

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**ЦЕХМІСТРЕНКО ОКСАНА СЕРГІЇВНА**

УДК 604.6:579.64:546.23/.655:636.5.087.8

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**БІОТЕХНОЛОГІЯ ОДЕРЖАННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ ПРОБІОТИКІВ**  
**З НАНОЧАСТИНКАМИ СЕЛЕНУ ТА ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ У**  
**ПТАХІВНИЦТВІ**

03.00.20 – біотехнологія сільськогосподарські науки

Подається на здобуття наукового ступеня  
доктора сільськогосподарських наук

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на  
відповідне джерело \_\_\_\_\_ О.С. Цехмістренко

Науковий консультант – **Бітюцький Володимир Семенович,**  
доктор сільськогосподарських наук, професор

Біла Церква – 2021

## АНОТАЦІЯ

**Цехмістренко О.С. Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками селену та діоксиду церію у птахівництві. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, Білоцерківський національний аграрний університет Міністерства освіти і науки України, Біла Церква, 2021.

Дисертація присвячена розробці біотехнології одержання та використання наночастинок металоїдів (Селен) та оксидів металів (діоксид церію) у птахівництві. Розроблена технологія одержання нанопрепаратів з допомогою бактеріального синтезу та у складі стабілізованих цитратом міцелярних частинок. Створені наночастинки є аналогом природних сполук Селену та Церію і слугують джерелом нетоксичної, розчинної і легкодоступної їх форми.

Наукова робота є частиною комплексних програм науково-дослідних робіт Міністерства науки і освіти України: «Вплив різних фізико-хімічних чинників на біохімічні процеси в організмі тварин та птиці» (№ держреєстрації 0115U005335), що виконується в НДІ екології та біотехнології й кафедри хімії Білоцерківського національного аграрного університету впродовж 2016–2021 років. Наукова робота є частиною комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Перспективні фундаментальні дослідження та інноваційні розробки наноматеріалів і нанотехнологій для потреб промисловості, охорони здоров'я та сільського господарства» на 2020–2024 рр, що проводяться разом з дослідниками Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (відділ проблем інтерферону і імуномодуляторів).

Оксидативний стрес є серйозним згубним чинником для клітинної цілісності внаслідок постійного вивільнення реактивних форм Оксигену, опосередкованих різними біотичними (бактеріями, вірусами, грибами тощо) та абіотичними стресорами. Фундаментальним шляхом у підтримці клітинного

окислювально-відновного гомеостазу є редокс-чутлива сигнальна система Keap1/Nrf2/ARE, яка відіграє ключову роль у стресових, запальних, канцерогенних і проапоптотичних умовах. Наявні повідомлення щодо впливу мінеральних, органічних і нанопрепаратів Селену та пробіотиків на ефективність вирощування сільськогосподарської птиці, мають позитивний вплив на ріст і розвиток, витрати корму та збереженість поголів'я, а також щодо впливу біогенних наночастинок селену, отриманих методами "зеленої" хімії, на редоксчутливий фактор транскрипції Nrf2, який активує транскрипцію та синтез низки антиоксидантних та детоксикуючих ензимів. Показано, що перехід діоксиду церію у нанокристалічний стан супроводжується змінами у його біологічній активності, зокрема зростанні антиоксидантних властивостей. Розроблення нових біотехнологій для одержання та ефективного використання наночастинок металоїдів та оксидів металів як кормових добавок у галузі птахівництва є актуальним напрямом наукових досліджень, має важливе теоретичне та практичне значення.

Кваліфікаційна робота присвячена конструюванню нових препаратів наночастинок церію та селену, встановленню їх оптимального дозування для різних видів птиці, перевірці ефективності їх дії на корекції адаптивних систем організму птиці в постнатальному онтогенезі у виробничих умовах та впливу розроблених препаратів на господарські показники птиці.

Під час реалізації поставленої мети вирішено наступні завдання:

- Розроблено технологію одержання нових препаратів наночастинок діоксиду церію, які за кількісними та якісними характеристиками не поступаються імпортованим аналогам, проведено оцінку їх стабільності, визначено гостру і хронічну токсичність та гематологічні та обмінні показники лабораторних тварин за тривалого введення розроблених препаратів;
- Розроблено технологію одержання нових препаратів наночастинок селену, обрано пробіотик та поживне середовище для його культивування, створено кормову добавку на основі обраного пробіотику з різними носіями селену для перепелів;

- Синтезовано нанопрепарати селену бактеріальним шляхом, досліджено стабільність створених препаратів, проведено електронно-мікроскопічну характеристику нанопрепаратів, синтезованих бактеріальним шляхом та проведено токсикологічні дослідження препаратів на лабораторних тваринах;
- Визначено основні показники та характеристики біологічно активної кормової добавки для сільськогосподарських тварин та птиці;
- Досліджено вплив наночастинок діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів та якість їх м'яса, на курей-несучок, морфометричні показники їх репродуктивних органів та на якість яєць;
- Досліджено вплив різних форм селену на метаболічні процеси в організмі перепелів, розвиток вісцеральних органів та морфологічні показники кишечника та економічні показники виробництва м'яса;
- Досліджено вплив різних форм селену на показники білкового та ліпідного обмінів у крові перепелів, показники процесів ПОЛ у печінці, жирнокислотний та фосфоліпідний склад крові, прирости маси молодняку перепелів та економічну ефективність їх використання у виробництві м'яса.

Під час виконання кваліфікаційної наукової праці використано сучасні методи досліджень: біотехнологічні, фізико-хімічні, токсикологічні, біохімічні, фізіологічні, морфологічні, зоотехнічні, статистично-математичні.

Автором особисто розроблені схеми лабораторних та виробничих досліджень, власноруч проводились експериментальні дослідження, статистична обробка та аналіз одержаних результатів, їх обґрунтування та висновки.

Вивчені механізми та технології одержання нових препаратів наночастинок діоксиду церію. Одержані результати покладено в основу біотехнології одержання малотоксичних для організму сільськогосподарських тварин та птиці наночастинок  $\text{CeO}_2$ , яка відповідає вимогам, що ставляться до стабільності розчинних сполук.

Встановлено показники гострої токсичності нанодисперсного діоксиду церію. За умов гострої токсичності встановлено, що білі щури гинули від застосування досліджуваних НДЦ в основному на першу добу після

внутрішньом'язового введення  $DL_{100}$  за дози препарату 32 мл/кг та встановлена відсутність загибелі лабораторних тварин ( $DL_0$ ) за введення препаратів у дозі 24 мл/кг. Під час дослідження хронічної токсичності за умов внутрішньом'язового введення білим щурам препарату нанодисперсного діоксиду церію загибелі лабораторних тварин не виявлено. Встановлено, що нанодисперсний діоксид церію за ступенем небезпечності належать до VI класу токсичності (відносно нешкідливих речовин), а у перерахунку на основну діючу речовину церій трьохвалентний ( $Se^{3+}$ ), який знаходиться у цій формі – до V класу токсичності (практично нетоксичних речовин).

Встановлено структурні морфофункціональні зміни репродуктивної системи курей-несучок кросу «Lohmann Brown» за додавання наноцерію. Ці зміни пов'язані із збільшенням довжини яйцеповоду, що має зв'язок із яйценосністю. При цьому не виявлено впливу на індекс форми яйця та його вміст.

Досліджено вплив наночастинок діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів. Їх введення сприяло підвищенню у крові курчат-бройлерів вмісту загальних ліпідів на 24,6–31,3 %, альбумінів на 16–22 % та зниженню вмісту сечової кислоти до рівня 63–67 % від контролю, що свідчить про активацію білкового обміну.

Вивчені механізми та технології одержання нових препаратів біонаночастинок селену. Здійснений аналіз можливого використання різних мікроорганізмів, пробіотиків та можливих продуцентів біоноселену. Проведена трансмісійна електронна мікроскопія нанокарбоксилатів селену (SeNPs), синтезованих *B. subtilis*. Встановлено, що частинки біоноселену не агреговані, мають округлу форму та розмір від 4 до 8 нм. Інкубація пробіотичної культури *B. subtilis*, за присутності SeNPs, у 0,15M NaCl, супроводжувалась суттєвим підвищенням накопичення білоквмісних біологічно активних екзометаболітів, кількість яких у 18,2 рази перевищувала контрольні аналоги, вирощені без додавання селену у середовище культивування. Встановлена здатність носелену активувати метаболічну активність фагоцитів в оптимальних дозах Нано-Se ( $2 \times 10^{-5}$  мг/мл).

Доведено, що біологічно активна добавка для тварин та птиці, препарат ліофільно висушених бактерій *Lactobacillus plantarum* IMB B-7679, що збагачена розчином водним цитрату селену у концентрації  $2 \times 10^{-3}$  мг/мл, проявляє імуномодулювальні властивості. Встановлено достовірне підвищення показників фагоцитарної активності й окисного потенціалу нейтрофілів за використання препарату: ФІ збільшувався до  $77,2 \pm 2,16$  %, ФП до  $6,21 \pm 0,34$  %, активність спонтанного НСТ-тесту (сНСТ) підвищувалась до  $23,28 \pm 0,58$  %, а індукованого (іНСТ) до  $50,26 \pm 2,18$  %, порівняно з показниками контрольної групи (ФІ –  $64,6 \pm 1,45$  %, ФП –  $4,62 \pm 0,12$  %, сНСТ –  $11,25 \pm 0,5$  %, іНСТ –  $44,83 \pm 2,18$  %).

Встановлено, що використання селеніту натрію, самотійно та у комбінації із пробіотиком, та нанорозмірний селен у складі комбікорму спричинили тенденцію до зростання індексу маси серця, печінки та селезінки дослідних перепелів. Абсолютна та відносна маса 12-палої кишки за згодовування діоксиду церію із комбікормом значно знизилась відносно контролю, досягнувши рівня  $80,07$ – $80,84$  % абсолютної та  $81,61$ – $83,91$  % відносної ( $p < 0,01$ ) маси. При цьому виявлено, що довжина тонкого кишечника зростає на  $12,54$ – $24,56$  %.

У результаті дослідження було встановлено, що діоксин церію підвищує абсолютну та відносну вагу клубової кишки курчат-бройлерів та її довжину і ширину, а за 14-денного інтервалу – знижує. Застосування препаратів церію обумовило зменшення абсолютної ваги товстого кишечника дослідних курчат (на  $8,66$ – $20,3$  %), як і його відносну вагу (на  $6,25$ – $18,75$  %).

Застосування комбікормів з досліджуваними добавками за вирощування курчат-бройлерів кросу Ross 308 обумовило зростання збереженості поголів'я курчат-бройлерів на  $1,0$ – $3,1$  % та передзабійної маси 1-ї голови на  $3,45$ – $7,29$  %. Затрати комбікорму на 1 кг приросту, і, відповідно, собівартість 1 кг патраної тушки у дослідних групах знизилась на  $4,19$ – $13,49$  %. Проведена виробнича перевірка встановила, що використання препаратів церію позитивно впливає на зростання прибутку та рентабельності виробництва м'яса курчат-бройлерів з найкращими показниками у групі, що отримувала наноцерій.

Додавання до раціонів перепелів різних препаратів селену обумовило активацію білкового обміну, що проявлялося збільшенням вмісту у крові загального протеїну на 8,4–14,27 % ( $p < 0,05$ ), альбуміну на 2,88–24,45 % ( $p < 0,05$ ), креатиніну ( $p < 0,05$ ), за одночасного зниження вмісту сечової кислоти на 8,57 % та 25,71 % ( $p < 0,001$ ). Встановлені зміни позитивно вплинули на метаболічні процеси та не мали негативного впливу на клітини печінки, про що свідчить активність трансаміназ, зокрема АсАТ та АлАТ.

Проведений газохроматографічний аналіз жирнокислотного складу плазми крові перепелів свідчить про збільшення насиченості ліпідів сироватки крові птиці 1-ї групи внаслідок підвищення вмісту пальмітинової ( $p < 0,01$ ) та міристинової ( $p < 0,001$ ) жирних кислот, а сума ненасичених жирних кислот була вірогідно зменшена ( $p < 0,001$ ). Рівень ПНЖК вірогідно зменшений у порівнянні з показниками птиці 2-ї групи (дослід) внаслідок зниженого вмісту есенціальних ЖК (лінолевої та ліноленової). Після введення препарату наноселену жирнокислотний склад ліпідів нормалізувався внаслідок зменшення вмісту пальмітинової на 18,9 % ( $p < 0,05$ ), міристинової – на 21,4 %, ( $p < 0,01$ ) та арахідонової – на 19,6 %, ( $p < 0,01$ ) кислот. Встановлено, що для жирнокислотної формули ліпідів сироватки крові перепелів, які отримували біонаноселен характерне вірогідне зменшення вмісту кислот 14:0, 16:0 та 18:0, при цьому істотно зростає кількість кислот складу 20:4 ( $\omega$ -3), 22:3, 22:5 ( $\omega$ -3) та 22:6 ( $\omega$ -3).

У мембранах еритроцитів птиці дослідної групи, спостерігається зростання абсолютних рівнів фосфатидилетаноламіну ( $p < 0,01$ ), сфінгомієліну ( $p < 0,01$ ), фосфатидилсерину ( $p < 0,05$ ), лізокардіоліпіну ( $p < 0,05$ ), лізофосфатидилхоліну ( $p < 0,01$ ) та лізофосфатидилетаноламіну ( $p < 0,01$ ) без зазнавання вірогідних змін у вмісті фосфатидилінозиту, фосфатидилхоліну та кардіоліпіну. При цьому встановлено підвищення вмісту кислоти 22:5  $\omega$ -3 ( $p < 0,01$ ), загального холестеролу ( $p < 0,01$ ), а також зниження рівня 22:5  $\omega$ -6 ( $p < 0,05$ ).

У дослідженні встановлено, що додавання селеніту натрію обумовило зростання каталазної та СОД-активності на 2,8 та 3,3 % відповідно, а комбіноване введення із пробіотиком підвищило активність каталази на 11,6 % та СОД на 10,7 %

( $p < 0,05$ ). Вміст відновленого глутатіону достовірно (на 25 %) переважав контроль у 4-й дослідній групі, як і вміст HS-груп білків – на 16,2 % ( $p < 0,01$ ). Аналогічно СОД і КАТ, активність ГПО та ГР та вміст ТБК-АП зростали відносно контролю у всіх дослідних групах, достовірно для ферментів ( $p < 0,05$ ) у 3-й та ( $p < 0,01$ ) у 4-й групах та ТБК-АП ( $p < 0,05$ ) у 3-й та ( $p < 0,001$ ) у 4-й групах.

У результаті проведених досліджень встановлено, що зростання маси тіла, абсолютних та середньодобових приростів птиці різнилося залежно від використання препарату Селену чи пробіотику. З різним ступенем достовірності зростання показників відносно контролю проявлялися із 14-го дня експерименту і до кінця дослідження.

Результати дослідження свідчать, що перепела дослідних груп показали менші витрати корму на 1 кг приросту маси тіла порівняно із контрольними аналогами на 2,72–5,4 % та собівартість 1 кг патраної тушки на 3,42–6,5 %, вищі збереженість поголів'я на 3,4–6,7 %, передзабійну масу 1-ї голови на 4,14 %-11,83 %, та рентабельність виробництва м'яса, що зросла від 33,45 % у контролі до 39,0–44,88 % у дослідних групах.

*Наукова новизна одержаних результатів.* Розроблено біотехнологію одержання та використання нових препаратів наночастинок Селену та діоксиду церію з антибактеріальними, імуномодулюючими та метаболізм-інтенсифікуючими властивостями.

Науково обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність використання препаратів наночастинок діоксиду церію та селену за вирощування курчат-бройлерів та перепелів з метою підвищення їх збереженості та продуктивності. Встановлено вплив препаратів на показники імунореактивності організму птиці, продуктивність та збереженість.

Уперше відпрацьовано технології одночасного застосування препаратів селену, синтезованих з допомогою «зеленого синтезу» та пробіотику для впливу на господарські показники при вирощуванні птиці. Уперше доведено оптимальну дозу внесення нанопрепаратів селену та церію у комбікорм птиці для одержання якісних продуктів птахівництва.



Підтверджено наукову новизну одержаних результатів Технічними умовами України та Патентами на корисну модель.

*Практичне значення одержаних результатів.* На підставі оцінки придатності препаратів наночасточок діоксиду церію та селену розроблено та затверджено настанови щодо їх застосування, де регламентоване їх дозування, терміни використання та наведена методологія проведення досліджень, необхідних для ефективного реалізації генетичного потенціалу птиці. Закріплено позитивні результати Патентами на корисну модель та Технічними умовами.

Результати досліджень, викладені в дисертаційній роботі, включено до Технічних умов та патентів на корисну модель, які можуть бути застосовані в науково-дослідних роботах та в практиці промислового птахівництва. Матеріали наукової роботи можуть бути використані в курсах лекцій з дисциплін «Біотехнологія», «Біохімія» та «Годівля сільськогосподарських тварин» у закладах вищої освіти для підготовки фахівців за спеціальностями «Біотехнологія», «Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва» та «Харчові технології» та науковій роботі.

Розроблена технологія, що дала змогу одержати нанорозмірні препарати Селену та діоксиду церію, в яких нано-селен перебуває у складі мікробіальної культури, а нано-діоксид церію вкритий цитратною оболонкою. Створені міцели слугують джерелом нетоксичної, розчинної і легкодоступної форми Селену та Церію. Створені препарати легше засвоюються у шлунково-кишковому тракті, мають ензимоміметичну здатність та входять до складу антиоксидантних ферментів.

Встановлено, що одержані нанопрепарати мають перевагу над мінеральними формами елементів, які застосовуються в Україні, внаслідок особливого співвідношення площі поверхні до маси, що дає змогу отримати нові функціональні властивості нанопрепаратів. Введення нанорозмірних препаратів Селену та діоксиду церію до комбікорму курчат-бройлерів, курей-несучок та перепелів м'ясного напрямку продуктивності сприяє збільшенню приростів живої маси та підвищенню збереженості поголів'я птиці, призводить

до зниження собівартості продукції птахівництва та підвищення рентабельності галузі.

**Ключові слова:** Селен, діоксид церію, наночастинки, «зелений синтез», перепела, кури-несучки, курчата-бройлери, лабораторні щурі, печінка, сироватка крові, збереженість, жива маса.

## ANNOTATION

**Tsekhmistrenko O.S. Biotechnology of production and use of probiotics with nanoparticles of selenium and cerium dioxide in poultry.** – Qualifying scientific work on the right of manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Agricultural Sciences, speciality 03.00.20 – biotechnology – Bila Tserkva national agrarian university, Ministry of education and science of Ukraine, Bila Tserkva, 2021.

The thesis deals with the development of biotechnology of production and use of nanoparticles of metalloids (selenium) and metal oxides (cerium dioxide) in poultry farming. The technology of obtaining nanopreparations by means of bacterial synthesis and as a part of the micellar particles stabilized by citrate is developed. The created nanoparticles are analogs of natural compounds of Selenium and Cerium and serve as a source of their non-toxic, soluble and easily accessible form.

The scientific work is part of a comprehensive research program of the Ministry of Education and Science of Ukraine: "Influence of various physicochemical factors on biochemical processes in animals and poultry" (№ of state registration 0115U005335), performed at the Research Institute of Ecology and Biotechnology and Department of Chemistry of Bila Tserkva National Agricultural University during 2016–2021. The scientific work is part of a comprehensive program of basic research of the NAS of Ukraine "Prospective basic research and innovative development of nanomaterials and nanotechnologies for industry, health and agriculture" for 2020–2024, conducted jointly with researchers from the Institute of Microbiology and Virology. D.K. Zabolotny National Academy of Sciences of Ukraine (Department of Interferon and Immunomodulators).

Oxidative stress is a serious detrimental factor for cell integrity due to the constant release of reactive forms of Oxygen, mediated by various biotic (bacteria, viruses, fungi, etc.) and abiotic stressors. A fundamental way to maintain cellular redox homeostasis is the redox-sensitive Keap1/Nrf2/ARE signaling system, which plays a key role in stressful, inflammatory, carcinogenic and proapoptotic conditions. Available reports on the effects of selenium minerals, organic and nanopreparations and probiotics on poultry farming efficiency have a positive effect on growth and development, feed costs and livestock conservation, as well as on the effects of biogenic selenium nanoparticles obtained by green chemistry redox-sensitive transcription factor Nrf2, which activates the transcription and synthesis of a number of antioxidant and detoxifying enzymes. It is shown that the transition of cerium dioxide to the nanocrystalline state is accompanied by changes in its biological activity, in particular the growth of antioxidant properties. The development of new biotechnologies for the production and efficient use of nanoparticles of metalloids and metal oxides as feed additives in the field of poultry is an important area of research, has important theoretical and practical significance.

Qualification work is devoted to the design of new preparations of cerium and selenium nanoparticles, establishing their optimal dosage for different species of poultry, testing the effectiveness of their action on the correction of adaptive systems of poultry in postnatal ontogenesis in production conditions and the impact of developed compounds on poultry.

*During the implementation of this goal the following tasks were solved:*

- The technology of obtaining new preparations of cerium dioxide nanoparticles, which are not inferior to imported analogues in terms of quantitative and qualitative characteristics, assessment of their stability, acute and chronic toxicity and hematological and metabolic parameters of laboratory animals with long-term administration of developed drugs;
- The technology of obtaining new preparations of selenium nanoparticles was developed, a probiotic and a nutrient medium for its cultivation were selected, a feed

additive based on the selected probiotic with different carriers of selenium for quails was created;

- Selenium nanopreparations were synthesized by bacterial means, the stability of the created preparations was investigated, electron microscopic characterization of nanopreparations synthesized by bacterial means was carried out and toxicological researches of preparations on laboratory animals were carried out;
- The main indicators and characteristics of biologically active feed additives for farm animals and poultry are determined;
- The influence of cerium dioxide nanoparticles on the metabolic processes in the body of broiler chickens and the quality of their meat, on laying hens, morphometric parameters of their reproductive organs and on the quality of eggs was studied;
- The influence of different forms of selenium on the metabolic processes in the body of quails, the development of visceral organs and morphological parameters of the intestine and economic indicators of meat production;
- The influence of different forms of selenium on the indicators of protein and lipid metabolism in the blood of quails, indicators of LPS processes in the liver, fatty acid and phospholipid composition of blood, weight gain of young quails and economic efficiency of their use in meat production;

During the qualification research work modern research methods were used: biotechnological, physicochemical, toxicological, biochemical, physiological, morphological, zootechnical, statistical and mathematical.

The author personally developed schemes of laboratory and production researches, personally carried out experimental researches, statistical processing and the analysis of the received results, their substantiation and conclusions.

The mechanisms and technologies of obtaining new preparations of cerium dioxide nanoparticles have been studied. The obtained results are the basis of biotechnology for the production of low-toxic to the body of farm animals and poultry  $\text{CeO}_2$  nanoparticles, which meets the requirements for the stability of soluble compounds.

Indicators of acute toxicity of nanodispersed cerium dioxide have been established. Under conditions of acute toxicity, it was found that white rats died from the use of the studied NDC mainly on the first day after intramuscular injection of  $DL_{100}$  at a dose of 32 ml/kg and no death of laboratory animals ( $DL_0$ ) at the dose of 24 ml/kg. In a chronic toxicity study with intramuscular administration to white rats of nanodispersed cerium, no deaths were observed in laboratory animals. It is established that nanodispersed cerium dioxide according to the degree of danger belong to the VI class of toxicity (relatively harmless substances), and in terms of the main active substance cerium trivalent ( $Ce^{3+}$ ), which is in this form – to the V class of toxicity (practically non-toxic substances).

It was found that with long-term administration of NDC therapeutic doses and 5 times higher than therapeutic, there was a probable decrease in the number of erythrocytes, respectively, by 48 % ( $p < 0,001$ ) and 40 % ( $p < 0,01$ ) and leukocytes – by 43 % and 50 % ( $p < 0,01$ ), a probable increase in the average erythrocyte volume by 80 and 100 %, respectively ( $p < 0,01$ ). The general tendency to increase of hematocrit size and to decrease of level of hemoglobin is revealed. The probable decrease in the number of erythrocytes contributed to an increase in blood indices: color index – by 71 % ( $p < 0,01$ ) and 80 % ( $p < 0,001$ ) and the average hemoglobin content in the erythrocyte ( $p < 0,001$ ).

Structural morphofunctional changes of the reproductive system of Lohmann Brown cross of chickens laying hens with the addition of nanocerium have been established. These changes are associated with an increase in the length of the oviduct, which is associated with egg production. There was no effect on the index of egg shape and its content.

The effect of cerium dioxide nanoparticles on metabolic processes in the body of broiler chickens was studied. Their introduction contributed to an increase in the blood of broiler chickens by the content of total lipids by 24,6–31.3 %, albumin by 16–22 % and a decrease in the content of uric acid to the level of 63–67 % of control, which indicates the activation of protein metabolism.

The mechanisms and technologies of obtaining new preparations of selenium bionanoparticles have been studied. The analysis of possible use of various microorganisms, probiotics and possible producers of bionanoselenium is carried out. Transmission electron microscopy of selenium nanocarboxylates (SeNPs) synthesized by *B. subtilis* was performed. It was found that the particles of bionanoselenium are not aggregated, have a rounded shape and a size of 4 to 8 nm. Incubation of probiotic culture of *B. subtilis*, in the presence of SeNPs, in 0,15 M NaCl was accompanied by a significant increase in the accumulation of protein-containing biologically active exometabolites, the number of which was 18,2 times higher than control analogues grown without adding selenium to the culture medium. The ability of nanoselenium to activate the metabolic activity of phagocytes in optimal doses of Nano-Se ( $2 \times 10^{-5}$  mg/ml).

It has been proved that a biologically active additive for animals and poultry, a preparation of lyophilized bacteria *Lactobacillus plantarum* IMB B-7679, enriched with a solution of aqueous selenium citrate at a concentration of  $2 \times 10^{-3}$  mg/ml, exhibits immunomodulatory properties. There was a significant increase in phagocytic activity and oxidative potential of neutrophils with the use of the drug: FI increased to  $77,2 \pm 2,16$  %, AF to  $6,21 \pm 0,34$ , the activity of spontaneous HCT test (cNST) increased to  $23,28 \pm 0,58$  %, and induced (INST) up to  $50,26 \pm 2,18$  %, compared with the control group (FI –  $64,6 \pm 1,45$  %, AF –  $4,62 \pm 0,12$ , SNST –  $11,25 \pm 0,5$  %, INST –  $44,83 \pm 2,18$  %).

It was found that the use of sodium selenite, alone and in combination with a probiotic, and nanosized selenium in the feed caused a tendency to increase the mass index of the heart, liver and spleen of experimental quails. Absolute and relative weight of the duodenum during feeding of cerium dioxide significantly decreased relative to control, reaching the level of 80,07–80,84 % absolute and 81,61–83.91 % relative ( $p < 0,01$ ) masses. It was found that the length of the small intestine increases by 12,54–24,56 %.

The study found that cerium dioxide increases the absolute and relative weight of the ileum of broiler chickens and its length and width, and with 14 day interval - decreases. The use of selenium preparations on trobiotics caused a decrease in the

absolute weight of the large intestine of experimental chickens (by 8,66–20.3 %), as well as its relative weight (by 6,25–18,75 %) relative to the control group.

The use of compound feeds with the studied additives for the cultivation of Ross 308 cross-broiler chickens resulted in an increase in the safety of the broiler chickens by 1,0–3,1 % and the pre-slaughter weight of the 1st head by 3,45–7,29 %. The cost of feed per 1 kg of growth, and, accordingly, the cost of 1 kg of gutted carcass in the experimental groups decreased by 4,19–13,49 %. The conducted production inspection established that the use of cerium preparations and probiotics has a positive effect on the growth of profits and profitability of broiler chicken meat production with the best indicators in the group receiving nanocerium.

