной концентрации поваренной соли и присутствии нитритов, которые при производстве сухих ферментированных продуктов являются губительными для большинства других патогенных микроорганизмов. Из-за этого бактериоциногенные молочнокислые бактерии и их бактериоцины полезны в качестве консервантов в ферментированных продуктах их можно использовать в качестве технологических альтернатив химическим консервантам, удовлетворяя спрос на продукты с меньшим количеством добавок или без них [15].

В последние годы спрос на «натуральные» продукты увеличился, поскольку потребители предпочитают этот тип продуктов по сравнению с произведенными с добавлением химических консервантов. Критические проблемы, связанные с натуральными продуктами, заключаются в том, как сохранить их безопасность и качество, а также как продлить срок их хранения. Огромное внимание в связи с этим уделяется использованию антагонистических характеристик лактобактерий. Показано, что *Lactobacillus plantarum* SLG10, выделенный из чайного гриба (традиционный ферментированный напиток в Южном Китае), продуцировал бактериоцин SLG10, который проявлял антибактериальную активность по отношению как к грамположительным, так и к грамотрицательным бактериям, в том числе

к штаммам со множественной лекарственной устойчивостью. Бактериоцин SLG10 характеризовался термостабильностью, рН-толерантностью и был чувствителен к большинству протеаз, но не к трипсину или пепсину. Исследование антибактериального механизма показало, что бактериоцин SLG10 увеличивает проницаемость клеточной мембраны, вызывая высвобождение ионов калия и может ингибировать образование биопленок [30].

В последнее время в молочных продуктах обнаруживают большое количество устойчивых к антибиотикам бактерий, таких как *Salmonella enterica* в сухом молочном питании, *Staphylococcus aureus* в сыром и пастеризованном молоке, а так же в мороженом и устойчивый к ванкомицину *Enterococcus faecium* в сырах [15, 31]. В литературе встречается информация, что некоторые бактериоцины, продуцируемые молочнокислыми бактериями, могут ингибировать пищевые патогены с множественной лекарственной устойчивостью, что выгодно отличает их от других зарегистрированных бактериоцинов, которые имеют достаточно узкий ингибирующий спектр [24, 26].

Исследователи уделяют большое внимание изучению особенностей продуцирования натуральных консервантов молочнокислыми бактериями. Так, показано, что биосинтез бактериоцинов *L. curvatus* MBSa2 и MBSa3 на среде MRS начинается в фазе раннего экспоненциального роста (4 ч культивирования). В условиях культивирования при 37 °С через 12 ч количество продуцируемых бактериоцинов начало уменьшаться для обоих штаммов. Максимальное накопление бактериоцина MBSa2 (12800 е.а./мл) наблюдали через 8 ч при 25 и 37 °С и 6 ч при 30 °С. Это указывает на первичную кинетику метаболита, также наблюдаемую для других бактериоцинов, таких как сакацин К (продуцент *L. sakei* CTC494), сакацин Р (*L. sakei* CCUG 42687), курвацин А (*L. curvatus* LTH 1174), curvaticin L442 (*L. curvatus* L422) [2, 4].

Литературные данные свидетельствуют о том, что многие бактериоцины являются термостабильными, т.к. сохраняют свои свойства после термической обработки (100–120 °С, 15 мин) [4, 44, 46]. Это свойство указывает на то, что их могут

использовать в продуктах, которые подвергают термической обработке, не снижая их консервирующие характеристики. Обычно низкомолекулярные бактериоцины являются термостабильными, поскольку они представляют собой небольшие полипептиды. Эти свойства описаны для бактериоцинов MBSa2 и MBSa3 (*L. curvatus*), сакацина М и Р (*L. sakei*), педиоцина L50 (*Pediococcus pentosaceus*), ацидоцина D20079 (*L. acidophilus*), плантарицина LP31 (*L. plantarum*) [4].

Принимая во внимание уникальные свойства и все более расширяющиеся перспективы использования бактериоцинов молочнокислых бактерий в пищевых технологиях, исследователи активно занимаются поиском и выделением продуцентов этих биологически активных соединений из традиционных пищевых продуктов и сырья. Так, штамм *Lactobacillus crustorum*, выделенный из кумыса (Синьцзян, Китай), может продуцировать бактериоцин MN047 А [46]. Кумыс — традиционное кисло-молочное кобылье молоко, популярное в среднеазиатских степях, включая Китай, Монголию, Казахстан, Кыргызстан и некоторые регионы России. На протяжении веков кумыс считался не только напитком, но и функциональным продуктом питания для медицинских целей, таких как улучшение функционирования почек, желудочно-кишечного тракта, нервной системы и иммунной системы, а также помощь в лечении гепатита, хронических язв, туберкулеза и т. д. [46]. Кумыс обычно получают из кобыльего молока путем ферментирования его собственной естественной микробиотой, включающей молочнокислые бактерии и дрожжи. В кумысе были обнаружены различные штаммы *Lactobacillus*, в том числе *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. helveticus* и *L. acidophilus*, но только бактериоцин, продуцируемый *L. Plantarum*, был очищен и охарактеризован [26, 35, 42, 45].

Все больше исследователей занимаются всесторонним изучением свойств, выделенных бактериоцинов. Так, перспективным для дальнейшего практического использования представляется бактериоцин LF-BZ532, синтезируемый *Lactobacillus fermentum* BZ532. Этот штамм был выделен из китайского ферментированного зернового напитка (bozai) и идентифицирован с помощью

секвенирования 16s рРНК. Бактериоцин LF-BZ532 имеет молекулярную массу, равную 1105,563 Да [32]. Установлено, что данный бактериоцин владеет широким спектром антимикробной активности против грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том числе против *Listeria* и *Pseudomonas*. Уникальными свойствами описанного бактериоцина являются его значительная термостабильность с остаточной активностью 88,19 % и 56,98 % при 100 и 121 °С (30, 20 мин), соответственно. Кроме того, он характеризуется стабильностью в широком диапазоне рН (2–8), однако весьма чувствителен к действию протеолитических (протеиназа К, пепсин и трипсин) ферментов, что указывает на его пептидную природу. Исходя из вышесказанного, предполагается, что очищенный LF-BZ532 и его продуцирующий штамм *L. fermentum* BZ532 являются перспективными кандидатами для использования в качестве биоконсерванта в пищевой промышленности [32].

Выделенный из козьего молока штамм *Lactobacillus sakei* GM3 проявлял устойчивость к кислоте и желчи и проявлял антагонистическую активность в отношении пищевых патогенов. Бактериоцинообразование, наблюдаемое у *L. sakei* GM3, достигало максимума в стационарной фазе, через 18 ч культивирования [2, 3]. Исследование свойств бактериоцина GM3 показало, что он остается активным в широком диапазоне рН, температур и проявляет стойкость к органическим растворителям. В то же время бактериоцин GM3 проявляет чувствительность к некоторым протеолитическим ферментам. Было установлено, что молекулярная масса бактериоцина составляет 4,8 кДа. Исследование цитотоксичности на модели клеток линии HT29 показало максимальное ингибирование выживаемости ($45,60 \pm 0,5$ %) при концентрации 2240 а.е./мл. Полученные результаты свидетельствуют о том, что штам *L. sakei* GM3 имеет потенциал для использования в пищевой промышленности в качестве биоконсерванта [2].

Представляет интерес бактериоцин DY4-2, синтезируемый штаммом *Lactobacillus plantarum* DY4-2, который был выделен из рыбы-сабли (*Trichiurus lepturus*). Этот бактериоцин

максимально синтезируется в стационарной фазе после 24 ч инкубации. Молекулярная масса бактериоцина DY4-2 была определена как 1465 Да. Бактериоцин DY4-2 характеризовался значительной термостабильностью (30 мин при 121 °С) и сохранял активность в диапазоне pH 2,5–5,5, но был чувствителен к протеолитическим ферментам. Этот бактериоцин проявлял широкий спектр антимикробной активности против патогенных бактерий рыб, таких как *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas sobria* и *Listeria monocytogenes* [28, 30]. Добавление частично очищенного бактериоцина DY4-2 в филе палтуса уменьшило количество *P. fluorescens* на 2,7 логарифмические единицы при 4 °С в течение 12 дней. Кроме того, по сравнению с контролем в образцах, обработанных бактериоцином DY4-2, наблюдалось значительное снижение общего количества жизнеспособных микроорганизмов. Результаты этих исследований показали, что бактериоцин DY4-2 обладает потенциалом действовать в качестве биоконсерванта для морепродуктов [28].

Высоко оценивая перспективность биотехнологического получения бактериоцинов, исследователи проводят подбор субстратов для максимально экономически эффективного их биосинтеза. Так, сыворотка — основной побочный продукт, который получается после свертывания и удаления казеина при производстве сыра, является крупномасштабным отходом молочной промышленности [6, 42]. При сбросе в водоемы сыворотка слабо поддается биоразложению, снижая при этом уровень растворенного кислорода, что негативно сказывается на нормальных природных процессах самоочистки водных объектов, и создает реальный риск для жизни водных обитателей. Практика бесконтрольного сбрасывания сточных вод, содержащих сыворотку, привела ко многим экологическим проблемам: сильному загрязнению окружающей среды, влияющему на физико-химические характеристики почвы, что в свою очередь приводит к снижению урожайности. Таким образом, поиск дешевых методов утилизации сыворотки не снижает свою актуальность [6, 25].

Поскольку сыворотка сохраняет около 55 % всех питательных веществ молока, экономичной и выгодной альтернативой является ее использование в качестве субстрата для получения биологически активных веществ. Среди наиболее распространенных питательных веществ сыворотки — лактоза (75 %), растворимые белки (12–14 %), липиды и минеральные соли (1–10 %), которые необходимы для роста микроорганизмов, особенно для молочнокислых бактерий, которые широко используют в пищевой промышленности [6]. Хотя бактериоцины могут продуцироваться многими микроорганизмами, те, которые вырабатываются молочнокислыми бактериями, привлекают повышенное внимание, поскольку они считаются наиболее «безопасными» [3]. Вид *L. plantarum* может адаптироваться к различным нишам благодаря своей способности ферментировать широкий спектр углеводов [35]. В частности, описан штамм *L. plantarum* ST16Pa, способный активно развиваться на среде, в основе которой — сыворотка, продуцировать пептид с молекулярной массой 6,5 кДа, проявляющий антимикробную активность против многих различных пищевых патогенных бактерий, включая грамотрицательные [35].