The addition of various selenium preparations to the diets of quails caused the activation of protein metabolism, which was manifested by an increase in the content of total protein in the blood by 8,4–14,27 % ( $\pm 0,05$ ), albumin by 2,88–24,45 % ( $p < 0,05$ ), creatinine ( $p < 0,05$ ), with a simultaneous decrease in uric acid content by 8,57 % and 25,71 % ( $p < 0,001$ ). The established changes had a positive effect on metabolic processes and did not have a negative effect on liver cells, as evidenced by the activity of transaminases, in particular ASAT and ALAT.

The performed gas chromatographic analysis of the fatty acid composition of quail blood plasma indicates an increase in serum lipids of poultry of the 1<sup>st</sup> group due to an increase in palmitic ( $p < 0,01$ ) and myristic ( $p < 0,001$ ) fatty acids, and the amount of unsaturated fatty acids was probably reduced ( $p < 0,001$ ). The level of PUFA is probably reduced compared to the birds of the 2<sup>nd</sup> group (experiment) due to the reduced content of essential LC (linoleic and linolenic). After administration of the drug nanoselen fatty acid lipid composition was normalized by reducing the content of palmitic by 18.9 % ( $p < 0,05$ ), myristic by 21,4 %, ( $p < 0,01$ ) and arachidonic by 19,6 %, ( $p < 0,01$ ) acids. It was found that for the fatty acid formula of serum lipids of quails, which received bionanoselen characterized by a probable decrease in the acid content of 14:0, 16:0 and 18:0, while significantly increasing the number of acids of 20:4 ( $\omega$ -3), 22:3, 22:5 ( $\omega$ -3) and 22:6 ( $\omega$ -3).

In the membranes of birds erythrocytes of the experimental group, there is a significant increase in absolute levels of phosphatidylethanolamine ( $p < 0,01$ ), sphingomyelin ( $p < 0,01$ ), phosphatidylserine ( $p < 0,05$ ), lysocardiolipin ( $p < 0,05$ ), lysophosphatidylcholine ( $p < 0,01$ ) and lysophosphatidylethanolamine ( $p < 0,01$ ) without significant changes in the content of phosphatidylinositol, phosphatidylcholine and cardiolipin. In this case, an increase in the content of acid 22:5  $\omega$ -3 ( $p < 0,01$ ), total cholesterol ( $p < 0,01$ ), as well as a decrease in the level of 22:5  $\omega$ -6 ( $p < 0,05$ ).

The study found that the addition of sodium selenite increased the activity of catalase and SOD by 2,8 % and 3.3 %, respectively, and combined administration with a probiotic increased the activity of catalase by 11,6 % and SOD by 10,7 % ( $p < 0,05$ ). The content of reduced glutathione significantly ( $p < 0,01$ ) by 25 % outweighed the control in the 4th experimental group, as well as the content of HS-groups of proteins – by 16,2 % ( $p < 0,01$ ). Similarly, SOD and CAT, the activity of GPO and GR and the content of TBA-AP increased relative to control in all experimental groups, significantly for enzymes ( $p < 0,05$ ) in the 3<sup>rd</sup> and ( $p < 0,01$ ) in the 4<sup>th</sup> groups and TBK-AP ( $p < 0,05$ ) in the 3<sup>rd</sup> and ( $p < 0,001$ ) in the 4<sup>th</sup> groups.

As a result of the conducted researches it was established that the growth of body weight, absolute and average daily gains of poultry differed depending on the use of the drug Selenium or probiotics. With varying degrees of reliability, the growth rates relative to control were manifested from the 14<sup>th</sup> day of the experiment until the end of the study.

The results of the study show that the quails of the experimental groups showed lower feed costs per 1 kg of body weight gain compared to control counterparts by 2,72–5,4 % and the cost of 1 kg of gutted carcass by 3,42–6,5 %, higher safety of livestock by 3,4–6,7 %, pre-slaughter weight of the one head by 4,14–11,83 %, and profitability of meat production, which increased from 33,45 % in control to 39,0–44,88 % in the experimental groups.

**Scientific novelty of the obtained results.** Scientific novelty of the obtained results. Biotechnology for the production of new preparations of cerium and selenium



nanoparticles with antibacterial, immunomodulatory and metabolism-enhancing properties has been developed.

The expediency of using cerium dioxide and selenium nanoparticles for broiler chickens and quails in order to increase their safety and productivity has been scientifically substantiated and experimentally confirmed. The influence of compounds on the indicators of immunoreactivity of the bird, productivity and safety was established.

For the first time, technologies for the simultaneous use of selenium preparations synthesized using "green synthesis" and probiotics to influence the economic performance of poultry farming have been developed. For the first time, the optimal dose of selenium and cerium nanopreparations in poultry feed to obtain high-quality poultry products was proved.

The scientific novelty of the obtained results was confirmed by the Technical Conditions of Ukraine and Patents for Utility Models.

For the first time, technologies for the simultaneous use of selenium preparations synthesized using "green synthesis" and probiotics to influence the economic performance of poultry farming have been developed. For the first time, the optimal dose of selenium and cerium nanopreparations in poultry feed to obtain high-quality poultry products was proved.

The scientific novelty of the obtained results was confirmed by the Technical Conditions of Ukraine and Patents for Utility Models.

**The practical significance of the obtained results.** Based on the assessment of the suitability of cerium dioxide and selenium nanoparticles, guidelines for their use have been developed and approved, which regulate their dosage, terms of use and provide a methodology for conducting research necessary for the effective realization of the genetic potential of birds. Positive results are fixed by Patents for utility model and Technical conditions.

The research results presented in the dissertation are included in the Technical Conditions and utility model patents that can be used in research and practice of industrial poultry farming. Materials of scientific work can be used in courses of

lectures on disciplines "Biotechnology", "Biochemistry" and "Feeding of farm animals" in higher education institutions for training in "Biotechnology", "Technology of production and processing of livestock products" and "Food Technology" and in scientific work.

The technology was developed to obtain nanosized preparations of selenium and cerium dioxide, in which nano-selenium is part of the microbial culture, and cerium nano-dioxide is covered with a citrate shell. Created micelles are a source of non-toxic, soluble and readily available forms of selenium and cerium. The created drugs are easier to digest in the gastrointestinal tract, have enzymatic properties and are part of antioxidant enzymes.

It is established that the obtained nanopreparations have an advantage over the mineral forms of elements used in Ukraine, due to the special ratio of surface area to mass, which allows to obtain new functional properties of nanopreparations. The introduction of nanosized selenium and cerium dioxide in the feed of broiler chickens, laying hens and meat quails increases the increase in live weight and increase the safety of poultry, which reduces the cost of poultry products and increases the profitability of the industry.

**Key words:** Selenium, cerium dioxide, nanoparticles, "green synthesis", quails, chickens laying hens, broiler chickens, laboratory rats, liver, blood serum, safety, live weight.

## **СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Мельниченко О.М., Олешко О.А. Біоміметична та антиоксидантна активність наносполук діоксиду церію. Світ медицини та біології, 2018, 1(63), 196–201. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

2. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyu, V.S., **Tsekhmistrenko, O.S.**, Polishchuk, V.M., Polishchuk, S.A., Ponomarenko, N.V., Melnychenko, Y.O., & Spivak, M.Y. Enzyme-like activity of nanomaterials. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 2018,

9(3), 469–476. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

3. Tymoshok N.O., Kharchuk M.S., Kaplunenko V.G., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I., **Tsekhmistrenko O.S.**, Spivak M.Y., Melnichenko O.M. Evaluation of effects of selenium nanoparticles on *Bacillus subtilis*. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 2019, 10(4), 544–552. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

4. Bityutskyy V., Tsekhmistrenko S., **Tsekhmistrenko O.**, Melnychenko O., Kharchyshyn V. Effects of Different Dietary Selenium Sources Including Probiotics Mixture on Growth Performance, Feed Utilization and Serum Biochemical Profile of Quails. In: Nadykto V. (eds) Modern Development Paths of Agricultural Production, 2019, Springer, Cham. 623–632. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

5. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S., **Tsekhmistrenko, O.S.**, Horalskyi, L.P., Tymoshok, N.O. Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. Biosystems Diversity, 2020, 28(1), 9–17. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

6. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S., **Tsekhmistrenko, O.S.**, Melnichenko, O.M., Kharchyshyn, V.M., Tymoshok, N.O., Ponomarenko, N.V., Polishchuk, S.A., Rol, N.V., Fedorchenko, M.M., Melnichenko, Yu.O., Merzlova, H.V., Shulko, O.P., Demchenko, A.A. Effects of selenium compounds and toxicant action on oxidative biomarkers in quails. Ukrainian Journal of Ecology, 2020, 10(2), 232–239. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, досліджено інтенсивність ліпопероксидації та підготовлено матеріали до друку).*

7. **Tsekhmistrenko O.S.**, Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchishin V.M., Melnichenko O.M., Rozputnyy O.I., Malina V.V., Prysiazhniuk N.M., Melnichenko Y.O., Vered P.I., Shulko O.P., L.S. Onyshchenko L.S. Nanotechnologies and environment: A review of pros and cons. Ukrainian Journal of Ecology, 2020, 10(3), 162–172. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

8. Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., **Tsekhmistrenko O.S.**, Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. Regulation of redox processes in biological systems with the participation of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway, biogenic selenium nanoparticles as Nrf2 activators. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2020, 11(4), 483–493. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

9. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Яремчук Т.С. Застосування Селену у процесі вирощування перепелів. *Вісник Білоцерківського аграр. ун-ту: Зб. наук. праць*, 2009, 2(68), 105–110. *(Здобувачем проведено експеримент, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

10. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М. Вплив різних форм селену на показники пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів. *Вісник Білоцерківського аграр. ун-ту: Зб. наук. праць*, 2010, 6 (79), 142–145. *(Здобувачем проведено експеримент, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

11. Цехмістренко С.І., Поліщук В.М., **Цехмістренко О.С.**, Бородай В.П. Вплив біогенних стимуляторів на інтенсивність пероксидного окиснення в організмі птиці. *Сучасне птахівництво*, 2011, 3(100), 15–17. *(Здобувачем проведено експеримент, відібрано органи та проведено біохімічне дослідження, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

12. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М. Динаміка пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів породи фараон за використання препаратів Селену. *Сучасне птахівництво*, 2011, 11–12, 15–18. *(Здобувачем проведено експеримент, відібрано органи та проведено біохімічне дослідження, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

13. **Цехмістренко О.С.** Показники ліпідного обміну в організмі перепелів. *Вісник Білоцерківського держ. аграр. ун-ту*, 2011, 5(82). 23–27.

14. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.** Вплив органічного селену на обмінні процеси в організмі перепелів. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, 2012, 13(1–2), 171–175. *(Здобувачем проведено експеримент, відібрано органи та проведено біохімічне дослідження, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

15. Пономаренко Н.В., Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Яремчук Т.С. Вплив насіння амаранту на організм за умов експериментального стресу. Вісник аграрної науки Причорномор'я, 2012, 70, 2(2), 121–125. *(Дисертантка виконала дослідження, провела аналіз одержаних даних та брала участь у підготовці статті).*

16. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Девеча І.О., Пономаренко Н.В., Поліщук В.М., Яремчук Т.С. Вплив Сел-Плексу на ліпопероксидацію в організмі птиці. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: Зб. наук. праць, 2013, 9(103), 16–19. *(Дисертантка виконала дослідження, провела аналіз одержаних даних та брала участь у підготовці статті).*

17. **Tsekhmistrenko O.** Lipid peroxidation in poultry organism. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Зб. наук. праць, 2014, 1, 73–76.

18. Bityutsky V.S., **Tsekhmistrenko O.S.**, Spyvac M.Y., Tsekhmistrenko S.I., Shadura U.M. Perspectives of cerium nanoparticles use in agriculture. The Animal Biology, 2017, 19(3), 9–18. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено до друку).*

19. Пономаренко Н.В., Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Поліщук С.А. Вплив біологічно активних речовин амаранту на склад ліпідів в організмі перепелів. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: Зб. наук. праць, 2018, 2(145), 46–53. *(Дисертантка брала участь у проведенні дослідження, провела аналіз одержаних даних).*

20. **Цехмістренко О.С.**, Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І., Мельниченко О.М., Тимошок Н.О., Співак М.Я. Використання наночастинок металів та неметалів у птахівництві. Технологія виробництва і переробки

продукції тваринництва. Зб. наук. праць, 2019, 2, 113–130. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

21. Bityutskyu V.S., Tsekhmistrenko S.I., **Tsekhmistrenko O.S.**, Oleshko O.A., Heiko L.M. Influence of selenium on redox processes, selenoprotein metabolism and antioxidant status of aquaculture facilities. Таврійський науковий вісник, 2020, 114, 231–240. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, підготовлено матеріали до друку та здійснено).*

22. Iqbal, A., Qudoos, A., Bayram, İ., Tytariova, O., **Tsekhmistrenko, O.**, Slomchynskiy, M., Babenko, S. Enhancing immunity level by using phytogetic feed additives in animal diets. Animal Husbandry Products Production and Processing, 2020, 2(158), 21–27. *(Здобувачем проведено частина експериментальної роботи).*

23. **Tsekhmistrenko O. S.**, Bityutskyu V. S., Tsekhmistrenko S. I., Spivak M. Y. Influence of cerium dioxide nanoparticles on biochemical indicators in the organism of broiler chicken. Veterinary science, technologies of animal husbandry and nature management, 2020. 6, 112–117. *(Здобувачем проведено експеримент, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

24. **Tsekhmistrenko O.S.**, Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchyshyn V.M., Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. (2020). Efficiency of application of inorganic and nanopreparations of selenium and probiotics for growing young quails. Theoretical and Applied Veterinary Medicine, 2020, 8(3), 206–212. *(Здобувачем проведено експеримент, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

25. **Цехмістренко О.С.** Біологічні методи синтезу наночастинок селену, їх характеристики та властивості. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: Зб. наук. праць, 2020, 2(158), 6–20.

26. **Цехмістренко О.С.** Перекисное окисление липидов в организме птицы. Аграрная наука – сельскому хозяйству. Сб. статей, Кн. 3. Барнаул, 2014, 220–222.

27. **Цехмістренко О.С.** Онтогенетические особенности функционирования антиоксидантной системы перепелов. Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Часть 2. Горки, БГСХА, 2016, 335–339.

28. **Цехмістренко О.С.,** Цехмістренко С.И., Пономаренко Н.В., Полищук В.Н., Полищук С.А. Окисление липидов в организме перепелов при введении препаратов Селена. Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции. Ставрополь, 2016, 648–653. *(Здобувачем проведено експеримент, відібраний матеріал та проведено біохімічне дослідження, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

29. Tytariova, O., Iqbal, A., Dyachenko, L., Bomko, V., **Tsekhmistrenko, O.**, Cherniavskiy, O., ... & Bayram, İ. (2020). Investigation the Effect of Different Levels of Dry Sugar Beet Pulp mixed Concentrate Feeds on Cadmium Levels in Rabbit Slaughter Products. Kocatepe Veteriner Dergisi, 13(2), 98–103. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

30. Демченко О.А., Співак М.Я., Жолобак Н.М., Щербаков О.Б., Іванов О.Б., Мельниченко О.М., Бітюцький В.С., Зоценко В.М., Тимошок О.Н., Величко В.О., Цехмістренко С.І., Мельниченко Ю.О., Харчишин В.М., Олешко О.А., **Цехмістренко О.С.,** Веред П.І. Добавка кормова “Наноцерій”. Технічні умови ТУ У 10.9-2960512097-003:2013. *(Здобувачем проведено відбір матеріалу для дослідження, виконано експериментальну частину щодо встановлення продуктів обміну та активності ферментів, підготовлено матеріали для патентування).*

31. Демченко О.А., Співак М.Я., Лазаренко Л.М., Тимошок О.Н., Мельниченко О.М., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І., Зоценко В.М., Бабенко Л.П., Мокрозуб В.В., Музика В.П., Мельниченко Ю.О., Харчишин В.М., **Цехмістренко О.С.,** Олешко О.А., Веред П.І. Добавка кормова “Лактокас”. Технічні умови ТУ У 10.9-2960512097-001:2013. *(Здобувачем виконано частину експериментальних досліджень, підготовлено матеріали для патентування).*

32. Співак М.Я., Мельниченко О.М., Бітюцький В.С., Лазоренко Л.М., Олешко О.А., Тимошок О.Н., Харчишин В.М., Кривцова Н.В., **Цехмістренко О.С.**, Бабенко Л.П., Мельниченко Ю.О., Демченко О.А. Добавка кормова біологічно активна для сільськогосподарських тварин, птиці та риби. Технічні умови ТУ У 10.9-00493712-001:2017. *(Здобувачем виконано експериментальну частину щодо встановлення продуктів обміну та активності ферментів, підготовлено матеріали для патентування).*

33. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Яремчук Т.С. Спосіб підвищення енергетичного обміну та антиоксидантного захисту в організмі перепелів. Патент на корисну модель № 49848, 2010. (2009, 12694). *(Здобувачем підготовлено матеріали для патентування).*

34. Бітюцький В.С., Співак М.Я., **Цехмістренко О.С.**, Шадуро Ю.М. Спосіб годівлі курей-несучок. Патент на корисну модель № 118905, 2017. (2017, 160322). *(Здобувачем підготовлено матеріали для патентування).*

35. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., **Цехмістренко С.І.**, Мельниченко Ю.О., Цехмістренко О.С., Веред П.І. Спосіб підвищення продуктивності, конверсії корму та збереження перепелів. Патент на корисну модель № 132654, 2019. *(Здобувачем проведено відбір біологічного матеріалу, виконано експериментальну частину, підготовлено матеріали для патентування).*

36. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., Співак М.Я., Тимошок О.Н., **Цехмістренко О.С.**, Мельниченко Ю.О., Цехмістренко С.І., Олешко О.А. Спосіб ефективного застосування нових форм селену у перепелівництві. Патент на корисну модель № 135635, 2019. *(Здобувачем проведено виконано експериментальне дослідження щодо застосування різних форм селену у перепелівництві та підготовлено матеріали для патентування).*

37. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., Співак М.Я., Тимошок О.Н., Мельниченко Ю.О., **Цехмістренко О.С.**, Олешко О.А. Поліщук В.М. Спосіб інтенсифікації білкового обміну у перепелів. Патент на корисну модель № 135682, 2019. *(Здобувачем проведено експериментальну частину*



щодо встановлення інтенсивності білкового обміну у перепелів та підготовлено матеріали для патентування).

38. Спосіб корекції ліпідного обміну у перепелів за участю наноматеріалів: патент на корисну модель № 137453, МПК (2019.01) / Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., **Цехмістренко О.С.** та ін. заявл. 22.03.2019 ; опублік. 25.10.2019; бюл. №20. 4 с. (Здобувачем проведено експериментальну частину щодо встановлення інтенсивності ліпідного обміну у перепелів та підготовлено матеріали для патентування).

39. Спосіб ефективного вирощування перепелів за використання кормової добавки біотехнологічного походження: патент на корисну модель № 143813, МПК (2019.01) / Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., **Цехмістренко О.С.** та ін. заявл. 16.03.2020; опублік. 10.08.2020; бюл. №11. 4 с. (Здобувачем проведено експериментальну частину щодо встановлення інтенсивності господарських показників перепелів та підготовлено матеріали для патентування).

40. **Цехмістренко О.С.** Рекомендації щодо використання наноцерію у годівлі курчат-бройлерів та курей-несучок. Біла Церква, 2017, 16 с.

41. **Цехмістренко О.С.** Рекомендації по використанню кормової добавки біотехнологічного походження з метою підвищення продуктивності перепелів. Біла Церква, 2020, 18 с.

42. Цехмістренко С.І., Кононський О.І., **Цехмістренко О.С.** Біохімія тварин з основами фізичної і колоїдної хімії. Практикум: Навч. посіб. Біла Церква, 2011, 216 с. (Здобувачем підготовлено матеріали до друку).

43. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.** Біохімія м'яса та м'ясопродуктів: Навч. посіб. Біла Церква, 2014, 192 с. (Здобувачем підготовлено матеріали до друку).

44. Цехмістренко С.І., Яремчук Т.С., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Чубар О.М., Пономаренко Н.В. Енергетичний обмін та антиоксидантний статус тканин птиці. Укр. біохім. журн, 2010, 82(4), 256–257. (Здобувачем проведено дослідження, підготовлено матеріали до друку).

45. Кононський О.І., Сенік С.В., **Цехмістренко О.С.**, Єсьман Д.В. Пероксидне окислення ліпідів у перепелів і вплив його на їхню продуктивність. Укр. біохім. журн, 2010, 82(4), 263–264. *(Здобувачем виконано експериментальну частину, підготовлено матеріали до друку).*

46. **Цехмістренко О.С.** Вплив екзогенних антиоксидантів на ліпопероксидацію в організмі птиці за антропогенного навантаження. Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф., Мелітополь, 2013, 27–29.

47. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Девича І.О., Пономаренко Н.В. Антиоксидантний статус органів та тканин птиці різних видів. Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф., Мелітополь, 2013, 21–22. *(Дисертантка брала участь у експериментальних дослідженнях, підготовці матеріалів до друку).*

48. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.** Ліпопероксидація в організмі птиці за антропогенного навантаження. Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва: матеріали держ. наук.-практ. конф., Біла Церква, 19 листоп. 2015 р., 42–43. *(Проведена експериментальна частина, опрацьовані результати).*

49. **Цехмістренко О.С.** Онтогенетичні особливості функціонування антиоксидантної системи в організмі перепелів. Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016: Конференція-конкурс молодих учених, Київ, 26–27 трав. 2016 р., 59.

50. Бітюцький В.С., Співак М.Я., **Цехмістренко О.С.**, Шадуря Ю.М. Використання сполук церію у тваринництві. Аграрна наука – виробництву: матеріали держ. наук.-практ. конф., Біла Церква, 17 листоп. 2016 р., 84–85. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

51. Бітюцький В.С., **Цехмістренко О.С.** Методи одержання нанокристалічного діоксиду церію та використання його сполук. Новітні

технології виробництва та переробки продукції тваринництва: матеріали держ. наук.-практ. конф. молодих учених, аспірантів і докторантів, Біла Церква, 18 трав. 2017 р., 14–15. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

52. Бітюцький В.С., **Цехмістренко О.С.** Шляхи взаємодії наночасточок діоксиду церію із живими клітинами та біологічними мембранами. Іхтіологія та морфологія – наукова та практична основа рибництва: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 24 жовт. 2017 р., 32–33. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

53. Bityutsky V., **Tsekhmistrenko O.**, Tsekhmistrenko S., Kharchyshyn V., Melnychenko Yu. Effects of dietary selenium including probiotics mixture on growth performance, **serum biochemical parameters of pharaon quails**. Smart Bio: 2<sup>nd</sup> International Conference, Kaunas, 03–05 May 2018, 157. *(Дисертанткою здійснено відбір матеріалу, проведено експериментальну частину, підготовлено матеріали для опублікування).*

54. Цехмістренко О.С., **Цехмістренко С.І.**, Горальський Л.П. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у птиці за корекції патологічних станів. Аграрна освіта і наука: досягнення, роль, фактори росту: сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 27–28 верес. 2018 р., 19–22. *(Дисертантка брала участь у експериментальних дослідженнях, готувала матеріали до друку).*

55. Бітюцький В.С. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Харчишин В.М. Використання різних форм церію в аграрному секторі. Аграрна освіта і наука: досягнення, роль, фактори росту: сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 27–28 верес. 2018 р., 38–40. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

56. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Мельниченко О.М. Вплив різних джерел селену та пробіотиків на продуктивність та біохімічні показники сироватки крові перепелів. Проблеми годівлі тварин в умовах високоінтенсивних технологій виробництва і переробки продукції тваринництва: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 1–2 лют. 2019 р., 7–9. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

57. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Співак М.Я., Тимошок Н.О. Вплив пробіотичних препаратів на біохімічні показники крові та печінки перепелів. Сучасні технології у тваринництві та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми: матеріали 73-ї Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, Київ, 3–4 квіт. 2019 р., 229–231. *(Здобувачем здійснено відбір тканин, проведено експериментальну частину, підготовлено матеріали до публікації).*

58. **Цехмістренко О.**, Цехмістренко С., Бітюцький В., Харчишин В., Шулько О. Використання сучасних пробіотиків як інноваційний потенціал для вирішення екологічної безпеки та викликів сталого розвитку. Європейські виміри сталого розвитку: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Київ, 23–24 квіт. 2019., 72–73. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

59. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Пономаренко Н.В., Поліщук В.М., Селезньова О.О., Поліщук С.А. Вікові особливості функціонування системи антиоксидантного захисту птиці. Актуальні проблеми фізіології та біохімії: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Київ, 28 трав. 2019 р., 60–61. *(Здобувачем здійснено відбір тканин та органів перепелів, проведено експериментальну частину, підготовлено матеріали для публікування).*

60. Тимошок Н.О., Співак М.Я., **Цехмістренко О.С.**, Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. Процеси біологічної трансформації різних форм селену бактеріями. Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 31 жовт.

2019 р., 5–7. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

61. Бітюцький В.С., Мельниченко О.М., Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Харчишин В.М., Мельниченко Ю.О., Співак М.Я., Тимошок Н.О. Вплив нових форм селену на продуктивність та обмінні процеси у перепелів. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 31 жовт. 2019 р., 36–38. *(Проведена експериментальна частина, опрацьовані результати).*

62. **Tsekhmistrenko O.**, Tsekhmistrenko S., Bityutskyu V. Nanoscale cerium dioxide as a mimetic of antioxidant protection enzymes. Multidisciplinary conference For young researchers, 22 November 2019, 68–71. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

63. **Цехмістренко О.**, Бітюцький В., Цехмістренко С. Вплив селеновмісних пробіотичних препаратів на метаболічні процеси в організмі птиці. Animal welfare in the conditions of global climate change. The 1st International Scientific and Practical Conference, Dnipro, 21–22 April, 2020, 36–38. *(Здобувачем проведено відбір матеріалу для дослідження, виконано експериментальну частину).*

64. **Цехмістренко О.С.**, Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. “Зелені” технології у синтезі наночастинок селену. Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах: матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., Т.2. Дніпро, 28–29 трав. 2020 р., 506–509. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

65. **Цехмістренко О.**, Бітюцький В., Цехмістренко С., Харчишин В. Використання наночастинок селену, синтезованих з використанням “зелених” технологій, у годівлі перепелів. Європейські виміри сталого розвитку: матеріали II Міжнар. наук.-практ. конф., Київ, 26 черв. 2020 р., 62–63. *(Здобувачем виконано експериментальну частину, підготовлено матеріали до друку).*

66. **Цехмістренко О.С.** Вплив препаратів селену та пробіотики на морфологічні показники інкубаційних яєць курей. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток технологій тваринництва. Інноваційні підходи в харчових технологіях: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 30 жовт. 2020 р., 22–23.

67. **Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І.** Нанотехнології і навколишнє середовище. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Біла Церква, 30 жовт. 2020 р., 26–29. *(Здобувачем здійснено аналіз літератури, підготовлено матеріали до публікації).*

68. **Tsekhmistrenko, O., Tymoshok, N., Bityutskyu, V., Lazarenko, L., Kryvtsova, M.** Biosynthesis of selenium nanoparticles by lactobacteria and selenium supplementation on japanese quail broilers. XLVIII Fiatal tudósok tudományos konferenciájára, melynek lebonyolítására online formában kerül sor, 2020. 23. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

69. **Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyu, V.S., Tsekhmistrenko, O.S.** Markers of oxidative stress in the blood of quails under the influence of selenium nanoparticles. Impact of modernity on science and practice. Abstracts of XVIII International Scientific and Practical Conference. Boston, USA 2020, 177–180. *(Здобувачем проведено експеримент, відібрано органи та проведено біохімічне дослідження, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

70. **Tsekhmistrenko, O.S., Bityutskyu, V.S., Tsekhmistrenko, S.I.** The influence of probiotics and the complex of biogenic nanoselenium and probiotics on the blood and liver biochemical indicators. Scientific bases of solving of the modern tasks. Abstracts of XIX International Scientific and Practical Conference. Frankfurt am Main, Germany, 2020, 412–415. *(Здобувачем проведено експеримент,*

*проведено біохімічне дослідження, узагальнено отримані дані результатів дослідження та підготовлено матеріали до друку).*

71. **Tsekhmistrenko, O.S.,** Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S. Biological and physiological role and using of selenium compounds in livestock and poultry. Theoretical and practical foundations of social process management. Abstracts of XVIII International Scientific and Practical Conference. Boston, USA, 2020, 105–110. *(Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовлено матеріали до друку).*

72. **Tsekhmistrenko, O.S.,** Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, S.I. Influence of selenium compounds on histological indicators of quails in the age aspect. Perspective directions for the development of science and practice. Abstracts of XX International Scientific and Practical Conference. Athens, Greece 2020, 95–98. *(Здобувачем проведено експеримент, відібрано органи та проведено біохімічне дослідження).*

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	2
ЗМІСТ .....	32
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	35
ВСТУП .....	36
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	44
1.1. Характеристика наночастинок.....	44
1.2. Методи синтезу наночастинок.....	47
1.3. Фактори, що впливають на «зелений» синтез наночастинок.....	52
1.4. Екодружній синтез наночастинок бактеріями .....	54
1.5. Механізми синтезу наночастинок бактеріями .....	56
1.6. Роль Селену в регуляції редокс-процесів у клітинах .....	62
1.7. Сигнальний шлях Keap1/Nrf2/ARE.....	65
1.8. Наноселен як індуктор сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE .....	70
1.9. Перспективи використання наночастинок .....	75
1.10. Наноселен у птахівництві.....	77
1.11. Перспективи використання наночастинок церію у сільському господарстві.....	82
1.12. Потенційна небезпечність використання наночастинок.....	87
1.13. Заключення .....	90
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	91
2.1. Матеріал досліджень .....	91
2.2. Методи досліджень .....	97
3. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	106
3.1. Синтез наночастинок Селену біотехнологічними методами та вивчення їх властивостей .....	106
3.1.1. Вибір пробіотику та поживного середовища для його культивування...	106
3.1.2. Електронно-мікроскопічна характеристика наноселену .....	110



3.1.3. Біотехнологія створення кормових добавок на основі <i>L. plantarum</i> IMB B-7679 з різними носіями Селену .....	113
3.1.4. Синтез наночастинок Селену пробіотичною культурою <i>B. subtilis</i> IMB B-7392 .....	115
3.1.5. Визначення основних показників біологічно активної кормової добавки з наночастинками Селену .....	125
3.1.6. Визначення токсичності наносполук Селену .....	128
3.2. Ефективність застосування різних форм Селену за вирощування перепелів .....	133
3.2.1. Показники білкового обміну крові перепелів за дії Селену .....	133
3.2.2. Характеристика ліпідного обміну крові перепелів за дії Селену .....	137
3.2.3. Жирнокислотний склад ліпідів плазми крові перепелів .....	139
3.2.4. Жирнокислотний склад мембран еритроцитів крові перепелів .....	149
3.2.5. Фосфоліпідний склад мембран еритроцитів та плазми крові перепелів за використання сполук Селену .....	152
3.2.6. Дослідження дії різних форм Селену на пероксидне окиснення ліпідів у печінці перепелів .....	156
3.2.7. Вплив сполук Селену на морфологію органів виділення перепелів .....	161
3.2.8. Розвиток вісцеральних органів перепелів за додавання різних форм Селену .....	164
3.2.9. Прирости маси тіла молодняку перепелів за додавання сполук Селену	170
3.3. Характеристика наночастинок діоксиду церію .....	176
3.3.1. Біотехнологія використання нанокристалічного діоксиду церію .....	176
3.3.2. Експрес-оцінка стабільності препарату наночастинок діоксиду церію ..	183
3.3.3. Визначення гострої токсичності нанодисперсного діоксиду церію .....	186
3.3.4. Вивчення хронічної токсичності препарату НДЦ .....	197
3.4. Дослідження впливу наночастинок церію на організм курчат-бройлерів	204
3.4.1. Вплив наночастинок діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів .....	204
3.4.2. Якість м'яса курчат-бройлерів за додавання наночастинок діоксиду церію	207

3.5. Дія нанодисперсного діоксиду церію на курей-несучок .....	209
3.5.1. Вплив нанодисперсного діоксиду церію на морфометричні показники кишечнику курей-несучок.....	209
3.5.2. Морфометрична характеристика репродуктивних органів курей-несучок за впливу нанодисперсного діоксиду церію.....	214
3.5.3. Дослідження дії нанодисперсного діоксиду церію на якість яєць курей- несучок .....	216
3.6. Економічна ефективність використання наночастинок.....	219
3.6.1. Вплив різних форм Селену на продуктивність перепелів .....	219
3.6.2. Економічна ефективність використання наночастинок діоксиду церію у виробництві яєць та м'яса курей .....	221
ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	224
ВИСНОВКИ.....	262
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ .....	266
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	267
ДОДАТКИ.....	346

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

ARE	– елементи антиоксидантної відповіді
Ce	– Церій
Keap1/Nrf2/ARE	– редокс-чутлива сигнальна система
Nrf2	– редоксчутливий фактор транскрипції
Se	– Селен
SeNPs	– наночастинки Селену
АлАТ	– аланінамінотрансфераза
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза
АФО	– активні форми Оксигену
ГПО	– глутатіонпероксидаза
ГР	– глутатіонредуктаза
ГТ	– глутатіонтрансфераза
ЖК	– жирні кислоти
КУО	– колонієутворюючі організми
МПА	– м'ясо-пептоновий агар
НАДФ	– нікотинаміддинуклеотид фосфат
НДЦ	– нанокристалічний діоксид церію
НЧ	– наночастинки
ПНЖК	– поліненасичені жирні кислоти
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів
РЗЕ	– рідкоземельні елементи
СОД	– супероксиддисмутаза
ТБК-АП	– активні продукти тіобарбітурової кислоти
ФІ	– фагоцитарний індекс
ФП	– фагоцитарний показник
ЦП	– церулоплазмін

## ВСТУП

**Актуальність проблеми.** В умовах промислового ведення птахівництва виникає низка проблем, пов'язаних з захворюваннями, які уповільнюють темпи зростання птиці та призводять до економічних втрат [35]. Окрім цього, дія різних стрес-чинників (висока щільність посадки птиці, вакцинація, транспортування) зумовлюють розвиток оксидативного стресу, що призводить до зниження їх продуктивності та резистентності [25; 49; 82; 291].

Нині існує потреба в альтернативних методах захисту птиці та поліпшення якості отриманої продукції, яка може бути вирішена за рахунок нанотехнологій. Суттєве значення для життєдіяльності організмів в якості ключових перетворювачів клітинної сигналізації та метаболізму мають окисно-відновні реакції. Одним з важливих елементів, що відіграє значну роль у регуляції редокс-процесів у клітинах організму є металоїд Селен [78; 277; 488; 578]. Селен виконує важливу роль через поліфакторну дію, а його включення до складу комбікорму є необхідним, особливо в регіонах із ґрунтами, дефіцитними за Селеном. Додатки Селену з використанням неорганічних і органічних форм застосовуються для підвищення темпів росту птиці та посилення антиоксидантного захисту організму [681]. Однак дані форми мають обмеження, зокрема вузький інтервал безпеки та неспецифічне зв'язування з тканинними білками [169]. Альтернативною формою є наночастинки Селену, які мають кращу біодоступність, відносно високий запас безпеки і низьку токсичність [410; 679].

Введення понять “зеленої хімії” і “нанотехнологій” є одним із революційних подій у науці, які вплинули на проведення досліджень щодо екологічної безпеки та зменшення розмірів об'єктів. Об'єднання цих двох галузей проклало шлях до нової “зеленої” та нанорозмірно орієнтованої науки під назвою “зелені нанотехнології” або біонанотехнології [23; 29; 607]. Перевага наноструктур, синтезованих зеленим підходом, полягає в тому, що конкретні біоб'єкти (рослини, мікроорганізми) містять велику різноманітність біомолекул, які трансформують неорганічні форми Селену в наноселен та покривають поверхню синтезованих наночастинок, утворюючи шари покриття,

які забезпечують стабільність, біосумісність та унікальну специфічність їх дії. Синтезовані пробіотичними бактеріями наночастинки Селену [632] можуть ефективно застосовуватися як альтернатива іншим формам Селену в якості кормової добавки завдяки синергізму дії Se і пробіотиків для зменшення оксидативного стресу, підвищення резистентності та продуктивності птиці.

Оксидативний стрес є серйозним згубним фактором для клітинної цілісності внаслідок постійного вивільнення реактивних форм Оксигену, опосередкованих різними біотичними (бактеріями, вірусами, грибами) та абіотичними стресорами. Фундаментальним шляхом у підтримці клітинного окислювально-відновного гомеостазу є редокс-чутлива сигнальна система Keap1/Nrf2/ARE, яка відіграє ключову роль у стресових, запальних, канцерогенних і проапоптотичних умовах [163; 342].

Останнім часом з'явилися повідомлення, що біогенні наночастинки Селену, отримані методами "зеленої" хімії за участі лактобактерій, впливають на редоксчутливий фактор транскрипції Nrf2, який активує транскрипцію та синтез низки антиоксидантних та детоксикуючих ензимів [355; 602; 631].

Публікації останніх років досить широко висвітлюють дослідження щодо впливу мінеральних, органічних і нанопрепаратів Селену та пробіотиків на ефективність вирощування сільськогосподарської птиці, мають позитивний вплив на ріст і розвиток, витрати корму та збереженість поголів'я [596].

Використання препаратів рідкоземельних елементів (РЗЕ) у якості добавок до раціону сільськогосподарських тварин та птиці практикується впродовж кількох десятиліть [287; 429; 671]. Нові перспективи використання рідкоземельних елементів, зокрема діоксиду церію, як засобів покращення біологічної функції організму, відкривають нанотехнології. Показано, що перехід діоксиду церію у нанокристалічний стан супроводжується змінами у його біологічній активності, зростанні антиоксидантних та появи пребіотичних властивостей [37; 70; 400; 557].

Розроблення нових біотехнологій для одержання та ефективного використання наночастинок металоїдів та оксидів металів як кормових добавок

у галузі птахівництва є актуальним напрямом наукових досліджень, має важливе теоретичне та практичне значення.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Наукова робота є частиною комплексних програм науково-дослідних робіт Міністерства науки і освіти України: “Вплив різних фізико-хімічних чинників на біохімічні процеси в організмі тварин та птиці” (№ держреєстрації 0115U005335), що виконується в НДІ екології та біотехнології, а також кафедри хімії Білоцерківського національного аграрного університету впродовж 2016–2021 років. Окремі дослідження виконані у рамках комплексної фундаментальної програми НАН України “Перспективні фундаментальні дослідження та інноваційні розробки наноматеріалів і нанотехнологій для потреб промисловості, охорони здоров'я та сільського господарства” на 2020–2024 рр, що проводяться разом з дослідниками Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (відділ проблем інтерферону і імуномодуляторів) у межах теми “Розроблення наукових основ біотехнології отримання безпечних, селеновмісних пробіотичних препаратів для підвищення продуктивності та збереження поголів'я птиці” (шифр: 53/20-Н) (№ держреєстрації 0120U102297).

**Мета та завдання дослідження.** Метою роботи є синтез нових препаратів наночастинок Селену, встановлення ефективності використання наноселену та нанокристалічного діоксиду церію для різних видів птиці, перевірка дії наночастинок на корекцію адаптивних систем організму птиці у виробничих умовах та вплив розроблених препаратів на господарські показники.

**Для досягнення мети було поставлено такі завдання:**

- Розробити технологію одержання нових препаратів наночастинок Селену, обрати пробіотик та поживне середовище для його культивування, створити кормову добавку на основі обраного пробіотику з різними носіями Селену для перепелів;
- Синтезувати нанопрепарати Селену бактеріальним шляхом, провести електронно-мікроскопічну характеристику нанопрепаратів, синтезованих

бактеріальним шляхом та провести токсикологічні дослідження препаратів на лабораторних тваринах;

– Визначити основні показники та характеристики біологічно активної кормової добавки для сільськогосподарських тварин та птиці;

– Дослідити вплив різних форм Селену на метаболічні процеси в організмі перепелів, розвиток вісцеральних органів, морфологічні показники кишечника, а також на економічні показники виробництва м'яса птиці;

– Дослідити вплив різних форм Селену на показники білкового та ліпідного обмінів у крові перепелів, показники процесів ПОЛ у печінці, жирнокислотний та фосфоліпідний склад крові, прирости маси молодняку перепелів та економічну ефективність їх використання у виробництві м'яса;

– Визначити гостру і хронічну токсичність наночастинок діоксиду церію, дослідити їх вплив на гематологічні та біохімічні показники лабораторних тварин за тривалого введення;

– Дослідити вплив наночастинок діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів та якість м'яса;

– Дослідити вплив наночастинок діоксиду церію на курей-несучок, морфометричні показники їх репродуктивних органів та на якість яєць.

*Об'єкт дослідження* – біотехнологія одержання нових препаратів наночастинок Селену, вплив наночастинок Селену та діоксиду церію на адаптивні системи організму птиці, прирости маси птиці, жирнокислотний та фосфоліпідний склад крові, показники білкового та ліпідного обмінів розвиток паренхіматозних та репродуктивних органів, морфометричні показники яєць.

*Предмет дослідження* – препарати наночастинок Селену та діоксиду церію, лабораторні щурі та миші, перепела, курчата-бройлери, кури-несучки, паренхіматозні органи, репродуктивні органи, кров, сироватка крові, біохімічні та зоотехнічні показники птиці.

*Методи дослідження* – біотехнологічні, електронно-мікроскопічні, фізико-хімічні, токсикологічні, мікробіологічні, біохімічні, хроматографічні, фізіологічні, морфологічні, морфометричні, зоотехнічні, статистично-математичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Розроблено біотехнологію одержання нових препаратів наночастинок Селену з використанням пробіотиків.

Науково обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність використання препаратів наночастинок Селену за вирощування перепелів, а також перспективність застосування наночастинок діоксиду церію для курчат-бройлерів та курей-несучок з метою підвищення їх збереженості та продуктивності.

Уперше відпрацьовано технології одночасного застосування препаратів Селену, синтезованих методом “зеленого синтезу” за допомогою пробіотику для активації метаболічних процесів в організмі птиці та покращення господарських показників за їх вирощування. Уперше доведено доцільність внесення нанопрепаратів Селену та діоксиду церію у комбікорм птиці для одержання якісних продуктів птахівництва. Підтверджено наукову новизну одержаних результатів Технічними умовами України та Патентами на корисну модель.

**Практичне значення одержаних результатів.** На підставі оцінки придатності препаратів наночастинок Селену та діоксиду церію розроблено та затверджено настанови щодо їх застосування, де регламентоване їх дозування, терміни використання та наведена методологія проведення досліджень, необхідних для ефективного реалізації генетичного потенціалу птиці. Закріплено позитивні результати Патентами на корисну модель та Технічними умовами.

Результати досліджень, викладені в дисертаційній роботі, включено до Технічних умов та патентів на корисну модель, які можуть бути застосовані в науково-дослідних роботах та в практиці промислового птахівництва. Матеріали наукової роботи можуть бути використані в курсах лекцій з дисциплін “Біотехнологія”, “Біохімія” та “Годівля сільськогосподарських тварин” у закладах вищої освіти для підготовки фахівців за спеціальностями “Біотехнологія”, “Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва” та “Харчові технології” та науковій роботі.

Розроблена технологія дала змогу одержати нанорозмірні препарати Селену, в яких наноселен перебуває у складі мікробіальної культури. Створені



міцели слугують джерелом нетоксичної, розчинної і легкодоступної форми Селену та діоксиду церію. Ці препарати легше засвоюються у шлунково-кишковому тракті, мають ензимоміметичну активність та входять до складу антиоксидантних ферментів.

Встановлено, що досліджувані нанопрепарати мають перевагу над мінеральними формами елементів, які застосовуються в Україні, внаслідок особливого співвідношення площі поверхні до маси, що обумовлює нові функціональні властивості нанодобавок. Введення нанорозмірних препаратів Селену та діоксиду церію до комбікорму перепелів, курчат-бройлерів та курей-несучок сприяє активації метаболічних процесів, збільшенню приростів маси тіла та підвищенню збереженості поголів'я птиці, призводить до зниження собівартості продукції птахівництва та підвищення рентабельності галузі.

Пропозиції виробництву викладені у рекомендаціях “Рекомендації по використанню кормової добавки біотехнологічного походження з метою підвищення продуктивності перепелів”, які затверджені радою біолого-технологічного факультету БНАУ та навчальних посібниках “Біохімія тварин з основами фізичної і колоїдної хімії. Практикум” та “Біохімія м'яса та м'ясопродуктів”, яким надано Гриф Міністерства освіти, науки, молоді та спорту. Результати досліджень апробовані у виробничих умовах та підтверджено актами впровадження.

**Особистий внесок здобувача.** Автором особисто розроблені схеми лабораторних та виробничих досліджень, власноруч проводились експериментальні дослідження, статистична обробка та аналіз одержаних результатів, їх обґрунтування та висновки. За участі наукового консультанта, доктора сільськогосподарських наук, професора В.С. Бітюцького розроблена схема й методика виконання дослідження з використанням сучасних біотехнологічних та біохімічних методів, підготовка та узагальнення висновків і пропозицій виробництву. Токсикологічні дослідження проведені спільно зі співробітниками лабораторії токсикології Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок (Львів).

Автор висловлює вдячність зав. відділом проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного, доктору біологічних наук, член-кореспонденту НАН України М.Я. Співаку за люб'язне надання препарату наноцерію та консультативну допомогу під час проведення мікробіологічних досліджень. Одержання біогенного наноселену за участі бактерій проводилося спільно з канд. біол. наук Н.О. Тимошок (Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного), за що автор щиро дякує.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи доповідалися й отримали позитивне схвалення на Міжнародних науково-практичних конференціях: “Біохімія у вирішенні актуальних питань біології, ветеринарії та тваринництва” (Біла Церква, 2009); “Екотрофологія. Прогрес, проблеми, перспективи екологічно безпечного виробництва” (Біла Церква, 2013); “Аграрная наука – сільському господарству” (Барнаул, 2014); “Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства” (Горки, 2016, 2017); “Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции” (Ставрополь, 2016); “Проблеми та шляхи інтенсифікації виробництва продукції тваринництва” (Дніпро, 2017); “Іхтіологія та морфологія – наукова та практична основа рибництва” (Біла Церква, 2017); “Проблеми годівлі тварин в умовах високоінтенсивних технологій виробництва і переробки продукції тваринництва” (Біла Церква, 2019); “Європейські виміри сталого розвитку” (Київ, 2019, 2020); “Актуальні проблеми фізіології та біохімії тварин” (Київ, 2019); “Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва”; (Біла Церква, 2012–2020); “Multidisciplinary Conference for Young Researchers” (Біла Церква, 2019); “Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво” (Біла Церква, 2019, 2020); “Animal welfare in the conditions of global climate change” (Дніпро, 2020); “Фізіолого-біохімічні та технологічні аспекти тваринництва” (Біла Церква, 2020); “Проблеми виробництва екологічно чистої продукції тваринництва” (Біла Церква, 2020); “Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах” (Дніпро, 2020);

“Theoretical and practical foundations of social process management” (Сан-Франциско, 2020); “Impact of modernity on science and practice” (Бостон, 2020); “Scientific bases of solving of the modern tasks” (Франкфурт-на-Майні, 2020); “Perspective directions for the development of science and practice” (Афіни, 2020); XI Українському біохімічному конгресі (Київ, 2014); XII Українському біохімічному конгресі (Тернопіль, 2019); 2<sup>nd</sup> та 3<sup>rd</sup> Міжнародних конгресах “Smart Bio” (Каунас, 2018, 2019); Всеукраїнських науково-практичних конференціях “Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища” (Мелітополь, 2013); “Сучасні технології у тваринництві та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми” (Київ, 2019); “Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва” (Біла Церква, 2009–2020); “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті”. (Біла Церква, 2009–2020); конференції-конкурсі учених Українського Біохімічного Товариства Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті” (Київ, 2016); Міжнародній весняній школі “На шляху до гарантування безпечності харчових продуктів: підходи у запровадженні та здійсненні Європейського контролю за безпечністю харчових продуктів” (Київ, 2020) та на засіданнях вченої ради біолого-технологічного факультету Білоцерківського національного аграрного університету (Біла Церква, 2010–2020).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 72 наукові праці, зокрема: 29 статей, із них 17 у фахових виданнях України, 8 – у журналах, що індексуються у міжнародних базах Scopus і WOS, 4 – у зарубіжних виданнях; 3 – Технічні умови України; 7 – Патентів на корисну модель; 2 – навчальні посібники, 30 – тез доповідей конференцій та 2 – методичні рекомендації.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів дослідження, результатів досліджень, узагальнення результатів досліджень, висновків та пропозицій виробництву, списку використаних джерел та додатків. Робота викладена на 345 сторінках, містить 34 рисунки та 39 таблиць. Список використаної літератури включає 723 джерела, зокрема 606 – латиною.

## 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Характеристика наночастинок

Теперішньому етапу розвитку науки впродовж останніх 20 років притаманна всебічна мініатюризація технологічних процесів у хімії, біології, медицині та сільському господарстві, що сприяє формуванню принципово нового напрямку – нанотехнології. Термін «нано» походить від грецького слова «nanos», що означає карлик, і позначає вимірювання в масштабі однієї мільярдної метра ( $10^{-9}$ ) [33]. Наночастинка – частинка речовини довільної форми з розмірами від 1 до 100 нм. У нанотехнології частинкою називають невеликий об'єкт, що поводить себе як єдине тіло стосовно своїх транспортних та фізичних властивостей. Найважливішою їх особливістю є співвідношення площі поверхні до об'ємних розмірів, що дає змогу їм легше взаємодіяти з іншими частинками. Для порівняння: нитка ДНК має діаметр 2,5 нм, типовий вірус близько 100 нм [650], а бактерія – близько 1–3 мкм [329]. Займаючи проміжне положення між окремими атомами та молекулами, наночастинки проявляють принципово інакші, порівняно з макросвітом, фізичні та хімічні властивості [613; 657].

На сьогодні світове виробництво MtNPs оцінюється в 13,7 мільярдів доларів США, а до 2026 року досягне 20 мільярдів [460]. Наразі у світі створюються численні каталітично активні наноматеріали різного походження [613], серед яких представлені наноматеріали з ферментно-міметичними властивостями, як потенційна альтернатива природним ензимам та для застосування в імуноаналізі, біосенсоріці, онкотерапії, фармації, харчовій промисловості, екології тощо [185; 254; 378; 441]. Міметики на основі наноматеріалів, порівняно з ензимами натурального походження, є стабільнішими у жорстких умовах, здатні змінювати каталітичну активність, їх виробництво відносно не складне та економічно виправдане, що обумовлює їх велике значення в практичному застосуванні [387; 665]. Циклічність дії наночастинок та можливість відновлення без суттєвої втрати в наступних циклах каталітичної активності робить їх унікальними сполуками [665]. Окрім того, поверхня наноматеріалів на відміну від природних ензимів, які мають лише один активний сайт у молекулі, можуть мати більше каталітичних

центрів [258; 389]. Наночастинки, які можуть використовуватися у біології та медицині, повинні мати низьку токсичність або повну її відсутність, високу біосумісність, здатність до біодеградації чи виведення з організму природнім шляхом [37; 161; 162; 110; 461; 589; 687].

Значна адсорбційна активність наночастинок, через збільшену питому поверхню, дає змогу їм поглинати на одиницю маси набагато більше речовин, що адсорбуються, ніж макроскопічні дисперсії [326; 651]. Велика питома поверхня збільшує адсорбційну ємність та адсорбцію на наночастинках контамінантів з полегшенням їх транспорту в клітини [326]. Наноматеріали є ефективними, недорогими та екологічно чистими альтернативами існуючим матеріалам для обробки, оскільки вони забезпечують високу ефективність та відмінні характеристики, зокрема високу швидкість реакції та відношення поверхні до маси [476]. Наночастинки металів, завдяки маленьким розмірам, легко проникають у організм через органи дихання, травлення, шкіру, долають біобар'єри (гепато-енцефалічний, гістогематичний, плацентарний), зв'язуються з нуклеїновими кислотами та білками, вбудовуються в мембрани клітин, проникають в органели зі зміною їхніх функцій та проявляють більш виражену біологічну активність внаслідок великої площі поверхні на одиницю маси. Наночастинки металів накопичуються у рослинних і тваринних організмах, а також у мікроорганізмах з передачею по харчових ланцюгах, тим самим збільшуючи надходження до організму людини.

Відмінність фізико-хімічних механізмів дії наночастинок пояснюється поверхневим розташуванням більшості атомів, що змінює фізичні, хімічні, біологічні, токсикологічні властивості речовини та полегшує взаємодію з живим організмом. Органи-мішені й механізми розвитку реакції-відповіді відрізняються для різних наночастинок металів. Вони здатні індукувати активні форми кисню, порушувати мембранні структури, проникати через тканинні бар'єри, надходити в клітини і взаємодіяти з внутрішньоклітинними компонентами [551]. Питання дослідження позитивного ефекту та токсичності наночастинок металів неоднозначне й багатогранне, потребує комплексного

підходу. Особливо це відноситься до наночастинок, які застосовуються в фармакології, медицині та сільському господарстві, що сприяє їхньому безпосередньому надходженню в організм людини.

Враховуючи вищесказане, розробка екологічно чистого і недорогого способу синтезу наночастинок має вирішальне значення. Існують численні організми, які здатні синтезувати наночастинки та мають потенціал для їх використання [203; 525]. Широкий спектр застосування наноматеріалів, зазвичай, залежить від розміру, тому керований синтез наноматеріалів за розмірами є дуже бажаним [656].

Для синтезу наночастинок фізичними та хімічними методами необхідно використовувати відновлюючі агенти, які мають високу реакційну та токсичну дію за застосування людиною, або вони є екологічно небезпечними та досить дорогими [549]. Широкомасштабний синтез також стикається з багатьма проблемами, зокрема низькою стабільністю та меншою монодисперсністю [417]. Зелений синтез включає мікробіоту, як відновлюючі агенти, такі як бактерії, гриби, водорості, віруси та рослини [466] (рис. 1.1).