Хотя сыворотка может поддерживать рост большинства молочнокислых бактерий, в ней не хватает азота и других питательных компонентов, часто требующих их экзогенного внесения для успешного биосинтеза бактериоцинов. Так, исследователи продемонстрировали способность штамма *L. plantarum* ST16 синтезировать бактериоцины с высокой антимикробной активностью в отношении нескольких микроорганизмов при культивировании на среде MRS. Однако при культивировании на сырной сыворотке, несмотря на накопление биомассы, этот штамм не продуцирует бактериоцин [35].

Бактериоцины *Lactobacillus*, выделенные от человека. Нормальная микробиота человеческого организма играет огромную роль в обеспечении его здоровья. Доказана исключительная роль симбиотических микроорганизмов человека в защите от патогенов, поддержании стойкого иммунитета, биосинтезе

жизненно важных соединений, таких как витамины, органические кислоты, аминокислоты и т. д. [18, 40].

Бактерии *Lactobacillus* являются типичными обитателями ЖКТ человека и животных [40, 42]. Микроорганизмы из числа нормальной микрофлоры человека являются одними из наиболее безопасных источников бактериоцинов. Именно эти бактериоцины вовлечены в механизмы антагонистической активности внутри человеческого организма, а также используются для поддержания его микрофлоры в состоянии динамического равновесия. Способность к выработке бактериоцинов является важной характеристикой пробиотических штаммов.

Согласно требованиям FAO / WHO (2002), пробиотические бактерии должны обладать высокой способностью выживать в желудочно-кишечном тракте и адгезироваться на эпителиальных клетках кишечника, а самое главное, быть безопасным штаммом для людей и животных [18, 20, 42]. Поскольку штаммы лактобактерий считаются безопасными и пробиотическими микроорганизмами, они широко используются в пищевой промышленности при получении различных продуктов (овощных, мясных, молочных и т. д.), то и исследования, посвященные поиску, выделению и изучению бактериоцинов лактобактерий, выделенных из человеческого организма, появляются в научной литературе в последнее время все чаще.

Так, опубликованы результаты исследования, в котором бактериоцины *Lactobacillus* выделяли из материнского молока. Шестьдесят образцов грудного молока были получены от добровольных матерей в возрасте от 19 до 35 лет и из сельских районов провинций Лорестан и Маркази, Иран. [29]. Изоляты идентифицировали с использованием ПЦР-прайма, специфичного для *Lactobacillus*, и было продемонстрировано, что 18 из 33 изолятов принадлежали к *Lactobacillus*. Среди изолятов были идентифицированы *Lactobacillus reuteri* и *L. gasseri*, которые выживали при низких значениях pH и присутствии желчных солей. Так же было показано, что все изоляты *Lactobacillus* ингибируют рост штаммов патогенов и в некоторых из них были обнаружены гены, связанные с бактериоцинообразованием [29].

Состав микробиоты кишечного тракта человека начинает формироваться еще до его рождения, затем ребенок получает микроорганизмы при прохождении через родовые пути [37, 42], а также с грудным молоком. Вскоре после рождения формируется типичный детский тип микробиоты кишечника, особенностью которого являются высокие концентрации представителей родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* [19]. Логичным было предположить, что представители микробиоты кишечника могут быть источником получения бактериоцинов.

Реутерицин 6 — это бактериоцин с молекулярной массой 5652 Да, определенной согласно данным масс-спектрометрии, продуцируемый *Lactobacillus reuteri* LA6 — штамма, который был выделен из фекалий человеческого младенца в возрасте 2 мес. Первичная структура реутерицина 6 была идентична молекулярной массе гасерицина А, продуцируемого *Lactobacillus gasseri* LA39, который был выделен из фекалий того же человеческого младенца, но в возрасте 4 мес. Было показано, что реутерицин 6 относится к циклическим бактерицинам II с класса. ПЦР-амплификация на хромосомной ДНК *L. reuteri* LA6 в качестве матрицы с клонированными праймерами на основе последовательностей ДНК (гасерицин А и ацидоцин В из *Lactobacillus acidophilus* M46) и секвенирование показало, что *L. reuteri* LA6 обладает структурным геном характерным для гасерицина А. Эти результаты показывают, что бактериоцин одинаковой структуры продуцировался разными видами лактобацилл, выделенными от одного и того же младенца [23].

Микробиота кишечника взрослых людей может объединять представителей более 600 различных родов, в том числе многих представителей рода *Lactobacillus* [14, 42]. Учеными было установлено, что штамм *L. salivarius* SPW1, выделенный из фекалий человека, синтезирует новый бактериоцин *salivaricin m maye 1*. *L. salivarius* относится к основным компонентам кишечной микробиоты человека и не обладает какой-либо токсичностью [16, 42]. Также он обладает пробиотическими свойствами и улучшает самочувствие людей и животных [43].