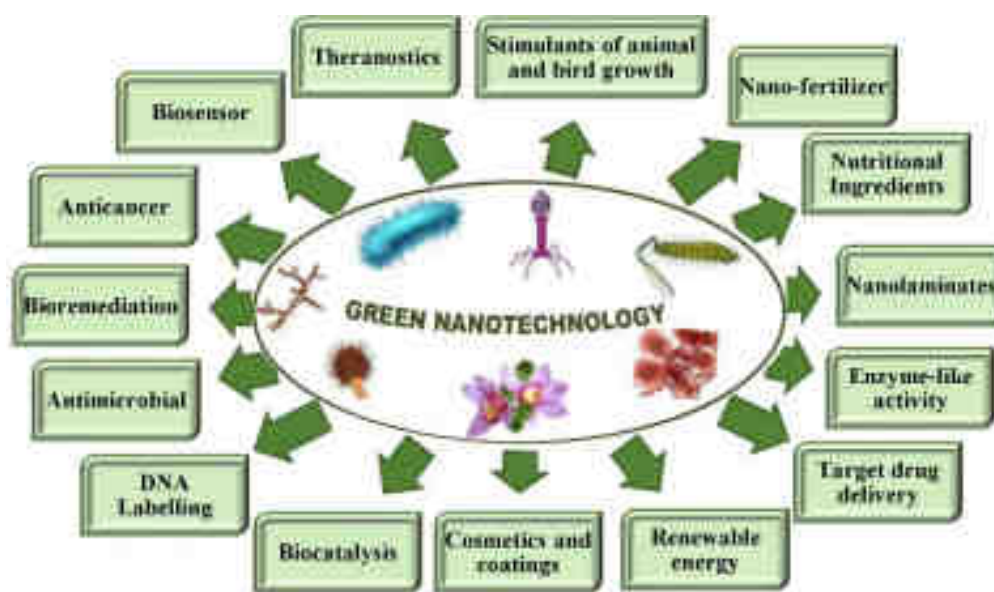


Рис. 1.1. Використання «зелених» нанотехнологій у різних галузях

Такі «біонанофабрики» є доступними унікальними структурами, екологічно ефективними та мають високу селективну здатність поглинання окремих елементів [152; 230]. У порівнянні з НЧ, виготовленими за звичайними

підходами, біосинтезовані НЧ мають вищу стійкість та застосовуються в різних галузях, зокрема при очищенні питної води [428; 476]. Токсичні хімікати, що продукуються за синтезу наночастинок, можуть метаболізуватися ензимами, що містяться у мікробіотах та рослинах. Завдяки «озелененню» процесу синтезу наночастинок використання біологічних систем та їх компонентів зумовлює зменшення навантаження на навколишнє середовище та підвищення економічної ефективності, відкриває додаткові можливості створення наночастинок із заданим складом та властивостями. Кожна наносистема є унікальною і специфічною по своїй рецептурі, сумісності з активними молекулами, вибором допоміжних речовин і кінетикою, а також біологічною ефективністю [213].

Різні мікроорганізми можуть синтезувати наночастинки внутрішньо- та позаклітинно. У разі внутрішньоклітинного синтезу внаслідок електростатичної взаємодії до негативно зарядженої мембрани бактеріальної клітини притягуються позитивно заряджені іони металів. Окрім того, бактеріальна клітинна оболонка містить ензими, які трансформують іони металів у відповідні нанорозмірні частинки. При позаклітинному синтезі мікробна клітина секретує редуктази, які використовуються в біоредукції іонів металів у відповідні MtNPs [294].

Синтез наночастинок за участі рослин досить детально описаний у літературі [569]. Наразі зупинимося на огляді зеленого синтезу NPs, використовуючи потенційну мікробну флору, включаючи бактерії, гриби, дріжджі, мікроводорості та віруси.

## **1.2. Методи синтезу наночастинок**

Традиційні методи синтезу наночастинок (НЧ), в тому числі і наночастинок металів (НЧм), удосконалюються, з'являються нові, всі вони спрямовані на отримання стабільних систем, оскільки НЧ характеризуються високою поверхневою енергією і схильні до утворення великих агрегатів. Розмір, форма та властивості наночастинок залежать від методів і умов синтезу [335].

Впродовж останнього десятиліття в галузі нанотехнологій з'явилися

інноваційні підходи до синтезу різноманітних наноматеріалів, таких як наночастинки металів, квантові точки, наносполуки карбону (фулерени, графени, нанотрубки) та їх композити [592]. Для отримання наноматеріалів необхідних розмірів, форми і функціональних можливостей у існуючій літературі досліджено два різні принципи синтезу: «зверху-вниз» і «знизу-вгору» (рис. 1.2).



Рис. 1.2. Синтез наночастинок «зверху-вниз» і «знизу-вгору» [566]

Методи синтезу «зверху вниз» – це фізичні методи подрібнення, диспергування об'ємної макроформи металів до наноформи з використанням високих температур, тиску і вакууму. Ці методи вимагають складної апаратури, є дороговартісними і не дозволяють маніпуляції із розмірами, геометрією і стійкістю наночастинок металів (НЧм). Методи «знизу вгору» – хімічні та фізико-хімічні, засновані на відновленні катіонів металів до нейтральних атомів металів, які самовільно агрегують до нанорозмірних кластерів – НЧм [264]. Актуальним є переведення металевих іонів у нуль-валентні атоми, а потім підтримання підходу синтезу НЧ знизу вгору [204]. У деяких випадках, що залежать від методів синтезу «знизу-вгору», його умов, можна досягати стану, близького до монодисперсного, та його високої стабільності.

На сьогоднішній день використання досягнень нанотехнологій дає змогу виробляти багато поліфункціональних матеріалів, однак у них є недоліки –



використання небезпечних хімічних речовин, таких як боргідрид натрію ( $\text{NaBH}_4$ ) і тринатрій цитрат ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ), складні і витратні методи та відсутність масштабованості процесів синтезу. Для оцінки характеристик НЧ враховуються їх розміри, розподіл за розмірами (полідисперсність), геометрія часток, фізичні властивості (оптичні, електричні, магнітні, теплопровідність тощо [307]).

Вивчення характеристик синтезованих наночастинок проводять за допомогою методів UV-Vis спектроскопії, інфрачервоної Фур'є-спектроскопії та флуоресцентної спектроскопії, трансмісійної та скануючої електронної мікроскопії, дифракції рентгенівських променів, циклічної вольтамперометрії [610].

Однак, незважаючи на широке поширення традиційних технологій одержання наночастинок, вони, як правило, дороговартісні, трудомісткі, пов'язані з ризиком і потенційною небезпекою для навколишнього середовища і живих організмів [526]. Отже, існує очевидна потреба в альтернативних економічно доцільних і, в той же час, безпечних і екологічно чистих методах виробництва наночастинок. Для того, щоб усунути недоліки фізичних та хімічних методів, останнім часом інтенсивно розвиваються біонанотехнології ("зелені" нанотехнології) [334; 566]. "Зелений" синтез є екологічно чистою альтернативою традиційним методам синтезу і спрямований на уникнення або мінімізацію токсичних складових, що використовуються за фізико-хімічними методами та здатні успішно конкурувати з ними за швидкістю, керованістю, біоконверсією та зменшенням собівартості кінцевої продукції [335; 466].

Перевага наноструктур, синтезованих за допомогою "зеленого" підходу, полягає в тому, що біооб'єкти, які використовуються як біофабрики, містять велику різноманітність молекул, одночасно відновлюють та стабілізують поверхню синтезованих НЧ, отже утворюють шари покриття для забезпечення додаткової стійкості та біосумісності з "зеленими" НЧ [336]. Попри проблему агрегації, з якою стикається більшість фізично і хімічно синтезованих НЧ, біомолекули, які покривають поверхню "зелених" синтезованих НЧ, сприяють уникненню агрегації через існуючий шар покриття [334; 466].

У природі є велика різноманітність рослин, що обумовлює широкий вибір відновлюючих агентів, які можуть слугувати матеріалом для синтезу наночастинок [466; 530; 567]. Впродовж останнього десятиліття показано, що різноманітні біологічні системи, включаючи рослини та водорості [513], бактерії [471], дріжджі, гриби [189] і віруси, можуть перетворювати іони неорганічних металів у металеві наночастинок внаслідок процесу відновлення, здійснюваного білками, ферментами і метаболітами, які містяться в цих організмах. Отримані частинки є дуже перспективними для біологічного застосування завдяки їх біосумісній природі. Мікроорганізми за умов наявності високих концентрацій металів розробили специфічні еволюційні адаптаційні механізми для зменшення їх токсичності, які включають зміну хімічної природи металу, що призводить до утворення наночастинок, як «побічні продукти» адаптаційного механізму захисту. Такий “зелений” синтез може використовуватися як альтернатива традиційним технологіям отримання наночастинок першого покоління [471].

Істотно, що виробництво наночастинок з використанням рослин має ряд переваг: наявність дешевого матеріалу, низька токсичність, простота, короткі терміни виробництва, безпека, можливість регуляції необхідного обсягу продукції, придатність для великомасштабного виробництва [525]. За біосинтезу *in vitro* використовуються редокс-активні компоненти вторинних метаболітів рослин. При цьому відбувається ініціювання зародження наночастинок шляхом відновлення іонів металів за рахунок редуруючих сполук, фітохімічних речовин, присутніх у тканинних екстрактах. Ядра у подальшому збільшуються шляхом адсорбції атомів металу після відновлення, що призводить до утворення металевих наночастинок [494]. Складові компоненти живих клітин (вуглеводи, жири, протеїни, ферменти, флавоноїди, терпеноїди, поліфеноли і алкалоїди) здатні асоціювати іони металів до розміру наночастинок [502].

Біосинтез наночастинок може бути позаклітинним і внутрішньоклітинним [301; 526]. Незалежно від природи редуруючої речовини синтез НЧм відбувається у ряді послідовних реакцій і взаємодій, у результаті яких

досягається рівновага в полідисперсній системі. Виділяють наступні основні фази «зеленого» синтезу НЧм: активація – відновлення іонів металів ( $Me^{n+}$ ) і утворення нуль валентних атомів ( $Me^0$ ); нуклеація нейтральних атомів металу з утворенням протонаночастинок; збільшення дрібніших частинок, що утворилися на стадії нуклеації та об'єднання в більш великі агломерати [414].

Внутрішньоклітинні методи синтезу наночастинок включають вирощування рослин у багатих металом органічних середовищах, у багатих металом ґрунтах, а також у збагачених металом гідропонних розчинах. За біосорбції наночастинок металів відновлюються на периплазматичній мембрані. Показано відновлення  $Pd^{2+}$  до  $Pd^0$  на периплазматичній мембрані. На мембрані локалізований ензим гідрогеназа, який використовується як зародкова ділянка і сприяє початковому зростанню наночастинок Pd, ймовірно, шляхом транспортування електронів для відновлення Pd (II).

Позаклітинні методи включають синтез наночастинок з використанням екстракту різних біологічних тканин, які готуються різними способами [466].

У позаклітинному процесі іони відновлюються за допомогою білків, ферментів і органічних молекул в середовищі або компонентами клітинної стінки. Багато організмів мають здатність використовувати механізми відновлення металів, які синхронно пов'язані з окисненням ферментів, перш за все редуктаз. Це призводить до отримання стабільних та інертних металевих наночастинок, які потім можна безпечно видалити із забрудненої проби. Позаклітинний синтез виявляється економічно доцільнішим, аніж внутрішньоклітинний, через його нижчу вартість, простішу технологію екстракції і вищу ефективність [242].

Методи “зеленої” хімії активно розробляється в останні роки в якості альтернативного, ефективного, дешевого і екологічно безпечного методу отримання поліфункціональних наночастинок із заданими властивостями. Пріоритетом при зеленому синтезі є використання нетоксичних рослин з лікарськими властивостями, що важливо для подальшого їх використання в біології, медицині та харчовій промисловості.

Загальний прогрес, досягнутий у біонанотехнології, є надзвичайним, і, що найважливіше, його природоохоронна дія зробила «зелений» синтез більш узагальненою та привабливою альтернативою традиційним методам синтезу наночастинок [204].

### 1.3. Фактори, що впливають на «зелений» синтез наночастинок

Синтез наночастинок металів рослинами є відносно дешевим, надійним, екологічно чистим та входить до групи методів «зеленого» синтезу. Рослинна сировина є оптимальною для «зеленого» синтезу наночастинок широкого спектру застосування у різних галузях [359; 466].

Відновлення іонів металів з утворенням наночастинок обумовлене багатьма факторами [359], зокрема природою рослинного екстракту, реакцією середовища, температурою та тривалістю реакції, концентрацією і електрохімічним потенціалом іона металу (рис. 1.3) [687]. Виявлений взаємозв'язок між даними параметрами [433].



Рис. 1.3. Фактори, що впливають на «зелений» синтез наночастинок металів із рослинної сировини

Вміст активних біомолекул, їх поєднання та концентрації обумовлені природою рослинного екстракту. Розмір і форма наночастинок відіграють вирішальну роль у визначенні загальної біосумісності. Для їх практичного застосування найбільш прийнятними є наночастинок з розміром до 100 нм.

На утворення наночастинок впливає наявність у середовищі сполук, які беруть участь у біоредукції та стабілізації [359]. Різні фенольні кислоти (кавова, елагінова, галова, протокатехова) та алкалоїди виконують роль біоредукуючих агентів для синтезу наночастинок металів.

Великий вплив на формування наночастинок має величина рН екстракту. Зміна рН впливає на заряд фітореагентів природного екстракту та їх здатність зв'язувати і відновлювати катіони металів під час синтезу наночастинок [643]. Ці зміни сприяють модифікації форми, розміру та виходу наночастинок.

Інший важливий фактор, що впливає на формування наночастинок в біологічних екстрактах, є температура [361], за підвищення якої зростає швидкість реакції і ефективність синтезу наночастинок. Вважається, що вищі температури можуть змінювати взаємодію фітореагентів з поверхнею наночастинок, пригнічуючи тим самим включення сусідніх наночастинок до структури нанострічок. Окрім того, вищі температури можуть сприяти процесу нуклеації на шкоду процесу вторинного відновлення і подальшої конденсації металу на поверхні формуючих наночастинок.

У визначенні форми, розміру та швидкості процесу відновлення наночастинок важливу роль відіграє концентрація рослинних екстрактів [361] та концентрація іонів металів [359]. Ефективність синтезу металевих наночастинок також залежить від електрохімічного потенціалу іона [564].

Білки у складі рослинного екстракту суттєво впливають на утворення наночастинок [529]. Останнім часом для «зеленого» синтезу наночастинок металів застосовуються підходи, що поєднують використання екстрактів рослин з додаванням біоматриці – пептидів і білків, амінокислотна послідовність і структура яких оптимізовані для ефективного продукування наночастинок.

Серед низки методів, що використовуються для синтезу наночастинок металів і оксидів металів, значну увагу заслуговує «зелений» синтез, завдяки своїй екологічності. Існує великий масив повідомлень щодо можливості синтезу наночастинок із різних частин рослин, зокрема листя, стебел, кори, квітів, коріння, шкірки, плодів та насіння. Розмір та форма наночастинок

контролюється фізико-хімічними параметрами. Особливістю «зеленого» синтезу наночастинок є важкість пояснення механізмів синтезу, прогнозування та ідентифікації конкретних біоредуючих і стабілізуючих молекул. Доведено, що розмір, форма та властивості наночастинок, одержаних нанотехнологічними методами, залежать від виду та частини рослин, температури, реакції середовища, концентрації іонів металів та інших параметрів. Вивчення особливостей синтезу наночастинок металів із рослинної сировини та їх конкретних властивостей забезпечить широке застосування у біології, медицині, сільському господарстві, а також у харчовій промисловості. Все це в комплексі сприятиме покращенню здоров'я людей, тривалості та якості життя.

#### **1.4. Екодружній синтез наночастинок бактеріями**

Відомо, що бактерії здатні зв'язувати і концентрувати розчинені іони металів і металоїдів. Окремі бактерії здатні перетворювати токсичні для їх життєдіяльності іони металів у нетоксичні НЧ [242; 263]. Враховуючи це, деякі бактерії використовуються в якості нанофабрик, що забезпечує новий підхід до видалення металевих або металоїдних іонів і синтез матеріалів із унікальними властивостями [502]. Серед методів «зеленого» синтезу бактерії є особливо важливими інструментами для одержання НЧ через їх різноманітність і високу пристосованість до екстремальних умов [663]. Бактеріальний синтез НЧ є надзвичайно перспективним через його незначну енергозатратність та урегульованість процесу [242]. НЧ металів можуть утворюватися бактеріями як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно. Встановлено, що позаклітинний синтез є ефективнішим та йому притаманна простіша екстракція НЧ. При цьому біосинтезові металеві НЧ стійкіші до окиснення, що обумовлює можливість їх застосування в різних галузях [256].

На сьогодні накопичена низка повідомлень щодо синтезу наночастинок металів різними бактеріями. Так, за участі *Lactobacillus plantarum* [544] та *Aeromonas hydrophila* синтезовані наночастинки ZnO. Антимікробну активність проти *E. coli* і *S. aureus* проявляють наночастинки CuO, утворені за участі

*Halomonas elongate* [490]. Наночастинки оксиду заліза, які були отримані з використанням *Bacillus cereus*, мали дозозалежні антиканцерні ефекти проти клітинних ліній MCF-7 і 3T3 [244]. Наночастинки Pd, синтезовані *Alpine Pseudomonas*, проявляли каталітичну активність у реакціях дехлорування [536]. Наночастинки срібла, синтезовані ціанобактеріями, мають потенціал зв'язування аміаку [614]. Повідомляється про біосинтез наночастинок срібла з використанням AgNO<sub>3</sub> як попередника *B. amyloliquefaciens* і *B. subtilis* [268; 704]. Антибактеріальну активність наночастинок спостерігали після 24 год інкубації проти грам-негативних бактерій: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, а також грам-позитивних: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. Окрім того виявлена їх протигрибкова активність щодо *Candida albicans*. Отримані AgNPs за участі *Bacillus pumilus*, *Bacillus paralicheniformis* та *Sphingomonas paucimobilis* сферичної та овальної форм з розміром частинок від 4 до 20 нм і площею поверхні 118 м<sup>2</sup>/г [128]. Наночастинки срібла, які одержували із ізоляту *Streptacidiphilus durhamensis* HGG16n мали розмір від 8 нм до 48 нм [178]. *Bacillus endophyticus* [257] та *Deinococcus radiodurans* [376] здатні продукувати наночастинки срібла різних форм та розмірів.

Акумулювати наночастинки купруму здатні бактерії різних видів, зокрема *Shewanella loihica* [406], *Bacillus* sp. FU4 [605], *Shewanella oneidensis* [344]. Наночастинки платини одержали зеленим синтезом за участі *Streptomyces* sp. [555], магнію – *Lactobacillus* sp. [439], вісмуту – *Delftia* sp. SFG [551]. Бактерії *Lysinibacillus* sp. і *Pseudomonas stutzeri*, які адаптовані до лужних умов, можуть бути використані для ефективного біосинтезу AuNPs, що виявляє потенційне біомедичне застосування [524]. Наночастинки AuNPs, одержані з використанням *Lyngbya Majuscule*, використовуються для профілактики виникнення інфаркту міокарду [147]. Морські бактерії *Marinobacter algicola*, за рН 7,0, при 30 °С за наявності нітратредуктази формували різні види AuNPs (сферичні, трикутні, п'ятикутні і гексагональні, із середнім розміром 4–168 нм [280]. Екстрацелюлярне відновлення паладію до PdNPs проводили за допомогою *Geobacter sulfurreducens* [695], *Shewanella oneidensis* MR-1 [672]

*Shewanella* sp. CNZ-1 [712], *S. loihica* PV-4 [663], *Bacillus* sp. GP [713].

Показано, що не тільки живі бактерії, але й мертві представники деяких видів бактерій можуть бути використані для біосинтезу НЧ, однак механізми цих процесів різняться. Як правило, метаболічний процес може бути відповідальним за біоредукцію НЧ у живих бактеріях [128; 507].

Останнім часом все більше бактерій використовують для синтезу наноселену, який має широке застосування у сільськогосподарському виробництві, зокрема підвищує продуктивність тварин та птиці краще, порівняно із неорганічними формами [572]. З цією метою використовували *Rhodococcus aetherivorans* BCP1 [487], *Acinetobacter* sp. SW 30 [649], *Rahnella aquatilis* HX2 [722], *Alcaligenes* sp. SKCr-6A [431].

### 1.5. Механізми синтезу наночастинок бактеріями

Встановлені специфічні механізми утворення НЧ у різних організмів, як у одноклітинних, так і багатоклітинних. Однак синтез НЧ слід сприймати узагальненою схемою, в якій іони металів захоплені мікробними клітинами, або на їх поверхні за наявності ензиму об'єднуються до розміру НЧ [698].

Біосинтез наночастинок проходить шляхом культивування мікроорганізмів у специфічних поживних середовищах, що містять відповідні іони. Залежно від місця локалізації, синтез наночастинок мікроорганізмами (зокрема, у бактерій, грибів, актиноміцетів, дріжджів і навіть вірусів) класифікують на внутрішньо- і позаклітинний. Іони металів у бактеріальну клітину потрапляють через іонні канали шляхом активного транспорту, ендцитозом, або проникненням через ліпідну мембрану [274]. Процес внутрішньоклітинного синтезу включає в себе захоплення, біоредукцію та ущільнення різних наночастинок [380]. Позаклітинний синтез складається із секреції ферментів, біоредукції та укупорки частинок [572]. Більшість опублікованих праць [148; 568] стверджували, що позаклітинний синтез наночастинок є кращим, тому що процеси низькими потоками та процеси очищення протікають легше, порівняно з внутрішньоклітинними методами. Одним із часто використовуваних ферментів є



нітратредуктаза, яка може бути відповідальною за синтез наночастинок, зокрема наночастинок срібла та золота. У процесі біоредукції окремі ензими відіграють важливу роль у транспортуванні електронів від донорів до позитивного іона металу (рис. 1.4) [562].

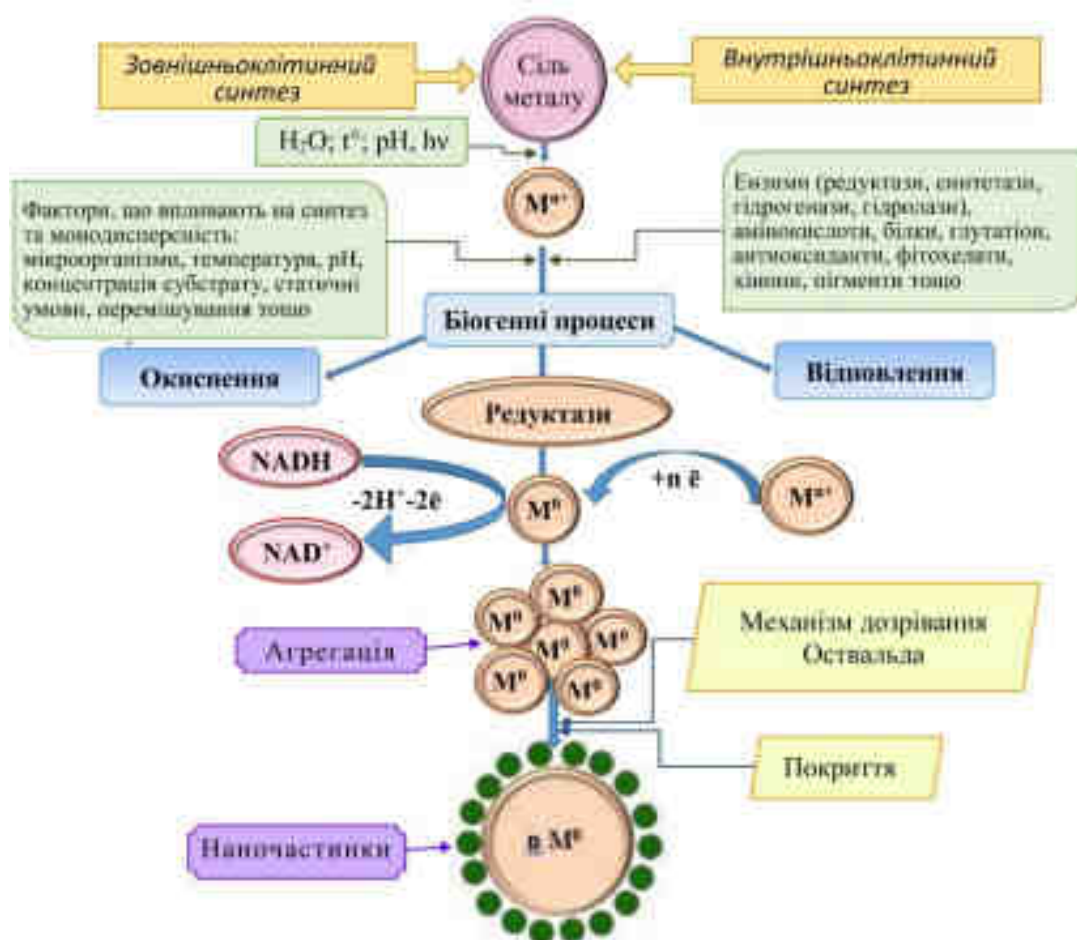


Рис. 1.4. Загальна схема синтезу наночастинок металів мікроорганізмами

Деякі функціональні групи білків ( $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$  і  $-\text{COOH}$ ), що містяться у бактеріях, відіграють важливу роль у утворенні та стабілізації НЧ. Вони забезпечують ділянки зв'язування для фіксації іонів металів з подальшим зменшенням їх концентрації позаклітинно та локалізації на стінці клітин або в периплазматичному просторі. Повідомляється про синтез наночастинок золота Au-NPs на білковому екстракті *Deinococcus radiodurans* [376]. Вільний цистеїн та поверхнево-зв'язаний білок мікробів приймають участь у стабілізації НЧ, запобігаючи їх агрегації [705]. Супернатанти культури *Enterobacteriaceae* характеризуються значною активністю ферменту нітроредуктази, який бере

участь у бактеріально-опосередкованому синтезі Au-NPs.

Шляхи, пов'язані з зеленим синтезом наноматеріалів, мають першочергове значення для комерціалізації нанотехнологій, а також для екологічної стійкості [447]. Механізми синтезу також покращають процеси біоремедіації та біомінералізації забруднюючих речовин в навколишньому середовищі. Біомінералізація є максимальним процесом контролю кінцевої частки в біогеохімічному колообігу та екологічному впливі важких металів [215]. Розуміння шляхів мікробної трансформації на генетичному рівні може призвести до розробки нових генетичних інструментів для прискорення стратегій біоремедіації [321; 673].

Встановлені альтернативні шляхи синтезу наночастинок. Вірогідний механізм біосинтезу наночастинок може включати більше одного клітинного компонента [461]. Вважають, що нітратредуктаза виступає в якості принципового відновника при перетворенні металів у наночастинок [126; 280]. Зменшенню кількості металевих іонів, зокрема  $\text{Ag}^+$ , є процес ферментативного відновлення внаслідок транспорту електронів. Для генерації металевих НЧ необхідні кофактори, такі як NADH в NADH-залежних ензимах нітратредуктаз. На думку інших дослідників [376], підвищення рН безпосередньо співвідноситься з конкуренцією за негативно заряджену ділянку зв'язування між іоном металу і протонами. Лактат з NADH залежно від лактатдегідрогенази і пірувату генерує два протони, що приймають участь у процесі синтезу поряд з тіоредоксиновими системами і глутатіоном. Всі компоненти працюють узгоджено для полегшення синтезу наночастинок.

Досліджено вплив видимого світла на продукцію AgNPs, особливо за обробки культури *Klebsiella* та нітрату срібла видимим світлом, що призводило до зміни швидкості їх синтезу. Припускають, що накопичення срібла поза клітинною мембраною бактерій пов'язано з реагуванням на потенціал з газоподібним  $\text{H}_2\text{S}$ , що перетворювало його на нетоксичну форму клітинами *Pseudomonas*. Біоредукція іонного срібла в AgNPs обумовлена кофактором і ферментом нітратредуктазою, що виділяються *Bacillus licheniformis*.

Оптимізація в діяльності та виробництві підтвердила гіпотезу про існування можливості залучення каталітичних білків у відновлення та синтез. Однак, бактеріальна взаємодія з різними металами ще не повністю зрозуміла.

Доведена роль пептидів та окремих амінокислот у мікробіальному синтезі наночастинок. Пептиди, що містять амінокислоти цистеїн, метіонін, аргінін та лізин, можуть прикріпитися на поверхні ядер та використовуватися у синтезі. Амінокислота тирозин в лужних умовах виступає в якості відновника, що обумовлено можливістю перетворення фенольної групи в хінону [220]. Окрім того, олігопептиди, що містять тирозин на вільному N-кінці, забезпечують стабільність наночастинок [553] та сприяють відновленню металу [202]. Ці результати засвідчують, що тирозин відіграє ключову роль у редукції *in situ* [126].

В якості відновника для синтезу наночастинок може виступати і амінокислота триптофан, яка здатна віддавати електрони. При цьому триптофан перетворюється в триптофол-радикал. У процесі синтезу наночастинок AgNPs за наявності карбоксильних груп коротких пептидів дріжджів залучається аспарагінова та глютамінова кислоти.

Ензими можуть відігравати найважливішу роль у відновленні солей металів з подальшим формуванням НЧ металів. Шляхом контролю механістичних кроків досягається монодисперсність і однорідність наночастинок [126].

Встановлена роль NADH або NADH-залежних ферментів, які вивільняються позаклітинно для утворення наночастинок золота з використанням культури *Rhodospseudomonas* [288]. Електрони через NADH-залежну редуктазу передаються на іони золота  $Au^{3+}$  перетворюючи їх у елементарне золото ( $Au^0$ ).

Аеробний біосинтез монодисперсних нанорозмірних Se-NPs проходить як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно з *Enterobacter cloacae* Z0206 за участі селеніт-редуючого фактору, особливою формою фумаратредуктази. Наночастинки Селену одержані за участі *Pseudomonas putida*, який є строго аеробним видом, і жоден субстрат, окрім кисню, не служить кінцевим

акцептором електронів. Запропонований механізм являє собою двоступеневий процес, що включав хелатування  $\text{SeO}_3^{2-}$  тіолвмісними молекулами з утворенням селенодиглутатіона. Селенодиглутатіон є субстратом глутатіонредуктази, яка продукує нестійкі проміжні сполуки [141; 662].

У процесі бактеріального синтезу НЧ бере участь цитохром. Так, пігмент *Chryseobacterium artocarp* СЕСТ 8497 використовується для створення співіснуючих сферичних Ag-NPs [642]. Біосинтезові позаклітинно Cu-NPs з *Shewanella loihica* PV-4 у якості донорів електронів для  $\text{Cu}^{2+}$ -використовували компоненти цитоплазми, такі як NADH / NADPH, вітаміни та органічні кислоти. Цитохром *c* для переносу електронів був первинним відновним фактором [406].

У якості донора електронів за утворення НЧ Cu із *Shewanella oneidensis* MR1 використовувався лактат. Редуктаза в периплазмі і цитоплазмі сприяє перетворенню  $\text{Cu}^{2+}$  у  $\text{Cu}^0$ . Пошкодження мембрани внаслідок токсичності Cu може сприяти транспортуванню НЧ через цитоплазматичну мембрану.  $\text{Cu}^{2+}$  може перетворитися у  $\text{Cu}^+$  в цитоплазмі, а потім  $\text{Cu}^+$  здатний диспропорційно утворювати  $\text{Cu}^{2+}$  і Cu [344].

Виробництво та надмірне використання синтетичних барвників, пестицидів та фармацевтичних препаратів призвели до забруднення навколишнього середовища [128; 571]. Забруднені стічні води та ґрунти зазвичай містять велику кількість важких металів та металоїдів [190]. Однак, альтернативно, відходи також можуть бути використані як ресурс для виготовлення НЧ через біологічний шлях для деградації специфічних забруднювачів [185].

*B. paralicheniformis* штам KJ-16 був найбільш ефективним у виділенні бактерії, щоб дати екстракт для біосинтезу AgNPs і видалення барвника. Цей спосіб може вважатися легким і екологічним, і може бути застосованим для великомасштабної дезактивації стічних вод від шкідливих барвників. [449].

Наночастинки міді (NCu) запропоновані як антимікробний засіб у сільському господарстві, оскільки вони можуть взаємодіяти з численними забруднювачами, включаючи пестициди, зокрема атразином [473].

Для знешкодження хлорованих ароматичних сполук, які широко використовуються у багатьох галузях промисловості, застосовують різні відновлювальні та окиснювальні методи. Позитивні результати щодо знешкодження 4-нітрофенолу одержані за застосування Pd/Au-NPs, що утворені морською бактерією *Bacillus sp.* GP [712]. Альтернативно, відходи можуть бути використані як ресурс для виготовлення НЧ через біологічний шлях для деградації специфічних забруднювачів [542; 718].

Взаємодія наночастинки-мікроби відіграє важливу роль у лікуванні різних захворювань у вигляді антимікробних засобів. Механізм інгібування метаболізму різних бактерій і грибів наночастинками включає ряд шляхів. Іони металів, які утворюють всередині клітин наночастинки, сприяють деградації внутрішньоклітинної АТФ і перериванні дуплікації ДНК [401]. НЧ генерують утворення активних форм кисню (ROS), що зумовлює пошкодження клітинних структур. Наночастинки накопичуються і розчиняються в бактеріальній мембрані, що призводить до змін проникності мембрани, відбувається поступове вивільнення ліпополісахаридів, мембранних протеїнів і внутрішньоклітинних компонентів та розсіювання протонної рухової сили. Реакції окиснення впливають на виживання клітин, їх загибель, диференціацію, клітинну сигналізацію та призводять до генерації АФО в умовах стресу. До різних компонентів активних форм Оксигену відносяться вільні радикали, зокрема супероксид ( $O_2^{\cdot-}$ ), синглетний Оксиген ( $^1O_2$ ), гідроксил ( $HO^{\cdot}$ ), гідропероксил ( $HO_2^{\cdot}$ ), радикал діоксиду карбону ( $CO_2^{\cdot}$ ), карбонат ( $CO_3^{\cdot-}$ ), пероксил ( $RO_2^{\cdot}$ ) і алкоксил ( $RO^{\cdot}$ ) і нерадикальні речовини, такі як озон ( $O_3$ ), пероксид гідрогену ( $H_2O_2$ ), оксид азоту (NO), хлорнуватиста кислота (HOCl), гіпохлорит (OCl<sup>-</sup>), гіпобромна кислота (HOBr), органічні пероксиди (ROOH), пероксинітрит (ONOO<sup>-</sup>), пероксинітрат ( $O_2NOO^-$ ), пероксинітна кислота (ONOOH) і пероксомонокарбонат (HOOCO<sup>-</sup>) [472; 670].

Супероксид, що продукується нікотинамід динуклеотидфосфатом (NADPH), оксидазою (NOX) і мітохондріями, інактивує різні ензими та ініціює пероксидне окиснення ліпідів клітинних мембран [572]. У різних фізіологічних

умовах внутрішньоклітинні стадії суворо модулюються різними детоксикуючими ензимами, такими як СОД, каталаза, і глутатіонпероксидаза, або різними антиоксидантними сполуками, включаючи аскорбінову кислоту, вітамін Е, флавоноїди і глутатіон [670].

Наночастинки (срібла, оксиду цинку та оксиду міді) активізують синтез АФО, які безпосередньо та опосередковано відіграють важливу роль у генотоксичності. Деградація ДНК, яка обумовлюється оксидативним стресом, дестабілізує різні біологічні механізми, включаючи мутагенез. Пошкодження ДНК зумовлюють порушення структури азотистих основ, цукрів, одиночні та подвійні розриви, ДНК-білкові зшивки тощо [255].

Основним недоліком використання мікробного джерела є підтримання асептичних умов, висока вартість ізоляції та їх утримання в культуральних середовищах [502]. Синтезовані бактеріями без високотемпературної обробки або додаткових хімічних речовин НЧ мають багато унікальних властивостей. Завдяки їх біосумісності та стабільності вони є реальною альтернативою фізичним і хімічним методам, які традиційно використовуються в каталізі [476].

### **1.6. Роль Селену в регуляції редокс-процесів у клітинах**

Окисно-відновні реакції мають важливе значення для життя в якості ключових перетворювачів клітинної сигналізації та метаболізму. Зв'язок окисно-відновних процесів у клітині в різних просторових і часових масштабах залишаються недостатньо вивченими [289]. Окиснювальні біомаркери стресу надзвичайно інформативні у токсикологічних дослідженнях [298]. Нині існує багато інформації про антиоксидантні та інші унікальні властивості Селену. Зокрема, Селен характеризується антиоксидантною [312], антиапоптичною, антигенотоксичною [119], протизапальною [682], протипухлинною [676] та імуномодулюючою [312] активністю. Селен необхідний для підтримки гомеостазу всього організму. Різні захворювання можуть бути спровоковані дефіцитом Se, зокрема білом'язова хвороба [696], онкозахворювання [364], діабет [537], некроз печінки [373] і міокарда [392], захворювання імунної системи [338], ембріональні

патології [717] та навіть Covid [362]. Встановлена участь Селену в утворенні деяких гормонів [561], метаболізмі нуклеїнових кислот [373].

Клітинні окисно-відновні системи включають в себе широкий спектр компонентів, які здійснюють кооперативний сигнальний зв'язок, що взаємоперетинається [699], володіючи певною ієрархією з різними особливостями і кінетикою. У механізмах регуляції редокс-процесів у клітинах відіграють значну роль наночастинки металів і неметалів – продукти сучасних нанотехнологій [557; 720].

Нанотехнологія є міждисциплінарною областю досліджень, що базується на нових концепціях і фундаментальних дослідженнях і включає синтез, характеристику і застосування наноматеріалів. Це одна зі швидкозростаючих галузей, яка за останні десять років набула значного застосування в різних областях [302; 420; 677]. Наноматеріали – це наноб'єкти, які мають розмірний діапазон від 1 до 100 нм, принаймні в одному вимірі, які мають специфічні властивості з точки зору розміру, форми, пористості тощо [420].

Одним із важливих елементів, що відіграють значну роль в регуляції редокс-процесів в клітині є металоїд Селен (Se). Селен у сполуках має різні ступені окиснення (-2, +2, +4 та +6), що дає змогу йому виявляти специфічні біологічні властивості в системах з широкими інтеграційними функціями. Селен за сучасними уявленнями, з урахуванням досягнень "оміксних" технологій [435] є компонентом окисно-відновного інтерфейсу, через який організм взаємодіє з сигналами навколишнього середовища (експозомом) і відповідно до них реагує, підтримуючи гомеостаз на рівні епігеному, геному, метаболому та експозому [245]. Селен присутній в двох формах в еукаріотичних білках у складі рідкісних амінокислот селеноцистеїну (SeCys) і селенометіоніну (SeMet). Термін селенопротеїни використовується виключно для білків, що містять залишки SeCys, оскільки це основна біологічно активна форма Селену в білках. Кількість селенопротеїнів (селенопротеом) може відрізнятися у різних видів живих організмів [399]. Глутатіонпероксидази і тіоредоксинредуктази є найбільш вивченими селенопротеїнами [463]. Вони є незамінними компонентами

клітинної глутатіонової та тіоредоксинової систем і, отже, важливими регуляторами внутрішньоклітинного окисно-відновного середовища [157].

Фундаментальним шляхом у підтримці клітинного окисно-відновного гомеостазу є редокс-чутлива сигнальна система Keap1/Nrf2/ARE (Kelch-like ECH-associated-protein 1/NF-E2-related-factor-2)/antioxidant response elements), яка відіграє ключову роль у підтримці клітинного гомеостазу в стресових, запальних, канцерогенних і проапоптичних умовах [342; 355; 602; 631]. Останні дослідження показують важливість активності Nrf2 у формуванні клітинного метаболізму та мітохондріальної функції [319; 343].

Важливим елементом сигнальної системи Keap1/Nrf2/ARE, «сенсорним» білком, який збирає специфічну метаболічну інформацію та перетворює її у відповідну адаптивну відповідь, є Keap1. Його реактивні залишки цистеїну виступають в якості електрофільного сенсора, налаштованого для реакції на реактивні частки, що походять з різних ендогенних і ксенобіотичних молекул [355; 602]. У результаті змін внутрішньоклітинного окисно-відновного балансу спостерігається нековалентна або ковалентна модифікація Keap1, який інактивується шляхом модифікації залишків цистеїну і втрачає здатність взаємодіяти з Nrf2. Відбувається накопичення в цитоплазмі ядерного фактору транскрипції Nrf2, який потім транслокується в ядро клітини та ініціює транскрипцію антиоксидантних і цитопротекторних генів в локусах елемента антиоксидантної відповіді (ARE) [166]. Білки Nrf2, Keap1 пов'язані між собою і діють як складові частини єдиної редокс-чутливої сигнальної системи [355; 602]. Активність Nrf2 піддається регуляції на різних рівнях, включаючи стабільність білка, транскрипцію і посттранскрипцію [615].

Останнім часом з'явилися повідомлення, що біогенні наночастинки Селену, отримані методами "зеленої" хімії за участю бактерій, впливають на редокс-чутливий чинник транскрипції Nrf2 (Keap1/Nrf2/ARE сигналізація), який активує транскрипцію та синтез ряду антиоксидантних і детоксикуючих ензимів [488; 578; 679; 681].

Важливим є розгляд регуляторних механізмів редокс-процесів, структури



репресорного білка Keap1, фактору транскрипції Nrf2, взаємодії наночастинок біогенного Селену з клітиною за участі сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE, як редокс-чутливої сигнальної системи клітин.

### 1.7. Сигнальний шлях Keap1/Nrf2/ARE

Інтеграція адаптивних реакцій на різні стресові фактори відіграє фундаментальну роль у захисті клітин від пошкоджень. Ці високо координовані стратегії створені для протидії внутрішньому порушенню, відновлення клітинного гомеостазу та підтримання виживання клітини. Сигнальний шлях Nrf2/Keap1/ARE є центральним вузлом перехрестя багатьох шляхів, що приймають участь у клітинному захисті та адаптації [351].

Контролюючи трансактивацію понад 500 цитопротекторних генів, фактор транскрипції Nrf2 приймає участь у фізіопатології ряду захворювань людини, включаючи рак. В цьому відношенні накопичені дані вказують на те, що Nrf2 може діяти амбівалентно та опосередковувати пухлинні супресивні або проонкогенні функції, залежно від конкретного біологічного контексту його активації. Отже, розуміння механізмів, що керують функціями Nrf2 і найбільш підходящого контексту його активації, є необхідною умовою для розробки ефективних терапевтичних стратегій, заснованих на модуляції Nrf2 [468].

Активність Nrf2 строго контролюється і регулюється в клітинах ссавців. За нормальних фізіологічних умов функціонування Nrf2 підтримується на низькому рівні, оскільки в протеасомній системі убіквітину відбувається безперервна деградація Nrf2. Існує безліч систем убіквітинлігази, які відповідають за деградацію Nrf2 в протеасомній системі. Однією з таких систем складних лігаз є система убіквітинлігази Cullin 3 (Cul3) RING-box 1 (RBX1) E3. Keap1 діє як субстрат для убіквітинуювання білка Nrf2 [199] і знаходиться в цитоплазмі [550].

Конститутивна активація Nrf2 допускає тільки незначну експресію його цільових генів відповіді на стрес як частина функції стаціонарного стану. Однак в умовах окисного стресу або за наявності електрофільних ксенобіотиків комплекс Keap1/Nrf2 дисоціює, Nrf2 транслокується в ядро, де активує

індуцібельно високу експресію генів-мішеней. Отже, Keap1 функціонує як критичний датчик клітинного стресу. Його висока окисно-відновна чутливість визначається кількістю залишків цистеїну, які розподілені по всьому білку Keap1 і є сенсорними мішенями окиснення або ковалентної модифікації електрофілами або АФО.

У стаціонарних умовах гомодимер Keap1 зв'язується з однією молекулою Nrf2 через свої домени DLG і ETGE, і Nrf2 має короткий період напіврозпаду близько 10-30 хв; отже, Keap1 забезпечує високий протеоліз Nrf2 і підтримує надзвичайно низькі базальні рівні Nrf2 [451]. У відповідь на окиснювальний стрес Keap1 окиснюється в реактивних залишках цистеїну, що призводить до інактивації Keap1, стабілізації Nrf2 і транслокації в ядро. Регіони DGR в Keap1 використовуються для розпізнавання двох первинних послідовностей мотивів ETGE і DLG в домені Neh2 білка Nrf2 [464]. Взаємодії між Nrf2 і Keap1 здійснюються наступним чином: молекули Keap1 можуть димеризуватися один з одним, використовуючи домен ВТВ для взаємодії з Cullin-3, причому два білка Keap1 зв'язуються з одним білком Nrf2 в співвідношенні 2:1 [616], а мотиви ETGE і DLG, що перекриваються в Nrf2, зв'язуються з двома білками Keap1 з різною афінністю: один Keap1 сильно зв'язується з ETGE ( $K_a = 20 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ), мотивом Nrf2, а інший Keap1 взаємодіє з мотивом DLG зі слабкою спорідненістю ( $K_a = 0,1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ) [617]. Ґрунтуючись на цих даних була сформульована гіпотеза «петлі і засувки» для пояснення механізму регуляції Nrf2 за допомогою Keap1, в якому ETGE ("петля") регулює взаємодію з високою спорідненістю між мотивом ETGE Nrf2 і Keap1, причому на це взаємодія не впливають індуктори оксидативного стресу, а «засувка» приймає участь у зміщенні мотиву DLG Nrf2 з Keap1 у відповідь на вплив індукторів Nrf2 [146]. Відповідно до цієї моделі мотив DLG ("засувка"), циклічно перемикається між закритою (взаємодія двох сайтів) і відкритою (тільки ETGE) конформацією [426]. У закритій конформації з Keap1 Nrf2 убіквітується і розкладається протеасомою (рис. 1.5) [616]. Keap1 працює як димерний окисно-відновний субстрат для убіквітинлігази E3 на основі куліну, який пригнічує

транскрипційну активність Nrf2 за допомоги убіквітинування і протеасомної деградації. Ця передача сигналів відома як канонічний шлях [587]. В базальних (канонічних) умовах Nrf2 зв'язується з Keap1 і піддається швидкій деградації під дією убіквітин-протеасомної системи. Невеликий білок убіквітин відіграє життєво важливу роль практично у всіх аспектах клітинної життя. Серед різноманітних сигнальних випадків, пов'язаних з убіквітинуванням, найбільш усталеним є цілеспрямована деградація субстратів через протеасому.

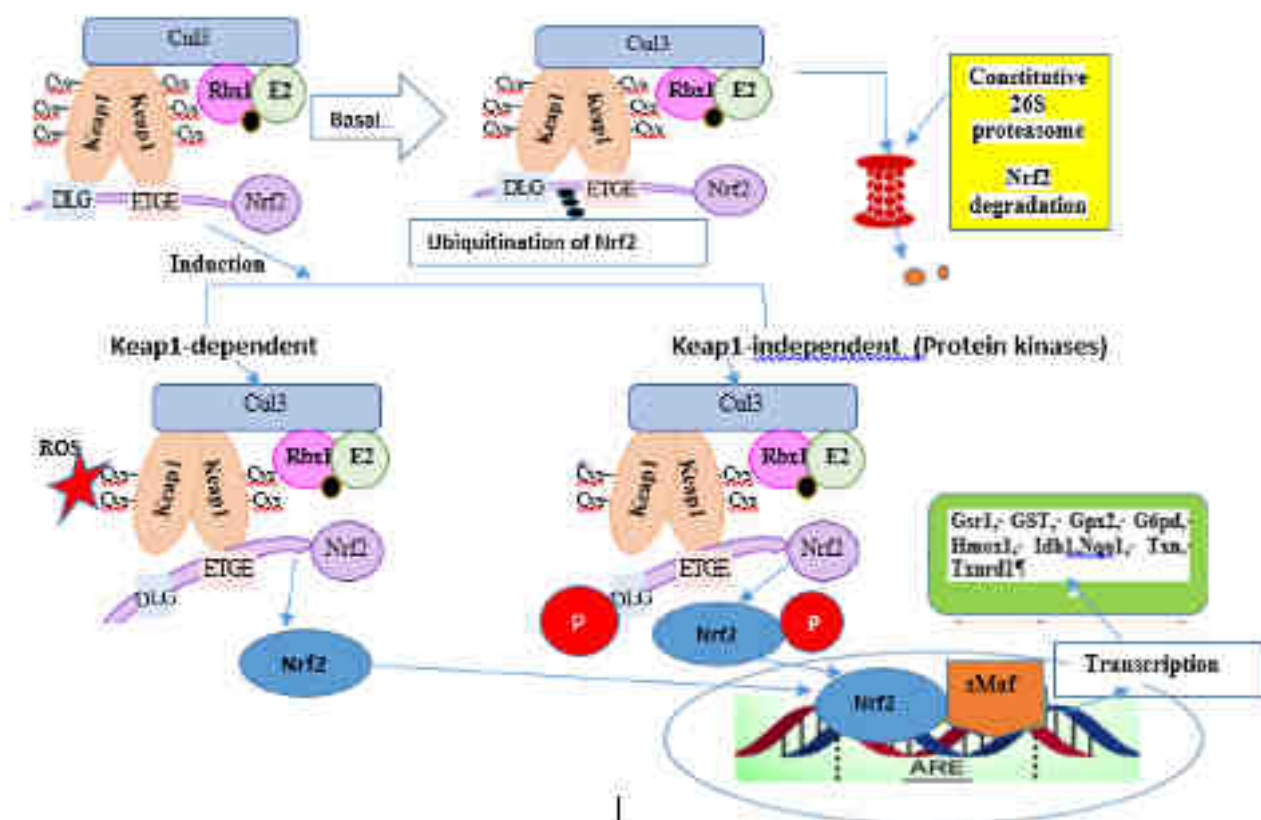


Рис. 1.5. Кеар1-залежний і Кеар1-незалежний сигнальний шлях активації Nrf2 [159]

Клітини потребують механізмів, що розщеплюють білки, непотрібні на даний момент або/та ті, що втратили функціональність. Еукаріотичні клітини мають два основні шляхи контролю для підтримки гомеостазу протеома – систему аутофагії-лізосоми і убіквітин-протеасоми (UPS). UPS, відповідають за деградацію короткоживучих регуляторних білків або неправильно згорнутих білків за участю протеасоми 26S. Протеасома, найскладніша з відомих протеаз, розщеплює білки, які були кон'юговані з убіквітином.

У гомеостатичних умовах Nrf2 локалізована в цитоплазмі завдяки своїй асоціації з комплексом Keap1-Cul3-Rbx1, що призводить до безперервного убіквітинування Nrf2 і його протеасомній деградації. У відповідь на окиснювальний стрес Nrf2 дисоціює від Keap1 (переважно в результаті окиснення залишків цистеїну в Keap1), транслокується в ядро і гетеродимеризується з одним із невеликих білків MAF. Цей комплекс активує ARE-залежну експресію генів ряду антиоксидантних і цитопротекторних білків і надає стійкості клітинам до окисного стресу.

Адаптивність протеасоми, яка є унікальною протеазою, дає змогу клітинам контролювати шлях убіквітин-протеасоми в глобальному масштабі [153; 247; 248; 523]. Протеасома 26S є основною протеазою в клітині, відповідальною за деградацію білків як в цитоплазмі, так і в ядрі. Приєднання убіквітину націлює відпрацьовані білки на протеасому. Модифікація убіквітином, ковалентно приєднана до білкових бічних ланцюгів лізину за участі безлічі убіквітинлігаз і кон'югуючих ферментів, надходить в протеасому, де субстрат руйнується [153]. Деградація переважної більшості (80–90 %) внутрішньоклітинних білків здійснюється 26S протеасомою. Після індукції залишки цистеїну в Keap1 модифікуються, активність убіквітинлігази E3 пригнічується, і рівні Nrf2 збільшуються. Активований Nrf2 надходить в ядро і димеризується з MAF, щоб сприяти транскрипції ARE-залежних генів [468].

АФО або електрофільна реакція з певними залишками цистеїну зумовлює конформаційні зміни в Keap1 і запобігає протеасомній деградації Nrf2. Збагачений цистеїном білок Keap1 регулює активну деградацію Nrf2 в базальних умовах, діючи в якості адаптера до cullin3 (Cul3) ringbox1 (Rbx1), який містить E3 убіквітинлігазний комплекс.

Точний механізм, за допомогою якого модифікації цистеїну в Keap1 призводять до активації Nrf2, невідомий, але існують дві домінуючі, та не взаємовиключаючі моделі. Перша модель – «петля і засувка», в якій модифікації Keap1 в тілових залишках, що знаходяться в IVR Keap1, можуть порушувати взаємодію з Nrf2 з провокуванням зсуву залишків лізину в Nrf2, які

більше не можуть бути поліубіквітиновані. Друга модель, в якій модифікація тіолу зумовлює дисоціацію Cul3 з Keap1.

В обох моделях Keap1, модифікований індуктором і пов'язаний з Nrf2, інактивується, і, отже, знову синтезовані білки Nrf2 обходять Keap1 і транслюються в ядро, зв'язуються з ARE і управляють експресією генів-мішеней Nrf2, таких як NAD(P)H хінон-оксидоредуктаза 1 (NQO1), гем-оксигенази 1 (HMOX1), глутамат-цистеїнлігаза (GCL) та глутатіон-S-трансферази (GST). Окрім модифікацій тіолів Keap1, що призводять до індукції гена-мішені Nrf2, такі білки, як p21 і p62, можуть зв'язуватися з Nrf2 або Keap1, порушуючи тим самим взаємодію між Nrf2 і Keap1 [323].

У цитоплазмі білки Keap1 формують гомодимер, що зв'язує одну молекулу Nrf2, тому спочатку домінувала проста модель дисоціації даного комплексу внаслідок окисної модифікації та конформаційних змін репресорного білка, в результаті чого вивільнений транскрипційний фактор Nrf2 переміщається в ядро. В подальшому було показано, що після впливу електрофілів значна кількість комплексів Nrf2 – Keap1 залишається у зв'язаному вигляді [225]. Детальні дослідження будови поліпептидних ланцюгів Nrf2 і Keap1 виявили в складі Neh2, Keap1-зв'язуючого домену транскрипційного фактору Nrf2, двох послідовностей з високою ( $K_a = 20 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ ; «ETGE») і низькою ( $K_a = 0,1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ ; «DLG») афінністю до інгібітору, що дало змогу запропонувати модель «петлі і гака». У клітині відбувається конститутивний синтез нових молекул Nrf2, які зв'язуються з Keap1 і піддаються постійному убіквітинуванию і протеасомній деградації, так що в умовах гомеостазу концентрація вільного Nrf2 невелика [709]. Внаслідок модифікації цистеїнових залишків Keap1 білок змінює конформацію і втрачає спорідненість до низькоафінного мотиву DLG, «гачок» зіскакує, а Nrf2 повисає на «петлі» – високоафінному мотиві ETGE. Це призводить до порушення убіквітинувания Nrf2 і, отже, його протеасомної деградації (але не асоціації з Keap1), пул молекул інгібітору насичується і вміст вільного Nrf2 збільшується, час його існування в клітинах зростає до 100–200 хв [145].

Залишки цистеїну в Keap1 визначають активні форми Оксигену (ROS) або електрофіли в клітинному середовищі, зумовлюючи конформаційні зміни в Keap1. Модифікований Keap1 може порушити його взаємодія з мотивом DLG з низькою спорідненістю, тоді як мотив ETGE з високою спорідненістю залишається пов'язаним з Keap1. Оскільки мотив DLG не зв'язується з Keap1, він впливає на орієнтацію залишків лізину в Neh2 домені Nrf2, запобігаючи його убіквітинуванню і деградації. Після відновлення окисно-відновного гомеостазу Keap1 переміщується в ядро і контролює ядерний експорт Nrf2 для подальшої протеасомної деградації в цитоплазмі. Щоб уникнути деградації та активувати транскрипцію ARE-керованих генів, конформація комплексу Nrf2-Keap1 повинна змінитися. Це відбувається, коли Keap1 ковалентно модифікується в своїх чутливих залишках цистеїну, що впливає на його конформацію і стабілізує Nrf2 в не розкладному комплексі (*канонічний шлях*) [146].

Крім того, в той час як контрольована канонічна активація Nrf2 необхідна для хіміопрофілактики раку, неконтрольована неканонічна активація Nrf2 забезпечує розвиток раку і хіміорезистентності, діючи як двосічний меч, здатний опосередковувати пухлинні супресивні або проонкогенними функції, залежно від конкретного біологічного контексту його активації [469].

Отже, розуміння механізмів, що регулюють сигнальний шлях Keap1/Nrf2/ARE і найбільш підходящих індукторів його активації – необхідна умова для розробки ефективних терапевтичних стратегій і розробки методів лікування або профілактики захворювань [208; 469; 612].