Показано, что *salivaricin mmaye 1* имеет молекулярный вес около 1221 Да, ассоциирован с клеточной стенкой и эффективен при микромолярных концентрациях, а также обладает широким спектром антибактериальной активности. Также *salivaricin mmaye 1* показал высокую термическую и химическую стабильность и умеренную стабильность при различных значениях pH [43].

Исследования, проводившиеся в рамках проекта «Микробиом человека», позволили установить, что в составе микробиоты репродуктивного тракта женщины доминируют виды *Lactobacillus* [18, 42].

Лактобактерии, которые выделяли из влагалищного секрета человека, тестировали на продуцирование антимикробных веществ, обладающих потенциалом обеспечивать физиологическую защиту от патогенных микроорганизмов во влагалищной области [34]. Около 10 % изолятов показали антибактериальную активность в отношении одного или нескольких близкородственных микроорганизмов, используемых в качестве индикаторов. *Lactobacillus fermentum* CS57 был лучшим продуцентом и секретировал бактериоцино-подобное вещество с антагонистической активностью по отношению к *Streptococcus agalactiae* и *Candida albicans*. Эти вещества были чувствительными к протеолитическим ферментам и устойчивы к высоким температурам. Механизм действия был идентифицирован, как бактерицидный, а молекулярная масса определена, как превышающая 30 кДа. Учитывая все результаты, авторы считают возможным использование *L. fermentum* CS57 в качестве пробиотика для профилактики вагинальных инфекций человека [34].

Вызывает интерес информация про результаты исследования термостойкого бактериоцина саливарицина CRL 1328, который был синтезирован *Lactobacillus salivarius* CRL 1328. Данный штамм ученые выделили из влагалища здоровой женщины. Отмечается, что данное вещество может быть с успехом применено для профилактики урогенитальных инфекций [31].

Таким образом, лактобактерии — представители нормальной микробиоты человека, являются наиболее перспективным

источником получения бактериоцинов, учитывая безопасность штаммов, которые имеют также пробиотическое значение.

Выводы. В условиях распространяющейся резистентности патогенных микроорганизмов к антибиотикам одним из современных направлений поиска препаратов с антимикробной активностью является использование бактериоцинов — веществ белково-пептидной природы, обладающих широким спектром антимикробного действия.

Бактериоцины условно разделяют на три класса относительно их молекулярной массы, структуры и отношения к температуре.

Бактериоцины молочнокислых бактерий могут быть выделены из различных биотопов человека, а также различных пищевых ферментированных и кисломолочных продуктов.

Перспективными направлениями получения бактериоцинов лактобактерий являются этапы выделение микробных культур из природных источников, скрининг наиболее активных продуцентов, экспериментальное повышение активности продуцентов, включая классические методы мутагенеза и генно-инженерные манипуляции.

Бактериоцины лактобактерий можно использовать в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности как эффективную и безопасную альтернативу антибиотикам и пищевым консервантам.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Amrita 20. R.M., Kadirvelu J., Inhibiting bacterial colonization on catheters: Antibacterial and antibiofilm activities of bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* SJ33. *J. of Global Antimicrob. Resist.*; 2019. doi.org/10.1016/j.jgar.2019.02.021.
2. Avaiyarasi N. D., Ravindran A. D., Venkatesh P., Arul V. In vitro selection, characterization and cytotoxic effect of bacteriocin of *Lactobacillus sakei* GM3 isolated from goat milk. *Food Control.* 2016; 69: 124–133. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.036>.
3. Balciunas E. M., Castillo Martinez F. A., Todorov S. D., de Melo Franco B. D. G., Converti A., Oliveira R. P. de S. Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control.* 2013; 32(1): 134–142. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>.

4. Barbosa M. de S., Todorov Sv. D., Ivanova I., Chobert J.-M., Haertlé Th., de Melo Franco B. D. G. Improving safety of salami by application of bacteriocins produced by an autochthonous *Lactobacillus curvatus* isolate. *Food Microbiology*. 2015; 46:254–262. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.004>.

5. Belguesmia Y., Naghmouchi K., Chihib N.-E., Drider D., Class IIa bacteriocins: Current knowledge and perspectives. Springer: New York.; 2011. doi:10.1007/978-1-4419-7692-5_10.

6. Brandelli A., Sala Lu., Kalil S. Ju. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. *Food Research International*. 2015; 73: 3–12. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.015>.

7. De Angelis M., Gobbetti M. *Lactobacillus* spp.: General Characteristics. Reference Module in Food Science. University «Aldo Moro» of Bari, Ital; 2016. doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.00851-9.

8. Dhama K., Latheef S. K., Munjal A. K., Khandia R., Samad H. A., Iqbal H. M. N., et al. Probiotics in curing allergic and inflammatory conditions — research progress and futuristic vision. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2017; 10(2):105–118. doi: 10.2174/1872213X10666161226162229.

9. Dicks Leon M. T., Dreyer L., Smith C., D. van Staden A. The Fate of Bacteriocins in the Human Gastro-Intestinal Tract: Do They Cross the Gut-Blood Barrier? *Front Microbiol*. 2018; 9:2297. doi: 10.3389/fmicb.2018.02297.

10. Diep D., Skaugen M., Salehian Z. et al. Common mechanisms of target cell recognition and immunity for class II bacteriocins. *J. Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 104(7):447–455.