### **1.8. Наноселен як індуктор сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE**

Багато активаторів Nrf2 являють собою електрофільні молекули, які ковалентно модифікують цистеїнові залишки білка Keap1 [509]. Дослідження показують, що агенти, які індукують Nrf2, такі як тритерпеноїди, диетилмалеат, диметилфумарат, сулфорафан, куркумін, трет-бутилгідрокінон, окиснюючись до електрофільного метаболіту трет-бутилбензохінону, модифікують залишок Cys151 для індукції Nrf2, в той час як 2-ціано-3,12-диоксоолеано-1,9d-ієн-28-

імідазолід, хлорид кадмію та арсен активують Nrf2 незалежно від Cys151 [509]. Диференціальна реактивність цистеїну в Keap1, «код цистеїну», однак, не пояснює, як це призводить до різної токсин-залежної активації генів транскрипційним фактором Nrf2 [422]. Індукторами Keap1/Nrf2 можуть слугувати наночастинки, що продемонстровано в дослідженнях [578; 679].

Для синтезу наночастинок традиційними фізичними і хімічними методами необхідно застосовувати відновлювальні агенти, які мають високий реакційний і токсичний вплив за використання людьми, або вони є екологічно небезпечними і досить дорогими [550]. Широкомасштабний синтез також стикається з багатьма проблемами, зокрема низької стабільності та меншої монодисперсності [417].

Природна «біолабораторія», що складається з рослин, водоростей, грибів, дріжджів, бактерій і різних біомолекул в їх складі відіграє активну роль в утворенні наночастинок різної форми, розміру і властивостей, і є рушійною силою для розробки більш безпечних і екологічних методів синтезу наночастинок цими біонанофабриками [554; 627].

Введення понять «зеленої хімії» і «нанотехнологій» є одним з революційних подій в науці, які вплинули на вклад в проведення досліджень з екологічної безпеки та зменшення розмірів об'єктів. Об'єднання цих двох галузей проклало шлях до нової "зеленої" і нанорозмірно орієнтованої науки під назвою «зелені нанотехнології» або біонанотехнології [627]. «Зелений» синтез за допомогою бактерій є особливо важливим для отримання наночастинок через їх різноманітність, високу пристосованість до екстремальних умов [632; 663], низьку енерговитратність та регульованість процесів біогенного синтезу [242].

Завдяки «озелененню» процесів синтезу наночастинок з використанням біологічних систем і їх компонентів було зумовлене зменшення навантаження на навколишнє середовище і підвищення економічної ефективності, відкриті додаткові можливості створення наночастинок із заданим складом і властивостями. Кожна наносистема є унікальною і специфічною за своєю рецептурою, сумісністю з активними молекулами, вибором допоміжних речовин і кінетикою, а також біологічною ефективністю [213; 629].

Синтезовані методами біонанотехнології SeNP мають безліч застосувань в царині медичних і фармацевтичних досліджень. Наночастинки Селену мають онкосупресорну, антиоксидантну та антимікробну активність, застосовуються в біології, медицині, сільському господарстві [123; 356; 629].

У дослідженнях Song et al. [578] синтезовані наночастинки біогенного наноселену (BNSe) за участю бактерій *Enterobacter cloacae* Z0206, за допомогою яких селеніт натрію був трансформований у сферичні наночастинки Se, зі стабілізуючою білковою оболонкою та розміром часток від 80 нм до 250 нм (у середньому  $139,43 \pm 7,44$  нм). Частилки BNSe синтезувалися внутрішньоклітинно і секретувались із клітини. У досліджах порівнювали ефективність біогенних наночастинок Селену з органічною формою Селену (селенометіонін і наночастинками селену), отриманими фізико-хімічними методами (розмір NPSe – від 40 нм до 600 нм (середнє значення  $120 \pm 10$  нм)).

Класичне визначення наночастинок передбачає їх діаметр від 1 до 100 нм, але унікальні фізико-хімічні (розмір, форма, хімічний склад, стабільність) і біологічні властивості цих наночастинок, синтезованих методами біонанотехнології допускає відносити їх до наноструктур. Монодисперсність і стабільність біогенних SeNP у межах даного діапазону обумовлена органічним матеріалом, що складається з біомолекул, що продукуються бактеріальними клітинами, які беруть участь у контролі діаметра наночастинок [659].

На моделі клітин мишей з індукованим дикватом (біпіридилним гербіцидом, що сприяє утворенню супероксидного радикалу) оксидативним стресом в клітинах кишечника показано, що частинки BNSe захищають кишковий бар'єр мишей і зберігають редокс-гомеостаз клітин кишечника ефективніше, порівняно з селенометіоніном і наноселеном, синтезованим хімічними методами [578].

Дослідження *in vitro* з епітеліальними клітинами тонкої кишки свині (IPEC-J2) показали наступні ефекти: частинки BNSe захищають епітеліальний бар'єр від окисного стресу, знижують апоптоз клітин, покращують редокс-гомеостаз, активують транскрипційний фактор Nrf2, підсилюють експресію



генів цитопротекторних і антиоксидантних сполук, таких як TXNRD-1, НАДФН дегідрогеназа (NQO)-1, гемоксигеназа -1 (HO-1) і тіоредоксин.

Шлунково-кишковий тракт є одним з ключових джерел АФО, тому стабільність кишкового бар'єру має вирішальне значення для підтримки його стійкого стану. Значна роль активації сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE в підтримці кишкового бар'єру, полягає в наступному: знижується пошкодження слизової оболонки кишечника; зменшується запалення кишечника, пригнічується запальний шлях; нормалізується кишкова проникність шляхом впливу на білки епітелію кишечника і апоптоз клітин; регулюються процеси диференціювання та функції Т-клітин; перехресна взаємодія між шляхом Keap1-Nrf2 і аутофагією контролює оксидативний стрес в клітинах кишечника [666].

У даний час виявлено альтернативні механізми регуляції функціонування Nrf2, включаючи фосфорилування Nrf2 різними протеїнкіназами (PKC, PI3K/Akt, GSK-3 $\beta$ , JNK), взаємодія з іншими білковими партнерами (p21, кавеолін-1) і епігенетичними факторами (мікро-РНК-144, -28 і -200a і метилування промотору). Встановлено, що нековалентна активація Nrf2 забезпечує більший клітинний захист, ніж ковалентна активація [393], що стимулює дослідження в цьому напрямку.

Ці та інші процеси є потенційно важливими детермінантами активності Nrf2 і, отже, можуть сприяти підтримці клітинного гомеостазу. Життєво важливим фактором у функціонуванні багатьох транскрипційних факторів є їх просторово-часова регуляція. Встановлено, що Nrf2 «включається» у відповідь на стимул і «вимикається», коли стимул видаляється. Саме з цієї причини цей шлях строго регулюється низкою механізмів, відповідальних за запобігання надмірної активації Nrf2, що може обумовити різні патології.

Отже, транскрипційний фактор Nrf2 забезпечує клітинний захист, підтримуючи клітинний окисно-відновний гомеостаз і протеостаз. Базальні рівні Nrf2 зазвичай низькі через Keap1-опосередковане убіквітінування і подальшу протеасомну деградацію. Keap1 містить сенсорні цистеїни (Cys151, Cys273, Cys288, Cys226, Cys434 і Cys613), які модифікуються електрофілами або

окиснювачами, що призводить до дисоціації комплексу Keap1-Nrf2, пригнічення деградації Nrf2, транслокації його в ядро, гетеродимеризації з MAF, активації ARE-залежної експресії генів антиоксидантних і цитопротекторних білків. У даний час виявлено альтернативні механізми регуляції Nrf2, включаючи фосфорилування Nrf2 різними протеїнкіназами (PKC, PI3K/Akt, GSK-3 $\beta$ , JNK), взаємодію з іншими білковими партнерами (p21, кавеолін-1) і епігенетичні фактори (мікро-РНК-144, -28 і -200a і метилування промотору).

Застосування нових активаторів Nrf2 і, в тому числі, біогенного наноселену, синтезованого за участю різних видів бактерій, сприяє активації сигнального шляху Keap1/Nrf2/ARE, активації комплексу антиоксидантних і цитопротекторних ферментів. Індуктори Nrf2 є електрофільними молекулами, які мають небажані побічні ефекти через їх реактивну природу. Оскільки нековалентна активація Nrf2 забезпечує більший клітинний захист, ніж ковалентна активація, що показує перспективність пошуків і створення композитних наноматеріалів на основі природних неелектрофільних активаторів Nrf2 за активної участі наночасток, перш за все біогенних, з можливою їх функціоналізацією для таргетування, транспортування і ефективного застосування. В останні роки кількість кишкових захворювань значно зросла через зміни в звичках харчування і дії інших факторів навколишнього середовища. Вкрай важливо зрозуміти механізми функціонування кишкових бар'єрів для розвитку і лікування цих захворювань. Сигнальний шлях Keap1/Nrf2 відіграє важливу роль в підтримці цілісності кишкового бар'єра, зменшує пошкодження і запалення кишечника, приймає участь в регуляції шляху запалення в різних моделях захворювань, пригнічує утворення ROS, підвищує виживання клітин і активізує транскрипцію генів-мішеней антиоксидантів. Очевидно, такого типу Nrf2-залежна активація генів, що захищають клітини, підсилює захист проти різних оксидативних стресів. Оскільки ряд хвороб мають оксидативний стресовий компонент, то роль шляху передачі сигналів Nrf2 призвела до значних клінічних та лабораторних досліджень. Детальне знання заснованих на тіол-залежних і незалежних

механізмах редокс-сигналізації в фізіологічних і патологічних умовах призведе до глибшого розуміння окисно-відновного компонента в здоров'ї та захворюванні людини і тварин. Передача сигналів Keap1 / Nrf2 / ARE розкриває терапевтичні мішені для безлічі редокс-опосередкованих захворювань.

### **1.9. Перспективи використання наночастинок**

Необхідність всебічного вивчення наночастинок (металів та неметалів) обумовлена значною кількістю наукових досліджень, у яких доведено, що їх властивості суттєво різняться як від аналогічних макрочастинок, так і від речовин, з яких вони були отримані [447]. Ці властивості залежать від їх складу, природи, форми, розміру, заряду, структурних особливостей як поверхні самої наночастинки, так і молекул-модифікаторів поверхні (у випадку їх застосування), способів одержання та технологічних параметрів [280]. Існує багато аспектів цих біологічних методів, які можна виявити, а потім ними маніпулювати [213]. Нанобіотехнології на основі використання бактерій сприяють здешевленню препаратів наночастинок, мають високий комерційний потенціал з перспективами широкомасштабного застосування. Наночастинки, отримані таким шляхом, проявляють кращу біологічну сумісність з огляду на відсутність адсорбованих токсичних речовин [565]. Значна частина експериментальних досліджень проведена з метою створення діагностичних і лікувальних нанозасобів [147; 152; 439; 717]. До цієї проблеми залучаються фахівці різних профілів – матеріалознавці, хіміки, біологи, медики та ветеринари [466]. Метою цих досліджень є створення наночастинок не як кінцевого продукту, а як вихідної сировини для отримання біосумісних субстанцій. У порівнянні з НЧ, виробленими звичайними шляхами, біосинтезовані НЧ мають деякі унікальні властивості і можуть застосовуватися без побічних ефектів у таких областях, як каталіз та деградація органічних забруднювачів [395; 443].

Пріоритетним напрямком дослідження залишається визначення ефектів впливу NPMe на будь-який біологічний суб'єкт, що є необхідним при конструюванні біотехнологічних продуктів із залученням нанотехнологій. Такі

дослідження можуть бути адекватними лише за послідовного використання біомаркерів – ключових системних характеристик живого організму (біохімічних, фізіологічних, імунологічних тощо). Описано декілька основних механізмів контактної взаємодії металів у різних хімічних формах на моделі клітин мікроорганізмів. Механізм пасивного депонування металів бактеріальною клітиною ґрунтується на фізико-хімічному їх зв'язуванні структурними компонентами клітинної мембрани. Метаболізм-залежну кумуляцію металів пов'язують з функціонуванням ензимних систем клітин, які забезпечують реакції обміну речовин та енергії з навколишнім середовищем. Прокаріотичні клітини, завдяки унікальним структурним властивостям та обміну речовин, здатні активно контактувати з металами та можуть бути модельною системою для вивчення взаємовідносин між клітиною і NPMе.

У сучасних умовах застосування методів нанотехнології все більше набувають поширення у різних галузях, зокрема у харчовій промисловості [285; 477; 607]. Нанотехнології мають потенціал, щоб забезпечити здоровіші, безпечніші та кращі продукти харчування, а також поліпшену упаковку харчових продуктів. Застосування нанотехнологій у харчовій промисловості сприятиме створенню нових матеріалів через низку їх унікальних фізико-хімічних властивостей, корисних для ряду інших галузей [205]. Перспективним є застосування нанотехнологічних підходів для всього ланцюга сільськогосподарського виробництва, від поля до споживачів [161; 253]. Це передбачає створення та використання органічних та неорганічних матеріалів у наномасштабі, з індивідуальними фізичними, хімічними та біологічними властивостями. Встановлено, що речовини у вигляді наночастинок, порівняно із молекулярними та макромасштабними формами мають здебільшого різні фізичні та хімічні властивості [305].

Сфера нанотехнологій швидко розвивається та має різноманітні застосування в аналізі харчових продуктів [453], застосуванні наносенсорів [290; 491], упаковці [304; 290], збільшують термін придатності харчових продуктів [285]. Нанотехнології успішно застосовуються для поліпшення якості продуктів харчування та харчової безпеки (виявлення патогенних мікроорганізмів або

токсичних метаболітів), збагачення харчових продуктів мінералами, вітамінами, антиоксидантами та ефірними оліями, покращення органолептичних властивостей (підвищення смаку або кольору), подовження терміну придатності та антимікробну упаковку харчових продуктів [186; 285]. Очікується, що застосування нанотехнологій у харчовому секторі принесе ряд переваг, включаючи нові смаки та текстури продуктів, зменшення використання жирів, поліпшення поглинання поживних речовин. Як біосенсори для оцінки якості та безпеки харчових продуктів застосовують наночастинки [305; 491].

Найбільш перспективним є застосування наночастинок, одержаних методом «зеленого» синтезу [223]. Проте застосування наночастинок у всіх галузях повинно бути чітко контрольоване, оскільки існують повідомлення про токсичність окремих наноматеріалів [203; 306].

### **1.10. Наноселен у птахівництві**

На сьогодні галузь птахівництва відчуває значні проблеми, пов'язані з інфекційними захворюваннями, які уповільнюють темпи зростання і призводять до збитків. Наразі використовуються вакцини і антибіотики для боротьби з патогенними мікроорганізмами, однак безвідповідальне їх використання може становити небезпеку для здоров'я споживачів. Отже наявна потреба в альтернативних методах захисту птиці та поліпшення якості отриманої продукції може бути вирішена внаслідок нанотехнологій [65].

Наночастинки різних мінералів використовуються у птахівництві, зокрема Аргентуму [639], оксиду цинку [686], діоксиду церію, купруму [315, 456, 654], Феруму [438], Селену [161] тощо. Через недостатню кількість знань потенціал нанотехнологій у птахівництві ще не повністю використаний [638]. Мінеральні сполуки мають низьку біодоступність для тварин. Наночастинки можуть знижувати мінеральний антагонізм у кишечнику, що призводить до модуляції механізмів всмоктування, вони здатні оптимізувати імунну відповідь організму птахів та підвищувати ефективність травлення, що сприяє ефективній годівлі [54; 270], та зменшенню випадків ранньої ембріональної смертності [493].

Наноматеріали в якості біосенсорів застосовуються для отримання інформації про перебіг різних видів обміну в тканинах та клітинах, а ультрочутливе встановлення вмісту поживних речовин, їх метаболітів та активності біологічно-активних сполук значно поліпшують розуміння характеру взаємодії цих речовин [493], їх біодоступності та, в подальшому, харчової оцінки отриманої продукції [53].

НЧ потрапляють в організм безпосередньо з корму або води та через парентеральне введення нанопрепаратів [600]. Біодоступність їх зазвичай зменшується при проходженні через шлунково-кишкові бар'єри, слизову оболонку кишечника і печінку, а за прямого введення в системний кровообіг парентеральними ін'єкціями біодоступність становить 100 % [266]. Залежно від розміру, наночастинки здатні транзитом проходити через травний тракт без поглинання організмом [191], або проникають через кишківник і з током крові надходять до органів та тканин [639]. Фізико-хімічні характеристики НЧ (заряд, розміри, дзета-потенціал, оболонка та розчинність) суттєво впливають на їх руйнування, поглинання, розподіл та виведення. У моногастричних тварин механізм перетворення нанорозмірних препаратів Se у селеніт передбачає, що кишкова мікробіота перетворює нано-Se в селеніт, Se-фосфат або  $H_2Se$ , що в результаті призводить до синтезу селенопротеїнів [600].

Додавання до раціону наносрібла та неорганічного Se не спричиняє збільшення ваги, споживання корму та змін коефіцієнту конверсії корму, але збільшує відносну масу печінки та тонкого кишечника ( $p < 0,05$ ) бройлерів [639]. Згодовування наноаквахелатів Селену з вітаміном Е мало позитивний вплив на кальцій-фосфорний обмін у яйценосних курей [59].

Існують дані щодо впливу Селену на ентероцити [434; 609], зокрема його вплив на зниження кишкового туморогенезу за множинних кишкових неоплазійних мутацій. Можна припустити, що добавки Селену матимуть певний вплив на ріст кишечника, включаючи клітинну диференціацію епітелію слизової оболонки кишечника. Окрім того, зазвичай кишечник динамічно реагує на годівлю, а найбільш різкі зміни відбуваються у дванадцятипалій

кишці [415]. Виявлений важливий вплив Селену на розведення курей внаслідок підвищення стійкості до окисного стресу [412; 700] та підвищення опірності та імунологічного статусу організму [286]. Існують повідомлення, що окрім позитивного впливу на морфологію кишечника Селен здатен поліпшувати склад мікробіоти кишечника та діяти як антиоксидант [328].

Оксидативний стрес є згубним фактором для клітинної цілісності внаслідок постійного вивільнення реактивних форм кисню, опосередкованих різними біотичними (бактеріями, вірусами, грибами тощо) та абіотичними стресорами. Такий мікроелемент, як Селен з потужним антиоксидантним потенціалом, має широке застосування як кормова добавка для зменшення окисного стресу в живих системах [169; 179; 277; 315; 410; 438]. Селен широко зустрічається в органічних та неорганічних сполуках [277; 410; 532], демонструючи різноманітні функції. Він заміщує Сірку в білкових молекулах і є важливою частиною низки ферментів (селенопротеїнів). Se, в основному, відомий своєю антиоксидантною діяльністю та відіграє головну роль в оптимізації редокс-потенціалу, репродуктивних процесах, метаболізмі гормонів щитовидної залози, розвитку м'язів та антиканцерогенезі [418; 545]. Nano-Se призводить до більш високої активності утримання Se внаслідок менших розмірів та більшої біодоступності [479]. Глутатіонпероксидаза – перший селенопротеїд, виявлений у біологічних системах з антиоксидантною активністю [277; 479].

Біогенні наночастинки Селену (SeNPs), синтезовані за участю бактерій, мають унікальні фізико-хімічні та біологічні властивості порівняно з неорганічними і органічними сполуками. Збагачені наноселеном пробіотичні бактерії можуть ефективно застосовуватися як альтернатива іншим формам Селену в якості харчової і кормової добавок [520; 681].

Встановлено, що біогенні наночастинки Селену впливають на редоксчутливий фактор транскрипції Nrf2 (Keap1/Nrf2/ARE сигналізація), що активує експресію генів та синтез низки антиоксидантних і цитопротекторних білків, включаючи хінооксидоредуктазу, глутатіонпероксидазу, гем-оксигеназу-1, глутатіон-S-трансферазу, гама-глутамілцистеїнсинтетазу,

глутатіонредуктазу та супероксиддисмутазу [336; 631; 679]. Частинки біогенного наноселену активують систему Nrf2-ARE через p38, ERK1/2 і АКТ-опосередковане фосфорилування Nrf2 для покращення антиоксидантної функції кишкових епітеліальних клітин [679].

Додавання нано-Se використовується в раціонах для птиці для спостереження за інтенсивністю росту, окисно-відновних та імунних процесів. Додавання наноселену покращує репродуктивні показники птиці [228; 227]. Nano-Se показав кращі результати щодо збільшення маси тіла в порівнянні з селенітом натрію у раціонах бройлерів [545]. Подібні результати спостерігалися також при додаванні до основного раціону 0,3 мг/кг Se у вигляді наноелементарного Se, натрію селеніту або селеновмісних дріжджів [122; 134; 168; 169; 179; 394]. Доповнення раціону бройлерів нано-Se (0,2, 0,3, 0,4 та 0,5 мг/кг) покращувало показники росту, імунні функції та післязабійні показники птиці, не впливаючи на внутрішні органи [122]. Поєднання пробіотиків та наночастинок Se також показало поліпшення росту, жирнокислотного профілю скелетних м'язів та вмісту  $\alpha$ -токоферолу в сироватці крові у бройлерів [522]. Нано-Se оптимізував антиоксидантний статус через вплив на активність антиоксидантних ферментів та підвищив рівень IgG та IgM порівняно з органічними та неорганічними сполуками Se в умовах окисного стресу [168] у курей та термічного стресу [410] у бройлерів за одночасного покращення показників росту та імунітету, активізуючи експресію генів цитокінів.

Органічні сполуки Se (селеновмісні дріжджі, Zn-Se-Met) та nano-Se демонстрували аналогічне поліпшення інтенсивності росту, післязабійні показники м'яса та туші у бройлерів, однак інтенсивніше, аніж неорганічні сполуки Se [543]. Аналогічно Surai et al. [600] виявили значне збільшення приросту ваги, збереження та покращення коефіцієнта конверсії корму шляхом доповнення різними джерелами Se порівняно з контролем. Більше того, активність сироваткової та печінкової глутатіонпероксидази (GSH-Px) виявилася вищою за додавання сполук селену, ніж у контролі. Однак різні джерела Селену (селеніт натрію, дріжджі, збагачені Se, селенометіонін, нано-



Se) у китайської місцевої породи курей Subei не виявляли впливу на параметри росту, але антиоксидантна здатність (активність GSH-Px у грудному м'ясі / сироватці та вміст малонового діальдегіду у сироватці крові) та якість м'яса покращувались за додавання органічних та нано-джерел Se [168; 169; 179; 377; 394]. Також спостерігається незначний вплив добавки нано-Se на ріст, колір туші та індекс імунних органів (тимус, селезінка та бурса) у бройлерів.

У дослідженнях останніх років приділяється увага використанню Селену для залучення у роботу системи антиоксидантного захисту [168; 169; 179; 377; 394], однак повідомлень про використання нанорозмірних препаратів Селену досить мало. Так, згодовування бройлерам нано-Se значно збільшує активність GSH-Px та супероксиддисмутази (СОД) у сироватці крові та знижує концентрацію малонового діальдегіду [134]. Проте бройлери, що отримували вищі рівні нано-Se, показали зниження активності GSH-Px та СОД у сироватці крові. Крім того спостерігається вище співвідношення гетерофілів та лімфоцитів у птахів, що отримують нано-Se без зміни інших гематологічних показників [169]. Nano-Se підвищує антиоксидантну здатність печінки внаслідок зменшення кількості окисненого GSH-Px у печінці [521]. Сполуки Селену нормалізують біохімічні показники крові у разі інтоксикації [229; 333]. Додавання нано-Se в раціони несучок показало несуттєвий вплив різних джерел Селену (Se-метіонін, селеновмісні дріжджі та nano-Se) на продуктивність та параметри якості яєць, окрім маси яєць та утримання в них Селену [217]. Дані показники зросли за додавання наноселену незалежно від його форми [440]. Найвища кумуляція Se в тканинах печінки спостерігалася за згодовування нано-Se, який підвищував клітинний та гуморальний імунітет [277, 315]. Необхідні подальші дослідження птахів яєчних порід, щоб оцінити вплив нано-Se на яйцекладку, висиджуваність та імунну відповідь [546].

Згідно сучасних даних, Селен є мікроелементом, що може модулювати вірусні захворювання, включаючи COVID-19 [362].

### 1.11. Перспективи використання наночастинок церію у сільському господарстві

У перелік десяти пріоритетних наноматеріалів експерти міжвідомчої програми з коректного управління хімічними препаратами (ІОМС) і організації економічної кооперації та розвитку (ОЕСД) включили нанодисперсний діоксид церію [16; 37; 429]. Церій є найпоширенішим рідкоземельним металом (близько 0,0046 % мас. Земної кори), і, безумовно, є елементом промислового значення. Діоксид церію ( $\text{CeO}_2$ ), який також називають церієм, є найвідомішою сполукою церію, завдяки його неперевершеним окисно-відновним властивостям і здатності гарантувати чудову рухливість кисню [721]. Це потужний окиснювач, який використовується в каталізі та медицині. Нанодисперсний діоксид церію є перспективним матеріалом, що знаходить широке застосування в сучасних високотехнологічних галузях промисловості [131].

Значний інтерес, який виявляють в останні роки до вивчення діоксиду церію, в першу чергу обумовлений фактом, що при переході в нанокристалічний стан дана сполука значно змінює свої фізико-хімічні властивості, причому характер цих змін досить незвичайний [116; 131; 651]. Зокрема, на відміну від цілого ряду речовин (наприклад, елементарного золота), зі зменшенням розмірів частинок параметр елементарної комірки  $\text{CeO}_2$  збільшується. Одночасно з цим спостерігається зміна кисневої нестехіометрії діоксиду церію, обумовлене збільшенням частки атомів, що знаходяться на поверхні частинок, що обумовлює зміну його електронних і електрофізичних властивостей [33; 37; 116].

Яскраво виражений вплив розмірного фактору на фізико-хімічні властивості нанодисперсного діоксиду церію обумовлює унікальну біологічну активність матеріалу [557]. Перспективи та особливості його застосування визначаються низькою токсичністю і високою кисневою нестехіометрією. Перший фактор забезпечує порівняльну безпеку застосування наночастинок діоксиду церію *in vivo*. Другий обумовлює активність нанодисперсного  $\text{CeO}_2$  в окисно-відновних процесах у живій клітині, особливо у разі інактивації

активних форм кисню [16; 33; 37; 557]. До специфічних властивостей  $\text{CeO}_2$  слід віднести і здатність до регенерації кисневої нестехіометрії, яка виражається у здатності наночастинок діоксиду церію після участі в окисно-відновному процесі за порівняно невеликий проміжок часу повертатися до вихідного стану, що забезпечує можливість їх багаторазового використання [33; 37; 429; 541].

Наночастинки, завдяки маленьким розмірам, легко проникають у організм через органи дихання, травлення, шкіру та проявляють більш виражену біологічну активність внаслідок великої площі поверхні на одиницю маси. Зміна фізико-хімічних механізмів дії наночастинок зумовлена тим, що більшість атомів знаходиться на поверхні. Таке розташування змінює фізичні, хімічні, біологічні, токсикологічні властивості речовини та сприяє полегшенню взаємодії наночастинок з живим організмом [33; 37; 56; 400; 557].

Нині значна кількість рослинної продукції вирощується із застосуванням нанотехнологій. Очікується, що у найближчий час понад 15 % всіх продуктів на світовому ринку буде мати певні включення нанотехнологій у їх виробничий процес. Сконструйовані наночастинки (від 1 до 100 нм) можуть мати інакші фізичні та хімічні властивості, аніж ті, що зустрічаються в природі, їх вплив на здоров'я людини має бути оцінений залежно від їх розміру і форми [296; 539].