11. Dobson A., Cotter P. D., Ross R. P., Hill C. Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl. Environ. Microbiol*. 2012; 78(1): 1–6. doi:10.1128/AEM.05576-11.

12. Drider D., Fimland G., Hechard Y., McMullen L. M., Prevost H., The Continuing Story of Class IIa Bacteriocins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. 2006; 70(2):564–582. doi:10.1128/mnbr.00016-05.

13. Egorov N. S., Baranov I. [Bacteriocins. Education, properties, application]. *Antibiotics and chemotherapy*. 1999; 6:33–40. Russian.

Falony G., Joossens M., Vieira-Silva S., Wang J., Darzi Y., Faust K. et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*. 2016; 352(6285):560-564. doi 10.1126 / science.aad3503.

14. Gálvez A., Abriouel H., López R. L., Ben Omar N. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol*. 2007; 120(1–2): 51–70. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.001.

15. Guinane C. M., Piper C., Draper L. A., et al. Impact of environmental factors on bacteriocin promoter activity in gut-derived *Lactobacillus salivarius*. *Appl Environ Microbiol*. 2015; 81(22):7851–7859. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.02339-15>.

16. Hols P., Ledesma-García L., Gabant P., Mignolet J. Mobilization of Microbiota Commensals and Their Bacteriocins for Therapeutics. *Trends in Microbiol*. 2019; 27(8):690–702. doi.org/10.1016/j.tim.2019.03.007.

17. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486 (7402): 207-14. doi: 10.1038/nature11234.

18. Jakobsson H. E., Abrahamsson T. R., Jenmalm M. C., Harris K., Quince C., Jernberg C., et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut*. 2014; 63 (4): 559-66. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303249.

19. Jia Fang-Fang, Zhang Lu-Ji, Pang Xue-Hui, Gu Xin-Xi, Abdelazez A., Liang Yu, Sun Si-Rui, Meng Xiang-Chen. Complete genome sequence of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391, a probiotic strain with gastrointestinal tract resistance and adhesion to the intestinal epithelial cells. *Genomics*. 2017; 109:432-437. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.06.008>.

20. Kalyuzhin O. V. Probioticheskie shtammy' laktobacill kak immunomodulyatory': v fokuse — *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Medicinskij sovet*. 2017. № 9. S. 108-115. Russian.

21. Kato S., Hamouda N., Kano Y., Oikawa Y., Tanaka Y., Matsumoto K., et al. Probiotic *Bifidobacterium bifidum* G9-1 attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice via suppression of dysbiosis-related secondary inflammatory responses. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. 2017; 44(10):1017-1025. doi: 10.1111/1440-1681.12792.

22. Kawai Ya., Ishii Ya., Uemura K., Kitazawa H., Saito T., Itoh T. *Lactobacillus reuteri* LA6 and *Lactobacillus gasseri* LA39 isolated from faeces of the same human infant produce identical cyclic bacteriocin. *Food Microbiology*. 2001; 18:407-415. URL: <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0412>.

23. Kim M. S., Byun J. S., Yoon Y. S., Yum D. Y., Chung M. J., Lee J. C. A probiotic combination attenuates experimental colitis through inhibition of innate cytokine production. *Benefic. Microbes*. 2017; 8(2):231-241. doi: 10.3920/BM2016.0031.

24. Kumariya R., Garsa A. K., Rajput Y. S., Sood S. K., Akhtar N., Patel S. Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis* 2019; 128:171-177. doi:10.1016/j.micpath.2019.01.002.

25. Lahtinen S. J., Forssten S., Aakko J., Granlund L., Rautonen N., Salmiinen S., Viitanen M., Ouwehand A. C. Probiotic cheese containing *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* NCFM modifies subpopulations of fecal lactobacilli and *Clostridium difficile* in the elderly. *Age (Dordr)*. 2012; 34(1):133-43. doi: 10.1007/s11357-011-9208-6.

26. Liu W., Pang H., Zhang H., Cai Y. Biodiversity of lactic acid bacteria. Springer: the Netherlands. 2014; 103-203. doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0_2.

27. Lv X., Ma H., Sun M., Lin Y., Bai F., Li J., Zhang B. A novel bacteriocin DY4-2 produced by *Lactobacillus plantarum* from cutlassfish and its application as bio-preservative for the control of *Pseudomonas fluorescens* in fresh turbot

(*Scophthalmus maximus*) fillets. *Food Control*. 2018; 89:22-31. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.02.002>.

28. Mohammadi F., Eshaghi M., Razavi Sh., Sarokhalil D. D., Talebi M., Reza M. Pourshafie. Characterization of bacteriocin production in *Lactobacillus* spp. isolated from mother's milk. *Microbial Pathogenesis*. 2018; 118:242-246. URL: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.03.020>.

29. Pei J., Jin W., Abd El-Aty A. M., Baranenko D. A., Gou Xi., Zhang H., et al. Isolation, purification, and structural identification of a new bacteriocin made by *Lactobacillus plantarum* found in conventional kombucha. *Food Control*. 2020; 110, 106923. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106923>.