Нанотехнологічні прийоми можуть застосовуватися для контрольованого вивільнення лікарських засобів, пестицидів, агрохімікатів, для ефективного використання мікроелементів, не порушуючи життєдіяльність корисних комах. При цьому забезпечується перетворення органічних відходів у товарну продукцію. Наночастинки здатні виявляти абсолютно нові або поліпшені властивості, у порівнянні з більшими частками дисперсного матеріалу, з якого вони виготовлені. Біорозкладані органічні відходи рослин можуть бути використані для синтезу наночастинок, оскільки всі вони містять феноли, флавоноїди і відновлюючі агенти. Сучасна стратегія одержання наночастинок, зокрема діоксиду церію, передбачає використання принципів та підходів «зеленої хімії» [296].

Незважаючи на ризики, нанотехнології широко впроваджуються у всіх галузях промисловості та сільського господарства. Наразі ведеться інтенсивна дискусія щодо впливу наночастинок на навколишнє середовище і здоров'я людини. Потрапивши у біологічну систему, наночастинки стикаються з низкою фізичних і хімічних особливостей організму, які впливають на їх властивості та здатні змінити відповідь [653; 540]. Ці особливості значною мірою обумовлені здатністю до проходження у окисно-відновному циклі між двома природними станами окиснення ( $\text{Ce}^{3+}$  і  $\text{Ce}^{4+}$ ). Проте раніше вважали, що наночастинки  $\text{CeO}_2$  стабільні [651] та малорозчинні [510] або нерозчинні в умовах навколишнього середовища, що залежить від носія, рН і розміру часток [539]. Розчинення наночастинок залежить від співвідношення між  $\text{Ce}^{3+}$  і  $\text{Ce}^{4+}$  на їх поверхневому шарі [540]. Зі зменшенням розміру наночастинок все більше звільняються від вакансій кисню в решітці, що призводить до місцевого зниження кількості  $\text{Ce}^{4+}$ .

Виявлено, що токсичність наночастинок  $\text{CeO}_2$  до кишкової палички пов'язана з поверхнею наночастинок, що змінюється за присутності бактерії. Додавання фосфату до поверхні наночастинок може зупинити цей редокс-цикл шляхом захоплення  $\text{Ce}^{3+}$  в  $\text{CePO}_4$  [37].

В останні роки у літературі зустрічаються повідомлення щодо застосування наночастинок металів, зокрема церію у тваринництві, оскільки використання антибіотиків в якості стимуляторів росту заборонено в Європейському Союзі. Тому вчені та виробники продукції тваринництва розпочали інтенсивні пошуки альтернативи кормовим антибіотикам. Ефірні олії, отримані зі спецій і трав, пре- і пробіотики, органічні кислоти і ферменти нині успішно застосовуються в якості заміни для антибіотичних кормових добавок. Повідомляється, що низка рідкоземельних елементів (РЗЕ), до яких належить церій, можуть успішно застосовуватися в якості нових природних добавок до корму з метою підвищення продуктивності тварин [120; 287].

Існують повідомлення, що РЗЕ можуть активізувати обмін білків та інших поживних речовин шляхом стимулювання діяльності гормонів, зокрема гормону росту і  $\text{T}_3$ , індукувати синтез металотіонеїнів та підвищувати вміст

глутатіону в печінці. Окрім того, встановлена антимікробна та антиоксидантна дія РЗЕ для тварин. У разі їх застосування у раціоні свиней (100 мг/кг) виявляли позитивний вплив на коефіцієнт конверсії корму та показники росту.

Встановлені зміни прооксидантно-оксидантного статусу крові корів з гіпогонадізмом та після їх лікування при використанні препарату каплаестрол, який містить наночастинки  $\text{CeO}_2$  (діоксиду церію). Також визначено ефективність репарації яєчників і відновлення репродуктивної здатності корів. Проведено дослідження змін показників гомеостазу і морфо-функціонального стану молочної залози корів сухостійного періоду у разі дефіциту каротину, вітаміну А, порушення у прооксидантно-антиоксидантній системі та за застосування препаратів каплаестрол+ $\text{CeO}_2$ +прозон і овакс-1+прозон. Використання наночастинок церію в комплексі з препаратами дає змогу нормалізувати структуру та функцію молочної залози й підвищити рівень колостральних імуноглобулінів [47].

Застосування РЗЕ мали позитивні результати для домашньої птиці [671]. Додавання різних рівнів РЗЕ (200, 400, 600 і 800 мг/кг) сприяло значному збільшенню виробництва яєць, ваги яєць і швидкості запліднення інкубаційних яєць 6-місячних курей-несучок [671]. Було встановлено що додавання різних рівнів РЗЕ-нітрату до раціону курей-несучок (300, 400 і 500 мг/кг) значно поліпшило швидкість утворення яєць та їх масу.

Додавання до раціону цитрату РЗЕ сприяє підвищенню продуктивності бройлерів [287]. Одним із механізмів впливу є підвищена секреція соків травних залоз. Додавання РЗЕ до раціону сприяло значному підвищенню СОД-активності у крові риб і курей.

Додавання курям-несучкам різної кількості діоксиду церію (0, 100, 200, 300 або 400 мг/кг) не мало істотного впливу на споживання корму і масу яйця, однак при цьому поліпшується коефіцієнт конверсії корму і збільшується ( $p < 0,05$ ) виробництво яєць. Критерії якості яйця за винятком міцності на розрив шкаралупи не змінювалися. Зокрема, добавка 200 і 300 мг/кг діоксиду церію до корму несучок призвели до суттєвого ( $p < 0,01$ ) підвищення міцності яєчної

шкаралупи на розрив. Концентрація Кальцію і Фосфору у сироватці крові значно збільшилася ( $p < 0,05$ ) за введення 100 мг/кг оксиду церію. Було також відзначено, що в сироватці крові супероксиддисмутазна активність і концентрація малонового діальдегіду (МДА) значно зменшилася за додавання діоксиду церію. Різні дози додавання діоксиду церію не мали достовірного впливу на активність амінотрансфераз, вміст глюкози, тригліцеролів, загального холестеролу, ліпопротеїдів високої та низької щільності сироватки крові. У разі включення до раціону курей діоксиду церію спостерігали значне зменшення вмісту ТБК-АП у жовтку яєць. Водночас внаслідок добавок діоксиду церію поліпшується окисна стабільність яйця, і це, можливо, сприятливо вплине на термін їх зберігання. У застосовуваній дозі нанокристалічний діоксид церію не акумулюється в яйцях і паренхіматозних органах птиці [114].

Рідкоземельні елементи мають схожі характеристики до Са, що може призвести до підвищеної міцності оболонки яйця птиці. Вважають, що діоксид церію також може збільшити вміст Са у сироватці. Так концентрація кальцію в сироватці крові японських перепелів значно збільшилася за введення добавок з низькими концентраціями РЗЕ (50 і 100 мг/кг). Пероральне введення РЗЕ бройлерам не впливає на концентрацію Кальцію в сироватці крові [287]. Зі збільшенням вмісту РЗЕ у раціоні бройлерів концентрація глюкози в крові зменшується [120]. При цьому встановлений зворотній ефект: вміст Кальцію і Фосфору в сироватці крові підвищується низькими концентраціями добавок діоксиду церію (100 мг/кг), але високі концентрації оксиду церію не мають впливу.

Випоювання перепелам нанокристалічного діоксиду церію позитивно впливає на яєчну продуктивність. При використанні наноцерію в дозі 1 мМ/л питної води підвищилась несучість перепелів на 7,8 %, маса яєць – на 16,9 %, інтенсивність несучості – на 6,7 %. У дозах 0,1–10 мМ/л питної води наноцерій не акумулюється в яйцях і паренхіматозних органах птиці [70]. Виявлений вплив на інтенсивність росту та споживання кормів молодняком перепелів [71].

Досліджено вплив нанокристалічного діоксиду церію та встановлені

летальна та напівлетальна дози препарату.  $Ld_{50}$  нанокристалічного діоксиду церію є більшою за 2000 мг/кг, що підтверджує належність даної сполуки до V класу токсичності та свідчить про дуже низьку токсичність [113]. Виявлений позитивний антибактеріальний потенціал наночастинок  $CeO_2$  проти патогенів птиці, а саме *Klebsiella sp.*, *E. coli*, *Staphylococcus sp.* та *Salmonella sp.* [503].

Висока ступінь біосумісності, низька токсичність і каталітична активність нанодисперсного діоксиду церію дає змогу його розглядати як перспективний нанобіоматеріал для застосування у біології, медицині та сільському господарстві. Проте нині всі можливі механізми його біологічної активності є мало вивчені та потребують подальших досліджень [173].

Органи-мішені й механізми розвитку реакції-відповіді відрізняються для різних наночастинок металів. Вони здатні індукувати активні форми кисню, порушувати мембранні структури, проникати через тканинні бар'єри, надходити в клітини і взаємодіяти з внутрішньоклітинними компонентами [16; 33; 37]. Питання дослідження позитивного ефекту та токсичності наночастинок металів неоднозначне й багатогранне, потребує комплексного підходу. Особливо це відноситься до наночастинок, які застосовуються в фармакології, медицині та сільському господарстві, що сприяє їхньому безпосередньому надходженню в організм людини [16; 33; 37; 56; 114].

### **1.12. Потенційна небезпечність використання наночастинок**

Широке використання наночастинок металів та їх оксидів неможливе без оцінки їх потенційного впливу на кінцевих споживачів [324; 187]. Біобезпечність наноматеріалів багатогранна та неоднозначна, потребує комплексного, безпечного, відповідального та науково-обґрунтованого підходу [193]. На сьогодні недостатньо є повідомлень щодо токсикодинаміки та токсикокінетики наночастинок у організмі людей та тварин, а також їх вплив на довкілля [324]. З цією метою необхідно систематизувати інформацію щодо взаємозв'язків між токсичністю наночастинок та їх складом, концентрацією, розміром, формою, реакційною здатністю тощо [448]. Важливо дослідити

молекулярні механізми впливу наночастинок на організм, органи, тканини, клітини та механізми розвитку віддалених токсичних ефектів, а також шляхів усунення чи послаблення їх небажаного впливу. Повідомляється про забруднення наночастинок, а відповідно і зміну їх властивостей не тільки в навколишньому середовищі, але й у ланцюзі виробництва харчових продуктів, що робить вплив на людину майже неминучим. Можливості нанотехнології покращують наше життя, особливо у питаннях харчування, проте разом з цим приходять потенційні проблеми, які не можна ігнорувати [635]. Такі дослідження можливі у разі використання ключових системних характеристик біологічних систем за умов *in vivo* та *in vitro* (фізіологічних, біохімічних, імунологічних, генетичних, цитологічних тощо), чутливих до токсичної дії [511; 484]. Токсична дія наночастинок може бути обумовлена їх здатністю проникати в клітину, оминаючи дихальний, дермальний, шлунково-кишковий, гематоенцефалічний, плацентарний та інші бар'єри та вибірково акумулюватися у клітинах та субклітинних структурах [249].

Харчова промисловість інтенсивно використовує наночастинок срібла як сенсори, харчові добавки, та компоненти упаковки, проте вони представляють потенційний ризик токсичності для споживача, мішенню для яких слугує кишечник і печінка. Наночастинок срібла можуть продукувати вільні радикали і обумовити оксидативний стрес у клітинах та окиснювальне пошкодження. Окиснювальний стрес опосередковує токсичність, зумовлюючи запальні реакції та смерть від некрозу чи апоптозу. Необхідно збалансувати ефективність і токсичність наноматеріалів перед використанням таких матеріалів [611]. Наноматеріали, які призначені для використання в харчових продуктах і лікувальних цілях, слід ретельно досліджувати в *in silico*, *in vitro* та *in vivo* аналізах токсичності.

Потенційна небезпечність та біосумісність наночастинок здебільшого є індивідуальною для різних штамів у межах одного таксономічного виду мікроорганізмів, з іншого боку – конкретні механізми біосумісності або цитотоксичної дії NPs виокремити складно, бо вони можуть сильно відрізнитись навіть у межах одного класу наноматеріалів, тому це питання



наразі має дискусійний характер [203]. Встановлені ефективні розміри та концентрації NPs, в яких спостерігається вплив на структурно-функціональному рівні. NPs залежно від розміру та концентрації в них катіонів металу можуть впливати на активність ензимів, зокрема мембранозв'язаних [255]. Особливою проблемою є поводження з наночастинками, які можуть зумовлювати незвичайний вплив на здоров'я людини. Оскільки наночастинки мають маленькі розміри, це може дозволити їм проникати в органи та тканини, минаючи нормальний біологічний бар'єр [525].

Вивчення впливу різних факторів на структурно-функціональний стан бактеріальних клітин становить інтерес для розуміння регуляції метаболізму в процесі адаптації. Визначення критичних точок у фазах розвитку популяції мікроорганізмів, зокрема, коли відбувається максимальне накопичення цільового продукту, а також пошук речовин, які могли б спрямовано впливати на управління фізіолого-біохімічними реакціями клітин популяції, стає центральним завданням досліджень прикладної біохімії та біотехнології. У порівнянні з іншими, фармакологічні ефекти NPs мають значні переваги у здатності до біодеградації. Фармакодинаміка наночастинок зумовлена їх фізико-хімічними властивостями. Проте, фармако- і токсикокінетична їх дія у будь-якій клітині, органі та організмі потребує детального дослідження, бракує даних стосовно органів-мішенів, проникнення через біологічні мембрани та біодоступності. Опосередкована небезпечність NPs обумовлена їх цитогентоксичністю, здатністю зумовлювати запалення та оксидативний стрес на клітинному рівні. Такі дослідження повинні включати визначення безпечності NPs в системі *in vitro* з подальшим проведенням токсикологічних експериментів у системі *in vivo*, які передбачають тестування генотоксичності, мутагенності, біосумісності та біодоступності за визначенням генетичних, біохімічних і цитологічних маркерів біологічного потенціалу клітин різного рівня організації.

Перспективним залишається вивчення системної відповіді макроорганізмів на дію наночастинок, яка загалом може значно відрізнитись від результатів, отриманих в експериментах на ізольованих клітинах. Дослідження повинні ґрунтуватися на більшій кількості даних, включаючи доклінічні

випробування на тваринах із застосуванням комплексу системних маркерів (фізіологічних, біохімічних, імунологічних тощо), зокрема, тривалих за часом (хронічних) [125; 271].

### 1.13. Заключення

У даній роботі представлені окремі результати щодо загальної характеристики наночастинок та їх одержання із застосування методів «зеленої» хімії. Показана перспективність використання бактерій, як своєрідних «біофабрик» із синтезу наночастинок металів та есенціальних елементів. Величезний масив наукових досліджень свідчить, що на сьогодні наночастинок характеризуються широким спектром застосування, зокрема у техніці, біології, медицині, сільському господарстві, харчовій промисловості тощо. Доведено, що наночастинок проявляють високу біологічну активність, що обумовлено низкою факторів, які необхідно враховувати з метою цілеспрямованого на них впливу. Методи екодружнього синтезу повинні бути спрямовані на створення передбачуваних, стандартизованих систем. При цьому зразки біогенних наночастинок стануть більш однорідними та відтворюваними, отже, ризики для навколишнього середовища та здоров'я будуть мінімізовані. Багатограними залишаються аспекти взаємодії наночастинок та біологічних молекул, зокрема з білками, вуглеводами та ліпідами. З метою більш практичного використання наночастинок у біології та медицині необхідно акцентувати увагу на їх метаболізм у організмі людини та тварин [273]. Перспективним залишається вивчення можливості синтезу наночастинок різних елементів одним видом бактерій, що ставить низку нових запитань та завдань.

У дослідженнях напрямку синтезу та застосування наночастинок необхідно застосовувати комплексний, безпечний та відповідальний підхід щодо оцінки можливих медико-санітарних й екологічних ризиків, що є основою політики Європейського Союзу в галузі нанотехнологій [501].

## 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Матеріал досліджень

Передували роботі теоретичні дослідження, які включають обґрунтування доцільності, екологічний та економічний аналіз, патентний пошук, галузі застосування та вивчення світових аналогів (рис. 2.1).

Експериментальна частина, апробація та виробничі перевірки результатів досліджень виконані на штаммах культур *B. subtilis* та *L. plantarum*, наданих із колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного, білих щурах, мишах, курчатах-бройлерах кросу Ross 308, курях-несучках кросу Lohmann Brown та перепелах породи Фараон. Дослідження проводились впродовж 2015–2020 рр у лабораторіях НДІ екології та біотехнології Білоцерківського національного аграрного університету (БНАУ), міжфакультетській науково-дослідної лабораторії біо- і гістохімічних методів досліджень БНАУ, відділі проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Державному науково-дослідному контрольному інституті ветеринарних препаратів і кормових добавок, Київському обласному науково-виробничому центрі стандартизації, метрології та сертифікації. Результати досліджень та наукові розробки авторки пройшли виробничу апробацію та впроваджені у виробництво у НВЦ БНАУ та птахогосподарствах Київської області.

Застосовувалися лабораторно-технологічні дослідження, що об'єднують біотехнологію одержання та застосування наночастинок Селену із класу металоїдів, та використання наночастинок діоксиду церію, як представника наночастинок металів та їх оксидів. При цьому використаний фізико-хімічний аналіз, проведена оцінка стабільності препаратів, досліджувалася гостра та хронічна токсичність на лабораторних тваринах. Характеристики нанопрепаратів проводили за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) та були отримані УФ-спектри.

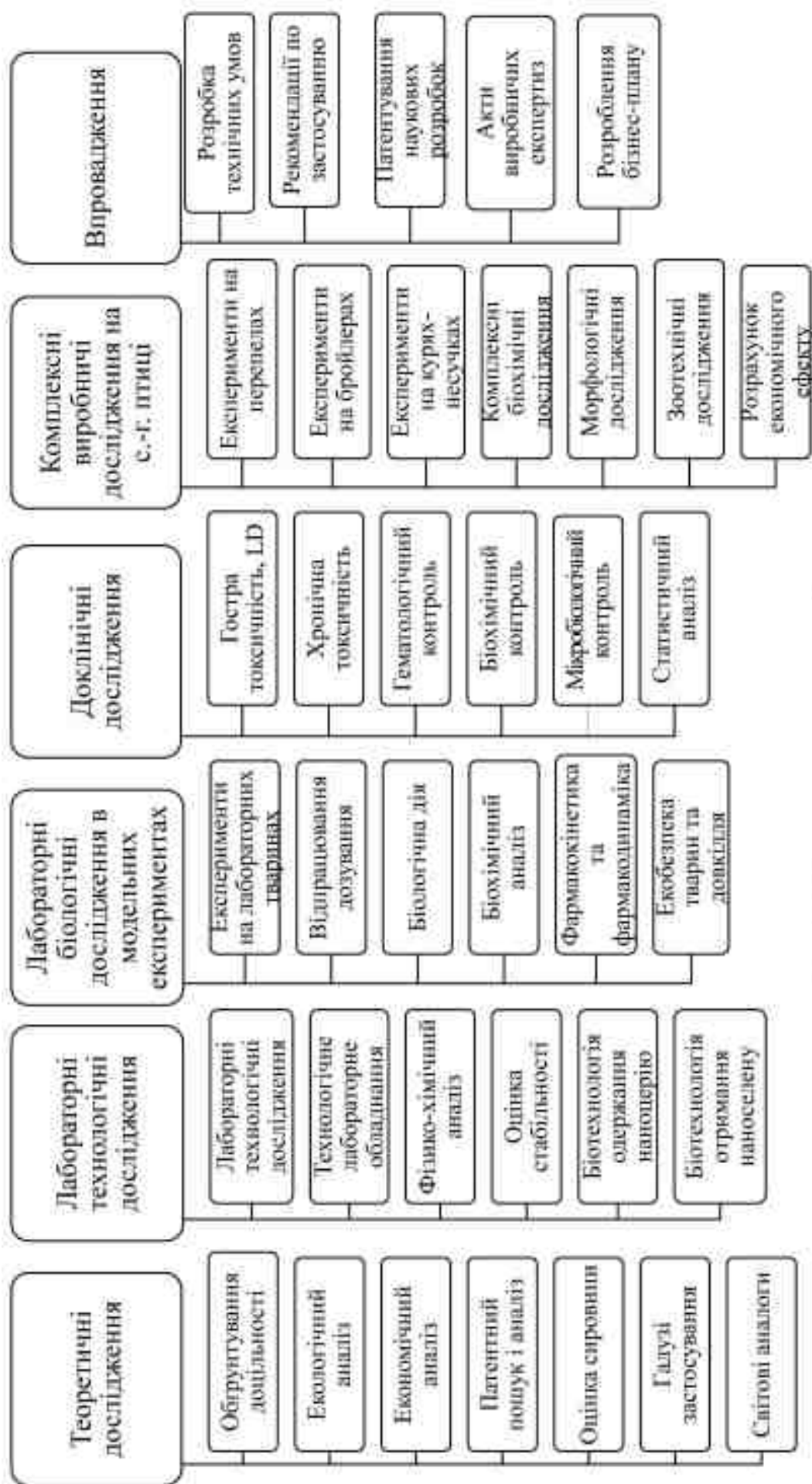


Рис. 2.1. Загальна схема досліджень

Токсикологічні дослідження препаратів на тваринах виконували відповідно до методичних рекомендацій “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” [46], розроблених Державним науково-дослідним контрольним інститутом ветеринарних препаратів та кормових добавок. Для визначення стабільності препаратів використовували модифікований прискорений ізотермічний метод.

Параметри *гострої токсичності* селеніту натрію з пробіотиком та біонаноселену досліджували на білих мишах 2–3-місячного віку, масою 19–22 г та білих щурах, віком 2–3 місяці, масою 180–200 г. Досліджувані кормові добавки вводили внутрішньошлунково, одноразово.

Для встановлення токсичності кормову добавку “Нано” для білих мишей та щурів було взято дози 1000, 3000 та 5000 мг/кг маси тіла тварини. На кожну дозу було використано по 6 лабораторних тварин. Дозу 5000 мг/кг маси тіла тварини було введено повторно на подвійній кількості тварин.

Після введення досліджуваної кормової добавки “Нано”, спостереження за лабораторними тваринами вели впродовж 14 діб. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання.

При вивченні *підгострої токсичності* керувалися результатами, отриманими під час проведення гострої токсичності. Досліджувану кормову добавку “Нано” вводили внутрішньошлунково, щоденно упродовж 30 днів. Упродовж дослідження проводили спостереження за клінічним станом та поведінкою тварин. Підгостру токсичність вивчали на 24 білих щурах масою 200–220 г. З цією метою за принципом аналогів було сформовано контрольну та три дослідні групи тварин, по 6 щурів у кожній. Тваринам контрольної групи вводили питну воду. Тваринам I дослідної групи кормову добавку біонаноселену вводили у терапевтичній дозі – 0,05 г/кг маси тіла, II дослідної групи – п'ятикратну терапевтичну – 0,25 г/кг, III дослідної групи – десятикратну

терапевтичну 0,5 г/кг маси тіла. У підгострому досліді препарат вводили щурам впродовж 30 діб. На наступну добу після закінчення введення, лабораторних тварин за легкого ефірного наркозу декапітували, відбирали проби крові, проводили гематологічні і біохімічні дослідження за загальновизнаними методиками та розтинали і визначали коефіцієнти маси органів, порівняно з контрольною групою.

Для гематологічних досліджень використовували кров стабілізовану ЕДТА, а для біохімічних досліджень – сироватку крові. В стабілізованій крові визначали: вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, гематокрит, кількість лейкоцитів, МСН, MCV, MCHC – за допомогою гематологічного аналізатора Mythic-18. У сироватці крові визначали: загальний білок, активність ферментів (АлАТ, АсАТ, ЛДГ), вміст загального білірубіну, креатиніну, сечовини, загального холестеролу за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора HumaLyzer 3000 з використанням стандартних наборів фірми Human.

У подальшому були проведені комплексні виробничі дослідження на сільськогосподарській птиці (перепела, курчата-бройлери, курі-несучки). Дослідження склалися із декількох серій. Під час проведення досліджень дотримувалися загальних принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно положення “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей” (Страсбург, 1986), “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Україна, 2001) та “Етичного комітету Білоцерківського національного аграрного університету з питань поводження із тваринами у наукових дослідженнях та науковому процесі” (№ 6 від 22.05.2018).

У разі вивчення біологічної дії різних форм Селену у добовому віці було відібрано 240 перепелят породи Фараон і за методом аналогів сформовано 4 групи – контрольну і три дослідні по 60 голів у кожній (табл. 2.1). Експериментальні дослідження проведені в умовах віварію Білоцерківського національного аграрного університету. Умови утримання перепелів були однаковими і відповідали зоотехнічним нормам. Перепелів утримували у

клітках з локальною системою обігріву, згодовували комбікорм за рецептами згідно віку (Додаток Е). Птиця контрольної групи (1 група) отримувала повноцінний комбікорм. До комбікорму дослідних груп птиці шляхом багатоступеневого змішування додавали пробіотик (*L. plantarum*) (2 група), селеніт натрію (3 група) та біогенний наноселен (4 група). Дозування пробіотику та препаратів Селену відповідають встановленим ефективним кількостям за попередніми науковими дослідженнями [645] і становило  $10^8$  КУО/см<sup>3</sup> та 0,3 мг/кг корму. Пробіотик та біогенний наноселен були синтезовані спільно із науковцями відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України.

Таблиця 2.1

#### Схема науково-господарського досліду

Група	Кількість птиці	Особливості годівлі молодняку перепелів у період 1–35 діб
1 – контрольна	60	ОР (основний раціон)
2 – дослідна	60	ОР + 0,3 мг/кг Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>
3 – дослідна	60	ОР + 0,3 мг/кг Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> + Пробіотик ( $2,5 \times 10^6$ КУО на голову/добу)
4 – дослідна	60	ОР + 0,3 мг (SeNPs)/ кг корму + Пробіотик ( $2,5 \times 10^6$ КУО на голову/добу)

Аналізували масу тіла птиці, споживання корму, збереженість поголів'я, обраховували прирости маси та витрати корму на 1 кг приросту.

Після лабораторно-експериментальних досліджень проводилася виробнича перевірка на базі ННДЦ Білоцерківського національного аграрного університету та ПП «Вілія» Білоцерківського району Київської області. Під час проведення досліду вивчали вплив добавки наночастинок у комбікормі на якість м'яса та інтенсивність росту, збереженість поголів'я. З цією метою добових перепелят розділили у дві групи по 200 голів у кожній. Птиця першої групи слугувала контролем, згодовували основний комбікорм. Птиці 2-ї групи до комбікорму додавали наночастинки Селену. Якість м'яса визначали за

поживністю та токсичністю. Щотижня проводили зважування 15 голів перепелів з кожної групи та контроль за збереженістю поголів'я.

Синтез нанодисперсного діоксиду церію був виконаний у відділі проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. У разі вивчення дії на організм нанодисперсного діоксиду церію в умовах навчального науково-дослідного центру БНАУ було сформовано 3 групи курчат-бройлерів кросу Ross 308 – контрольна та 2 дослідні по 100 голів у кожній. Бройлери утримувались у кліткових батареях БКН-3 при вільному доступу до корму і води. Основні параметри мікроклімату відповідали зоотехнічним нормам. Визначення живої маси бройлерів проводилось щотижня індивідуальним зважуванням. Впродовж 58 днів дослідним групам додавали препарат нанодисперсного діоксиду церію перорально з питною водою у дозі 8,6 мг/дм<sup>3</sup> впродовж перших 14 днів, після 7-ми (2 група Наноцерій) та 14-ти (3 група Наноцерій) денної перерви курс повторювали (табл. 2.2).

За аналогічною схемою проводилося дослідження впливу нанодисперсного діоксиду церію на курей-несучок. З цією метою було сформовано три групи курей кросу Lohmann Brown. Вік птиці на початку досліду складав 26 тижнів. Формування груп проводилось по методу груп-аналогів. Впродовж 22 тижнів дослідну групу періодично випоювали препаратом 0,05 мМ розчином нанодисперсного діоксиду церію за аналогічною схемою.