30. Pingitore E. V., Hébert E. M., Nader-Macias M. E., Sesma F. Characterization of salivaricin CRL 1328, a two-peptide bacteriocin produced by *Lactobacillus salivarius* CRL 1328 isolated from the human vagina. *Research in Microbiology*. 2009; 160:401-408. URL: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.06.009>.

31. Rasheed H. A., Tuoheti T., Zhang Y., Fidelis A., Tekliye M., Dong M. Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by bacteriocinogenic *Lactobacillus fermentum* BZ532 isolated from Chinese fermented cereal beverage (Bozai). *LWT — Food Science and Technology*. 2020; 124: 109–113. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109113.

32. Rubel M., Voloshyna I. [The use of probiotic microorganisms in cosmetic medical products]. *Scientific works of National university of food technologies*. 2014; 2(20):23-29. Ukrainian.

33. Sabia C., Anacarso I., Bergonzini A., Gargiulo R. et al. Detection and partial characterization of a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus fermentum* CS57 isolated from human vaginal secretions. *Anaerobe*. 2014; 26:41-45. URL: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.01.004>.

34. Sabo S. S., Converti A., Ichiwaki S., Oliveira R. P. S. Bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST16Pa in supplemented whey powder formulations. *J. of Dairy Science*. 2019; 102 (1): 87–99. URL: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14881>.

35. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biology*. 2016; 14(8): e1002533. doi: 10.1371/journal.pbio.1002533.

36. Stinson L. F., Payne M. S., Keelan J. A. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota. *Crit Rev Microbiol*. 2017; 43 (3): 352-369. doi: 10.1080/1040841X.2016.1211088.

37. Sun Z., Wang X., Zhang X, Wu H., Zou Y., Li P., Sun C., Xu W., Liu F., Wang D. Class 17 III bacteriocin helveticin-M causes sublethal damage on target cells through impairment 18 of cell wall and membrane, *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*. 2018; 45(3):231-227. doi:10.1007/s10295-018-2008-6.

38. Thompson J. K., Collins M. A., Mercer W. D. Characterization of a proteinaceous antimicrobial produced by *Lactobacillus helveticus* CNRZ450. *J.*

of Applied Bacteriology, 1996; 80(3):338–348. doi:10.1111/j.1365-2672.1996.tb03229.x.

39. Van B. P., Wells J. M., Kleerebezem M. Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. *Trends Immunol.* 2013; 34:208-215. doi: 10.1016 / j.it.2013.01.005.

40. Vijay Simha B., Sood S. K., Kumariya R., Garsa A. K. Simple and rapid purification of pediocin PA-1 from *Pediococcus pentosaceus* NCDC273 suitable for industrial application. *Microbiol Res.* 2012;167(9): 544-9. doi: 10.1016/j.micres.2012.01.001. doi: 10.1016 / j.micres.2012.01.001.

41. Voloshyna I. M., Shkotova L. V., Skorokhod S. O., Appolonova I. Ye., Zholobak N. M. Lactobacillus bacteria: biological and therapeutic properties // *Mikrobiol. Z.* 2019; 81(6):131–146. Ukrainian. doi: <https://doi.org/10.15407/mikrobiolj81.06.131>.

42. Wayah S. B., Koshy Ph. Purification, characterization, mode of action, and enhanced production of Salivaricin mmaye1, a novel bacteriocin from *Lactobacillus salivarius* SPW1 of human gut origin. *Electronic J. of Biotechnology.* 2018; 35: 39-47. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.08.003>.

43. Wayah S. B., Philip K. Purification, characterization, mode of action, and enhanced production of Salivaricin mmaye 1, a novel bacteriocin from *Lactobacillus salivarius* SPW1 of human gut origin. *Electron J. Biotechnol.* 2018; 35:39-47. doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.08.003.

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

45. Yi L., Dang Y., Wu J., Zhang L., Liu X., Liu B., Zhou Y., Lu X. Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus crustorum* MN047 isolated from koumiss from Xinjiang, China. *J. of Dairy Science.* 2016; 99 (9):7002-7015. URL: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11166>.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ «КИЇВСЬКИЙ
ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

**VIII Міжнародна науково-практична онлайн
конференція студентів, аспірантів та молодих
вчених
«БІОТЕХНОЛОГІЯ: ЗВЕРШЕННЯ ТА НАДІЇ»**

15 листопада 2019 р.

м. Київ

ВИКОРИСТАННЯ ЦІЛЬОВИХ ГЕНІВ В БІОІНЖЕНЕРНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ ДЛЯ ОТРИМАННЯ РОСЛИН З ЦІННИМИ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИМИ ОЗНАКАМИ.....	106
Комар А.Г., Бесараб О.Б., Галкін О.Ю.	
НОВІ МОНОКЛОНАЛЬНІ АНТИТІЛА ДО ПРОСТАТ-СПЕЦИФІЧНОГО АНТИГЕНУ.....	107
Кучерявий І. І., Карелов А. В., Созінова О. І.	
ОЦІНКА СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ НА НАЯВНІСТЬ ГЕНУ СТІЙКОСТІ ДО ФУЗАРІОЗУ КОЛОСА.....	108
Кприченко С.О., Башта О.В.	
БАКТЕРІОЗИ ЗЕРНЯТКОВИХ В УКРАЇНІ.....	108
Сахарова В.Г., Таран О.П.	
ВИЯВЛЕННЯ Y-ВІРУСУ КАРТОПЛІ ЗА ДОПОМОГОЮ БІОСЕНСОРУ НА ОСНОВІ ППР.....	109
Скуба А. О., Коломієць Ю. В., Богославець В. А.	
СТРУКТУРА ТА МОЛЕКУЛЯРНІ ФУНКЦІЇ БІЛКА LSD2.....	110
Смагло А.О., Юрко П.С., Кулібаба Р.О.*	
ВИБІР ЕФЕКТИВНОГО МЕТОДУ ВИДІЛЕННЯ ДНК ДЛЯ УСПІШНОЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ПАРВОВІРУСУ ГУСЕЙ.....	112
Чмара П.О., Федосенко А.М., Маличенко В.А., Таран О.П.	
ДОСЛІДЖЕННЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ АНТИГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОЛЯТІВ Y-ВІРУСУ КАРТОПЛІ ПРИ РІЗНИХ МЕТОДАХ ЛІОФІЛІЗАЦІЇ РОСЛИННИХ ЗРАЗКІВ.....	113
Коваль І.О., Смолянцев Д.І., Таран О.П.	
ОПТИМІЗАЦІЯ ПРИГОТУВАННЯ ЗРАЗКІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ МІКОТОКСИНІВ В ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ ПРИ БІОСЕНСОРНОМУ ТЕСТУВАННІ.....	114
Васірко С.І., Скроцька О.І.	
МАТРИКСНІ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ ЯК МАРКЕРИ МОНІТОРИНГУ ФОРМУВАННЯ ТА РОЗВИТКУ ВІДДАЛЕНИХ МІКРОМЕТАСТАЗІВ.....	116
Явчук І.В., Скроцька О.І.	
ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ПРОТИВІРУСНОГО ЗАСОБУ ТИЛОРОНУ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ.....	117
Кулявець В. Р., Беспалова О. Я.	
БІОПРИНТЕР ДЛЯ ДРУКУ ТКАНИН ШКІРИ.....	118
СЕКЦІЯ 5 БІОТЕХНОЛОГІЇ В ТВАРИННИЦТВІ.....	121
Гордінський С.О., Таран О.П.	
ДОСЛІДЖЕННЯ ЗВ'ЯЗУВАННЯ ІМУННОГО КОМПЛЕКСУ З ПОВЕРХНЕЮ ППР-БІОСЕНСОРА ДЛЯ ДІАГНОСТУВАННЯ ТРИХІНЕЛЬОЗУ.....	121
Желавський М.М., Керичний С.П.	
АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ІМУНОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ ПРИ РОЗВИТКУ ГЕСТОЗУ У ТВАРИН.....	122
Волощина Н.Н., Шидловская О.А., Бойко Т.А.	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ <i>SACCHAROMYCES</i> В ЖИВОТНОВОДСТВЕ.....	123
Желавський М.М.	
СУЧАСНІ АСПЕКТИ КЛІТИННОЇ ІМУНОТЕРАПІЇ В КЛІНІЧНІЙ МЕДИЦИНІ.....	124
Zhelavskiy M.M.	

В лабораторії імунології репродукції тварин ми встановили, що гестоз корів супроводжується зрушення клітинних та гуморальних механізмів регуляції імунітету, що відбувається на тлі зростання рівня молекул середньої маси (МСМ) і циркулюючих імунних комплексів (ЦК) із середньою молекулярною масою, диспропорції Т-індексу та Т:В. Наразі ведеться активна робота щодо вдосконалення імунологічних методів діагностики, апробуються діагностичні тест-системи, засоби і методи лікування.

УДК 579 + 59.009

Волошина І.Н.^{1,2}, Шилловская О.А.^{1,3}, Бойко Т.А.¹
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ *SACCHAROMYCES* В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

¹Київський національний університет технологій дизайну,

Україна, 01011, Київ, ул. Немировича-Данченка, 2

²Національний університет пищевих технологій,

Україна, 01601, Київ, ул. Владимирская, 68

³Інститут мікробіології та вірусології НУН України,

Україна, 03143, Київ, ул. Заболотного, 154

e-mail: i_woloschina@yahoo.com

Использование пробиотических препаратов для профилактики и лечения кишечных дисфункций в ветеринарной практике имеет важное преимущество перед употреблением антибиотиков. Использование пробиотиков, во многих случаях, позволяет решить несколько задач: улучшить процессы пищеварения, обмен веществ и усвояемость питательных веществ, обеспечить благоприятный баланс между комменсальной и патогенной микробиотой в желудочно-кишечном тракте, повлиять на иммуномодулирующие и иммуностимулирующие эффекты, улучшить производительность животных, и повысить экономические результаты производства [Poloni V., 2017, Smialek M., 2018]. Чаще всего в ветеринарии используют препараты на основе *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium* и др. Также используют препараты на основе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* [Smialek M., 2018]. Род *Saccharomyces* часто используют для продуктов, предназначенных для потребления животными и людьми. Большинство *Saccharomyces* встречаются в различных природных местообитаниях. Дрожжи не относятся к нормальной микрофлоре животных, однако владеют выраженной антагонистической активностью относительно широкого спектра условно патогенных и патогенных микроорганизмов: синтезируют ряд биологически активных веществ, стимулируют рост симбиотической микрофлоры (лакто-, бифидобактерии и др.) и способны обеспечивать оптимальные условия для повышения производительности и укрепления здоровья животных. Биомасса кормовых дрожжей, кроме пробиотических свойств, владеет высокой питательной ценностью и не уступает таким традиционным белковым кормам, как соевый шрот, рыбная мука и др. Использование пробиотиков в птицеводстве минимизирует риск заражения и заболевания птиц, а также снижает риск заражения мяса птицы такими патогенами, как *Staphylococcus*, *E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Candida* и т.д. [Smialek M., 2018].

Также ученые изучают влияние сахароміцетарных пробиотиков на эффективность вакцинации животных [Roos T. B., 2018]. Герпесвирус крупного рогатого скота (BoHV-5) является примером экономически важного патогена животных, для которого вакцины обеспечивают лишь ограниченную защиту. В литературе есть информация, что исследователи использовали пробиотики *Bacillus toyonensis* и *Saccharomyces boulardii* в качестве потенциальных иммуномодуляторов для повышения эффективности вакцины [Roos T. B., 2018]. Для животных, получавших добавку с пробиотиками, показано значительное увеличение сероконверсии против BoHV-5, чем для животных без добавки. Эти результаты предполагают, что пробиотики *Bacillus toyonensis* и *Saccharomyces boulardii*

могли бы стать многообещающим средством повышения эффективности вакцин [Roos T. B., 2018].

Также, большой интерес предоставляют сахаромипцетарные пробиотики в качестве кормовых добавок для животных, стимулирующих рост для увеличения производительности животных, учитывая тот факт, что с 2006 года Европейским союзом запрещено использовать антибиотики в рационе животных для профилактики заболеваний из-за появления устойчивых патогенных бактерий и возможного загрязнения продуктов животного происхождения, которые могут создавать проблемы для здоровья людей [Agowolo M. A., 2018].

Также известно, что дрожжи *S. cerevisiae* var. *bouardii* способны синтезировать ферменты, которые нейтрализуют бактериальные токсины. При попадании в желудочно-кишечный тракт – способны подавлять рост патогенных бактерий, таких как сальмонеллы и создают благоприятную среду для развития позитивной анаэробной микрофлоры, стимулировать и активировать иммунные клетки, повысить эффективность использования питательных веществ и производственные показатели, способствовать производству мяса и молока у крупнорогатого скота [Agowolo M. A., 2018]. Поэтому в сельском хозяйстве дрожжевые пробиотики используют не только для лечения и профилактики болезней бактериальной этиологии, но и как биологически активные добавки, которые будут стимулировать рост и развитие животных [Poloni V., 2017, Agowolo M. A., 2018].

УДК 616-08:576.7

Желавський М.М.

СУЧАСНІ АСПЕКТИ КЛІТИННОЇ ІМУНОТЕРАПІЇ В КЛІНІЧНІЙ МЕДИЦИНІ

Подільський державний аграрно-технічний університет

вул. Шевченка, 13, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька область, 32302, Україна

e-mail: doctorvetm@ukr.net

За останні роки в галузі імунології зроблено революційні відкриття, які втілюють в життя новітні підходи діагностики та лікування тварин і людини при різноманітних патологіях. Значні досягнення вченими отримані і в галузі онкології, де все більше набувають застосування технології клітинної терапії (Wang et al., 2019). На сьогоднішній день медична біотехнологія озброїла практичних лікарів цілою низкою інструментів клітинної інженерії, які дозволяють в реальних клінічних умовах використовувати з збільшеним потенціалом специфічні функції імунного захисту (Maude et al., 2019; Zhelavskiy, 2019).

Суть новітніх біотехнологічних методик в імунотерапії раку, полягають у тому, що лікар проводить «налаштування» імунної системи організму на ідентифікацію та знищення ракових клітин. Численні дослідження підтверджують, що інгібітори контрольних точок імунітету є оптимальним підходом до імунотерапії, оскільки при цьому сама імунна система «готується» до ефективної боротьби з раком. Все більшого значення в медичній практиці набувають новітні методики лікування пацієнтів з онкогенною патологією, які ґрунтуються на керуванні цитотоксичної активності Т-клітин. Ця клітинна технологія здійснюється як способом модифікування рецепторів імунокомпетентних клітин, так із використанням рецепторних структур химерних антигенів. Загальновідомо, що лімфоцити здатні мігрувати по всьому організму, за допомогою специфічних рецепторів розпізнавати чужорідні, мутовані і онкогенні клітини, а також запускати каскад імунних реакцій, спрямовані на знищення патогену. Такими цензорними функціями володіє субпопуляція цитотоксичних Т-клітин. При онкогенному процесі змінені клітини можуть «ховатися» від імунних клітин, що призводить до розвитку захворювання. Нині новітні методики дають можливість розпізнати онкогенні клітини, зокрема із використанням дендритів, які є своєрідними мігруючими клітинами-шпигунами (The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2011 Ralph M. Steinman "For