Таблиця 2.2

**Схема науково-господарського досліду по вивченню впливу  
нанодисперсного діоксиду церію на курей**

Група	Кількість птиці	Схема годівлі	Доза, інтервал
1 група Контрольна	100	ОР (основний раціон)	–
2 група Наноцерій	100	ОР + нанодисперсний діоксид церію	0,05 мМ р-н із 7-денною перервою
3 група Наноцерій	100	ОР + нанодисперсний діоксид церію	0,05 мМ р-н із 14-денною перервою



Для досліджень біологічний матеріал відбирали від 5-ти голів птиці в один час для виключення добових коливань фізіолого-біохімічних параметрів.

## 2.2. Методи досліджень

Експериментальна частина, апробація та виробничі перевірки результатів досліджень виконані на 120 лабораторних білих мишах, 660 перепелах породи Фараон, 488 курчатах-бройлерах кросу Ross 308 та 932 курях-несучок кросу Lohmann Brown впродовж 2010–2020 рр. Дослідження проводились у лабораторіях НДІ екології та біотехнології у тваринництві та лабораторії біо- та гістохімічних методів дослідження Білоцерківського національного аграрного університету (БНАУ). Токсикологічні дослідження препаратів виконувались на науковій базі віварію сертифікованої лабораторії фармакології та токсикології, занесеної у Реєстр системи сертифікації УкрСЕПРО Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок (ДНДКІВПКД) м. Львів. Хроматографічні дослідження виконані на базі Київського обласного науково-виробничого центру стандартизації, метрології та сертифікації. Ветеринарно-санітарну якість зразків м'яса визначали в лабораторії кафедри ветсанекспертизи і патанатомії БНАУ та у Білоцерківській державній міській лабораторії ветеринарної медицини № 3. Одержання біогенного наноселену за участі бактерій проводилося спільно з канд. біол. наук Н.О. Тимошок (Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного). Наночастинки діоксиду церію були створені та надані для випробування відділом проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного (зав. відділом докт. біол. наук, член-кор. НАН України М.Я. Співак). Автор висловлює щиру подяку колегам за надання консультаційної допомоги та підтримку.

**Штами і умови росту бактерій.** *B. subtilis* IMV B-7392 зберігається в колекції Інституту мікробіології та вірусології НАН України ім. Заболотного. У роботі використовували добові культури *B. subtilis* IMV B-7392 у дозах (102–

108 клітин/мл), використовуючи стандарти оптичної щільності. Культуру *B. subtilis* IMV B-7392 вирощували на м'ясо-пептоновому агарі (МПА, МРА) за наявності та відсутності нано-Se ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) аеробно при струшуванні зі швидкістю перемішування 240 об/хв при температурі 30 °С впродовж 48 годин з подальшим центрифугуванням при 6000 об/хв впродовж 10 хв. Для тривалого зберігання проводили ліофілізацію біомаси культури *B. subtilis* з контролем бактеріальної чистоти препаратів. Кількість життєздатних клітин, отриманих під час ліофілізації біомаси за наявності та відсутності нано-Se ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) або  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (0,01 мг/мл) з кріопротектором, становить  $(1,2 \pm 0,02) \times 10^{10}$  клітин/мл).

Визначення здатності Nano-Se посилювати продукцію метаболітів проводили в 0,15 М NaCl шляхом впливу на добові культури *B. subtilis* ( $10^2$  клітини/мл) за наявності та відсутності Nano-Se  $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл (37 °С впродовж 24 годин). Отриманий Nano-Se та супернатанти вміст білка екзометаболітів *B. subtilis* спостерігали шляхом вимірювання УФ-видимого спектру за допомогою спектрофотометра "Specord" за допомогою кварцової кювети (довжина 1 см).

У супернатантах вміст білка екзометаболітів визначали шляхом вимірювання поглинання за  $\lambda = 235$  та  $\lambda = 280$  нм за формулою:

$$C = (A_{235} - A_{280}) : 2,51, \text{ де,}$$

C – концентрація білка (мг/мл); A – максимум поглинання при  $\lambda_1$  та  $\lambda_2$ ; 2,51 – коефіцієнт, що виражає середнє відношення коефіцієнта вимірювання (E) при  $\lambda_{235}$  та  $\lambda_{280}$  нм.

Спектрофотометричний аналіз дає змогу визначити кількість білковомісних речовин шляхом поглинання в ультрафіолетовій ділянці спектру.

**Трансмійна електронна мікроскопія (ТЕМ).** ТЕМ проводилася з метою характеристики Nano-Se, дослідження їх розміру та форми. Водний розчин цитрату селену Nano-Se (ТУ U 15.8-35291116-008: 2009) був отриманий шляхом абляції гранул Селену та поставлений ТОВ "Наноматеріали та нанотехнології" м. Києва [45], концентрація 0,2 мг/мл. Суспензію Nano-Se (0,02 мг/мл) наносили на мідні сітки ТЕМ (трансмійний електронний мікроскоп) з

покриттям вуглецю і сушили на повітрі. Розмір частинок вимірювали вручну.

Підготовка *B. subtilis* до TEM. Клітини *B. subtilis* IMV B-7392 вирощували щоденним перенесенням у МПА, інкубували при 37 °С, клітини брали за допомогою стерильної петлі для інокуляції та проводили у стерильному 0,15 М розчині NaCl. *B. subtilis* в дозах  $10^9$  клітин/мл витримували в 0,15 М NaCl впродовж 30 хвилин, за відсутності та присутності Nano-Se ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) кожен зразок наносили на сітки та сушили. Аналізи TEM були проведені для підтвердження поглинання Nano-Se за допомогою *B. subtilis* IMV B-7392 та візуалізації ефектів Nano-Se на морфологію цих бацил за допомогою електронного мікроскопа TEM-1400 (Японія).

**УФ-VIS вимірювання** Nano-Se проводили на спектрофотометрі "Specord" з використанням кюветів з товщиною оптичного шляху 1 см. Всі вимірювання поглинання проводили за температури 20–25 °С.

**Елементний аналіз.** По завершенні випоювання наноцерію у зібраних яйцях і тканинах внутрішніх органів курей-несучок був проведений елементний аналіз з метою визначення вмісту Се. Внутрішні органи відбирали одразу після декапітації птиці. Вимірювання проводили на атомно-емісійному спектрофотометрі Shimadzu ICPE-900 з аксіомним оглядом плазми. Досліджувані зразки масою від 0,5 до 2 г мінералізували у концентрованій  $\text{HNO}_3$  за допомогою системи мікрохвильового розкладу Mars 5 (200 °С, 20 хв). Дослідження проведені у ТОВ "НаноМедТех".

#### ***Гематологічні методи досліджень.***

Матеріалом для досліджень слугувала стабілізована гепарином кров, плазма, еритроцити, лімфоцити та сироватка крові.

Лімфоцити виділяли зі стабілізованої крові у градієнті фікол-верографіну з відносною густиною 1,077. Градієнт густини фікол-верографіну готували шляхом додавання 9 % розчину фіколу «Pharmacia» (Швеція) до 34 % розчину верографіну «Спофа» (Чехія). Для одержання сироватки кров без антикоагулянта інкубували у термостаті при температурі 37 °С.

**Визначення кількості лейкоцитів та співвідношення окремих їх видів.** Кількість лейкоцитів у крові підраховували з використанням реактиву Тюрка на сітці лічильної камери Горяєва [18]. Співвідношення окремих видів лейкоцитів визначали методом диференційного підрахунку шляхом візуальної мікроскопії під імерсійною системою фіксованих метанолом мазків, пофарбованих за Романовським-Гімза.

**Визначення кількості еритроцитів.** Кількість еритроцитів підраховували у камері Горяєва загальноприйнятим методом [18].

**Визначення колірного показника** проводили загальноприйнятим методом [18].

**Визначення фагоцитарної активності псевдоеозинофілів крові** здійснювали методом описаним у довіднику [18].

Кров і печінку відбирали зразу після декапітації під легким ефірним наркозом. Тканину подрібнювали в гомогенаторі Поттера-Ельвегейма з тефлоновим товкачиком. До 100 мг гомогенату печінки додавали 6 мл фізіологічного розчину. Отриману фракцію гомогенату центрифугували (3000 об/хв). З метою дослідження інтенсивності процесів ліпопероксидації у гомогенатах печінки визначали вміст загальних ліпідів, продуктів ПОЛ (ДК, ГПЛ, ТБК-активних продуктів), ЦП, GSH, SH-груп білка, каротину, вітамінів А та Е, активність ферментів антиоксидантної системи (СОД, КАТ, ГПО, ГР).

**Вміст ТБК-активних продуктів** визначали за його здатністю при високій температурі в кислому середовищі реагувати з тіобарітуровою кислотою, утворюючи при цьому триметиновий комплекс [68]. Вміст ТБК-активних продуктів виражали у мкмоль/г.

**Супероксиддисмутазну активність (СОД, КФ 1.15.1.1)** визначали за методикою [109], що ґрунтується на здатності СОД конкурувати з нітросинім тетразолам (НСТ) за супероксидні аніони, які утворюються в результаті аеробного взаємозв'язку відновленої форми  $\text{NAD}\cdot\text{H}^+$  і феназинметасульфату. В результаті НСТ відновлюється з утворенням гідразинтетразолію. Активність СОД виражали в ум.од./г.

**Каталазну активність** (КАТ, КФ 1.11.1.6) визначали спектрофотометричним методом за здатністю  $H_2O_2$  утворювати стійкий забарвлений комплекс із солями молібдену [43] та виражали в мккат/г.

**Вміст відновленого глутатіону.** Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за методом, що базується на здатності GSH при взаємодії з реактивом Еллмана (5,5-дітіобіс-2-нітробензойна кислота) утворювати сполуки (2-нітро-6-меркаптобензойна кислота) жовтого кольору, інтенсивність забарвлення яких пропорційна вмісту GSH і виражали в ммоль/г. Калібрувальний графік будували з використанням розчину відновленого глутатіону [21].

**Глутатіонпероксидазну активність** (ГПО, КФ 1.11.1.9) визначали за швидкістю окиснення відновленого глутатіону в присутності гідропероксиду третинного бутилу [57] і виражали у мкмоль/хв×мг білка.

**Глутатіонредуктазну активність** (ГР, КФ 1.6.4.2) визначали спектрофотометричним методом [117], в якому мірою активності ферменту є швидкість окиснення  $NADP \cdot H^+ + H^+$ , що реєструється за зменшенням поглинання відновленої форми  $NADP \cdot H^+$  при  $\lambda=340$  нм.

**Трансаміназну активність** (АсАТ, КФ 2.6.1.1 та АлАТ, КФ 2.6.1.2) визначали з використанням наборів реактивів “Аспартатамінотрансфераза” та “Аланінамінотрансфераза” [505].

**Лужнофосфатазна активність** (ЛФ, КФ 3.1.3.1) визначалась за методом [345], який базується на здатності фенолу утворювати із 4-амінофеназоном за наявності періодату натрію червоне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна активності ферменту.

**Вміст HS-груп білка.** Вміст HS-груп білка визначали за методом Вережкина [68] і виражали мкмоль SH-груп/ $10^5$  г білка. Даний метод оснований на взаємодії 5,5-дітіобіс-2-нітробензойної кислоти з вільними SH-групами білків з утворенням тіонітрофенольного аніону.

**Вміст загального білка** визначали за методом Lowry [403]. Принцип методу базується на здатності білків у лужному середовищі реагувати з

сульфатом купруму та з реактивом Фоліна, що значно підвищує чутливість визначення. Калібрувальний графік будували використовуючи розчин кристалічного альбуміну.

**Вміст альбуміну** визначали за методом [36], принцип якого полягає у взаємодії альбуміну із бромкрезоловим зеленим у слабо кислому середовищі за присутності детергенту з утворенням забарвленого комплексу зеленого кольору. Інтенсивність забарвлення розчину прямо пропорційна вмісту альбуміну.

**Вміст креатиніну** визначали за методикою [5], принцип якої полягає у тому, що креатинін реагує із пікриновою кислотою в лужному середовищі із утворенням забарвлених сполук. Калібрувальний графік будували, використовуючи стандартні розчини креатиніну, концентрація яких становила 50–300 мкмоль/л.

**Визначення вмісту білірубіну** ґрунтується на взаємодії сульфанілової кислоти з азотнокислим натрієм з утворенням діазофенілсульфонової кислоти, яка реагує зі зв'язаним білірубіном сироватки з утворенням рожево-фіолетового забарвлення [36]. По інтенсивності забарвлення фотометрично визначають концентрацію загального білірубіну. По різниці між вмістом загального і зв'язаного білірубіну знаходять кількість вільного.

**Вміст сечової кислоти** визначали методом, описаним Меньшиковим [55]. Принцип методу полягає у здатності реагувати із фосфорно-вольфрамовим реактивом, у результаті взаємодії утворюється блакитне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації сечової кислоти. Фотометрія проводилася за довжини хвилі 600 нм.

**Концентрацію глюкози** визначали глюкозооксидазним методом [36], принцип якого полягає у здатності глюкози за дії глюкозооксидази окиснюватись до глюконової кислоти та пероксиду гідрогену. Останній під дією пероксидази реагує з фенолом і амінофеназоном з утворенням забарвленого хіноніліну, який визначають спектрофотометрично за  $\lambda = 610$  нм.

**Вміст кальцію** визначався за методикою [36], що обумовлена взаємодією

гліюксаль-біс-(2-гідроксианіл) з іонами кальцію в лужному середовищі з утворенням комплексу червоного кольору, інтенсивність забарвлення якого визначають фотометрично.

**Вміст неорганічного фосфору** визначався за методикою, описаною Розенберг & Бялко [64]. Неорганічний фосфор, що міститься у безбілковому центрифугаті, здатний реагувати із молібденовою кислотою з утворенням фосфорно-молібденової кислоти. Остання відновлюється аскорбіновою кислотою до синього фосфорно-молібденового комплексу. Калібрувальний графік будували по показникам екстинкції стандартного розчину фосфату різного розведення (0,01–0,05 мг/пробу). Інтенсивність забарвлення корелює із концентрацією неорганічного фосфору.

**Вміст загальних ліпідів (ЗЛ)** визначали за кількістю продуктів розпаду ліпідів після гідролізу сульфатною кислотою, які взаємодіють із фосфорнованіловим реактивом з утворенням зафарбованого у рожевий колір комплексу з максимумом поглинання за  $\lambda=530$  нм, з використанням діагностичних наборів [39].

**Вміст холестеролу** (загальний, вільний, зв'язаний) визначали за класичною методикою [36]. Холестерол за наявності оцтового ангідриду, суміші ацетатної і сульфатної кислот утворює зелене забарвлення, інтенсивність якого пропорційна вмісту холестеролу.

**Вміст тригліцеролів** визначали методом хроматографічного аналізу [63].

**Жирнокислотний склад ліпідів.** Екстракцію ліпідів із плазми крові проводили хлороформ-метанольною сумішшю у об'ємному співвідношенні 2:1 [64; 455]. Розділення ліпідів на фракції проводили на тонкошарових силікагелевих пластинках у системі розчинників гексан : діетиловий етер : льодяна ацетатна кислота (85 : 15 : 1). Проявлення окремих фракцій ліпідів на обох пластинках проводили в парах йоду. Виділені ліпідні фракції з першої пластинки знімали та після додавання до них розчину біхромату калію колориметрували, а з другої – переетерифіковували. Ідентифікацію ліпідних фракцій на пластинках проводили з використанням стандартних ліпідів із

ступенем очистки ХЧ. За результатами тонкошарової хроматографії здійснювали розрахунок вмісту окремих класів ліпідів першої пластинки за формулою з поправковими коефіцієнтами для кожної досліджуваної фракції. Ці коефіцієнти вираховувалися як відношення екстинції неетерифікованої форми холестеролу (внутрішня норма) та екстинції досліджуваних фракцій ліпідів. Переетерифікацію ліпідів із другої пластинки проводили шляхом їх розчинення в гексані. В подальшому, до одержаного гексанового розчину ліпідів у пробірці додавали 5 %-й розчин метилату натрію в метанолі та струшували впродовж 3–4 хвилин. Після розшарування вмісту пробірки, автоматичною піпеткою відбирали верхній шар, концентрували та вводили у випаровувач газорідного хроматографічного апарату, що має селективну до довголанцюгових жирних кислот колонку. Для досліджень метилових ефірів жирних кислот використано газорідний хроматограф (Chrom-5, Praha) зі сталюю колонкою 3700×3 мм. Колонку заповнювали Chromaton-N-AW із зернистістю 0,12–0,14 мм, силанізованим гексаметилдисилізаном і покритим полідіетиленглікольадипінатом у кількості 10 %. Ідентифікацію піків на хроматографі проводили методом розрахунку «вуглецевих чисел», а також використанням хімічно чистих, стандартних гексанових розчинів метилових ефірів жирних кислот. Розрахунок вмісту окремих жирних кислот за результатами газохроматографічного аналізу проводили за формулою, яка включає в себе поправкові коефіцієнти для кожної досліджуваної жирної кислоти [63]. Ці коефіцієнти знаходили як відношення площі піків гептадеканової (внутрішній стандарт) та досліджуваної жирної кислоти за концентрації 1 : 1 в ізотермічному режимі роботи хроматографа.

**Біологічну цінність та токсичність м'яса перепелів** проводили в науково-дослідній лабораторії „Ветеринарно-санітарна експертиза продуктів тваринництва” експрес-методом на тест-культурі *Tetrahymena Piriformis*, лабораторний штам WH-14. Дана тест-культура реагує на дію хімічних і біологічних факторів адекватно вищим тваринам, що дає змогу швидко отримувати вірогідну інформацію. Оцінку токсичності проводили експрес методом, шляхом виявлення загиблих інфузорій чи змінених форм, за



рухливістю та пригніченням росту інфузорій *Tetrachimena Piriformis* [112]. Критерієм відносної біологічної цінності слугувала кількість клітин інфузорій, виражена у відсотках, що виростили за три доби на досліджуваному об'єкті по відношенню до клітин у контрольному продукті [112].

**Морфометричні та гістологічні** дослідження зразків тканин проводили після фіксації у 10 % розчині формаліну та обробляли в подальшому за традиційними гістологічними методами для виготовлення цілодінових зрізів [40].

**Варіаційно-статистичне опрацювання** даних здійснювали з використанням програми Microsoft Excel за створеними нами формулами. Визначали такі показники, як середнє арифметичне значення ( $M$ ), стандартну похибку ( $m$ ) та середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ). Достовірність змін встановлювали за  $t$ -критерієм Стьюдента. Критичні рівні достовірності при перевірці статистичних гіпотез у дослідженнях брали рівними 0,95, 0,99 та 0,999. Кількість дослідів ( $n$ ) відповідає кількості осіб, досліджених у кожному випадку.

### 3. ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 3.1. Синтез наночастинок Селену біотехнологічними методами та вивчення їх властивостей

##### 3.1.1. Вибір пробіотику та поживного середовища для його культивування

Об'єктами дослідження були штами бактерій, на основі яких створено збагачені селеном кормові добавки: пробіотичні штами *L. casei* IMB B-7280 та *L. plantarum* IMB B-7679 з колекції пробіотичних культур відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів, які депоновані в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Відбір цих штамів лактобактерій у якості продуцентів біогенного Nano-Se обумовлений їх здатністю перешкоджати розмноженню патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, підвищувати імунорезистентність макроорганізму та належністю до категорії безпечних мікроорганізмів (GRAS). Штам *L. casei* IMB B-7280 виділено з біологічного матеріалу кишківника людини. Штам *L. plantarum* IMB B-7679 був ізольований із кишечника бджіл. Дослідження проводили з використанням ліофілізованих та добових культур бактерій. Перед кожним експериментом їх життєздатність перевіряли шляхом контролю росту на поживному середовищі Man-Rogosa-Sharpe-Agarose (MRSA) за 37 °C продовж 12 год у мікроаерофільних умовах.

*L. plantarum* – це аеротолерантні грам-позитивні бактерії, які ростуть за 15 °C та виробляють обидва ізомери молочної кислоти (D і L). Лактобактерії незвичні тим, що можуть дихати киснем, але не мають дихального ланцюга та цитохромів [171]. Споживаний кисень ці бактерії в кінцевому підсумку перетворюють на пероксид гідрогену. Доведено, що пероксид гідрогену діє як «зброя» для виключення конкуруючих бактерій з джерела їжі та корму. Замість захисного ферменту супероксиддисмутази, який присутній майже у всіх інших киснетійких клітинах, ці мікроорганізми накопичують мілімолярні кількості марганцю поліфосфату. Марганець також використовується *L. plantarum* у

псевдокаталазі для зниження рівня активного кисню. Штам мікроорганізмів *Lactobacillus plantarum* використовують в якості пробіотика, який продукує поліаміни, монооксид азоту і антиоксидантні сполуки, покращує бар'єрну функцію кишечника, імунітет слизової кишечника і клітинний імунітет та індукує прозапальні цитокіни [173; 646]. Лактобацили ефективні у разі зниження стресостійкості та ослаблення імунної системи. У першу чергу, процеси, які при цьому виникають, завдають шкоди кількості захисних клітин (лейкоцити, макрофаги, лімфоцити, тромбоцити), що циркулюють в організмі, і знижують активність фагоцитів та захисну функцію слизової оболонки [240].

Проникність кишкового слизу часто підвищується на тлі хронічного запалення. Зазначений стан є основою для генералізації кишкової інфекції в результаті аутоалергічних реакцій і транслокації бактерій. Мікробні метаболіти відіграють істотну роль у цілісності слизової, наприклад, коротколанцюгові жирні кислоти (SCFA), які продукують молочнокислі бактерії, зокрема *L. plantarum* у товстій кишці за багатим волокнами кормом, в основному рослинного походження [515]. Бутират, який виробляють бацили, необхідний для посилення бар'єрної функції слизової оболонки [454].

Для посилення бар'єру слизової, окрім коротколанцюгових жирних кислот, необхідні також поліаміни – лінійні насичені сполуки, в яких амінокислоти розташовані уздовж структури. Путресцин, спермидин і спермін відносяться до поліамінів. Поліаміни синтезуються з амінокислот орнітину та аргініну шляхом декарбоксілювання. Путресцин утворюється безпосередньо з орнітину, а аргінін в основному перетворюється в агмантин, який потім перетворюється в путресцин [283]. Діамінооксидази метаболізують путресцин у гамма-бутират, який є молекулою, необхідною для метаболізму нейронів.

Фізіологічна дія поліамінів спрямована на ріст клітин і диференціацію, регулювання імунних клітин і запальної реакції; поліаміни мають антиалергічну дію, стимулюють синтез білка, стабілізують структуру нуклеїнових кислот і контролюють активність ензимів. Поліаміни зменшують утворення виразок кишечника і покращують його слизову оболонку, отже,

знижуючи її проникність для макромолекул.

При пошкодженні клітин епітелію вироблення поліамінів клітинами мікрофлори кишечника вважають одним з компенсаторних механізмів для модифікації імунної відповіді і регуляції апоптозу. Путресцин отримують за допомогою декількох анаеробів, зокрема і лактобацил, які складають основну частину мікрофлори проксимального відділу товстої кишки. Лактобацили синтезують поліаміни шляхом декарбоксилювання амінокислот, особливо при високих значеннях рН вмісту кишечника. Окрім цього, аргінін є джерелом монооксиду азоту (NO); система NOS-NO проявляє захисний механізм проти зумовленого стресом пошкодження слизової кишечника [172].

Посівний матеріал штамів *L. casei* IMB B-7280 та *L. plantarum* IMB B-7679 у всіх дослідженнях отримували на поживному середовищі MRS Broth (Conda), до складу якого входили (г/л): глюкоза – 20,0; екстракт яловичини, 10,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 2,0;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  – 0,05; пептон – 10,0;  $\text{CH}_3\text{COONa}$  – 5,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2; Твін 80 – 1,0; цитрат триамонію – 2,0; дріжджовий екстракт – 4,0. Культивування проводили у колбах Ерленмейєра у динамічному режимі (220 об/хв). Середовища розливали по 200 мл у колби та стерилізували насиченою водяною парою в автоклаві при 1 атм 20 хв. Зберігали в прохолодному місці не більше 2 міс. У ряді дослідів використовували агаризоване середовище MRS, яке отримували шляхом додавання до MRS Broth агар-агару (14,0 г/л) [664].

Цитрат амонію, що входить до складу середовища Агар MRS, за низьких значень рН інгібує більшість мікроорганізмів, допускаючи ріст лактобацил.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  та ацетат натрію – буферні компоненти для підтримки рН. Твін-80 – емульгатор, сульфати марганцю та магнію – джерела іонів та сульфату. Пептон м'ясний та дріжджовий екстракт є джерелами поживних речовин, необхідних для росту мікроорганізмів. Декстроза – ферментований вуглевод, який є джерелом карбону та енергії.

Для відбору пробіотичних мікроорганізмів, здатних до трансформації селеніту натрію та утворення біогенного наноселену (Nano-Se), культури лактобактерій вирощували упродовж двох діб у рідкому середовищі MRS і

висівали суспензію клітин у чашки Петрі з MRSA ( $10^7$  кл/чашку), що містило 0,005–0,01 мг/мл селеніту натрію. Лактобактерії інкубували впродовж двох діб при  $37\text{ }^\circ\text{C}$ , після чого проводили підрахунок колонієутворюючих одиниць (КУО). У роботі використовували добові культури *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 у дозах ( $10^2$ – $10^8$  клітин /  $\text{cm}^3$ ).

Визначення впливу селеніт-іонів на ріст пробіотичних штамів *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 проводили за наявності селенату натрію в кількості 1–10 ppm. Як посівний матеріал використовували культуру, вирощену на MRS з експоненційної фази росту. Внесення посівного матеріалу у разі культивування проводили в кількості 5 % від об'єму середовища. Культивування здійснювали у флаконах об'ємом 500 мл зі 100 мл середовища на качалці (220 об/хв) за  $30\text{ }^\circ\text{C}$  упродовж 120 год.

Контролями росту *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 були їх паралельні посіви на чашки з MRSA. Вплив  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  на ріст бактерій на рідкому середовищі визначали за (ICS, 1998), шляхом висіву аліквот культур, що росли за наявності селеніту або за його відсутності на MRSA, за зниженням КУО при культивуванні в анаеробних умовах  $37\pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$  (5 %  $\text{CO}_2$ ) впродовж 48 год.

Толерантність лактобактерій до впливу селеніт-іонів проводили на рідкому середовищі MRS. Визначали зниженням КУО при висіву аліквот відібраних із зразків культури, що росла за наявності селеніту або за його відсутності. Відновлення селеніт-іонів  $\text{SeO}_3^{2-}$  до  $\text{Se}^0$  визначали за зміною кольору середовища до різних відтінків коричнево-червоного кольору. Утворення Nano-Se спостерігали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (TEM).

Для відділення клітин від культуральної рідини проводили центрифугування вирослої суспензії клітин штамів за 6000 об/хв впродовж 20 хв. Отриманий осад клітин промивали 0,15 М розчином NaCl. Промитий осад клітин досліджували візуально та за допомогою трансмісійної (TEM) та скануючої (SEM) мікроскопії. Відновлення  $\text{SeO}_3^{2-}$  до  $\text{Se}^0$  визначали за зміною кольору середовища до різних відтінків рожево-червоного.

### 3.1.2. Електронно-мікроскопічна характеристика наноселену

Метою роботи було охарактеризувати водний розчин цитрату селену (Nano-Se) та їх взаємодію з *B. subtilis* IMV B-7392 для створення пробіотичних продуктів, що містять наноселен.

За допомогою трансмісійного електронного мікроскопа TEM-1400 (ТЕМ), нами були охарактеризовані нанокарбоксилати селену – SeNPs (рис. 3.1). Результати електронної мікроскопії показали, що SeNPs не агреговані, мають округлу форму та розмір від 4 до 8 нм.

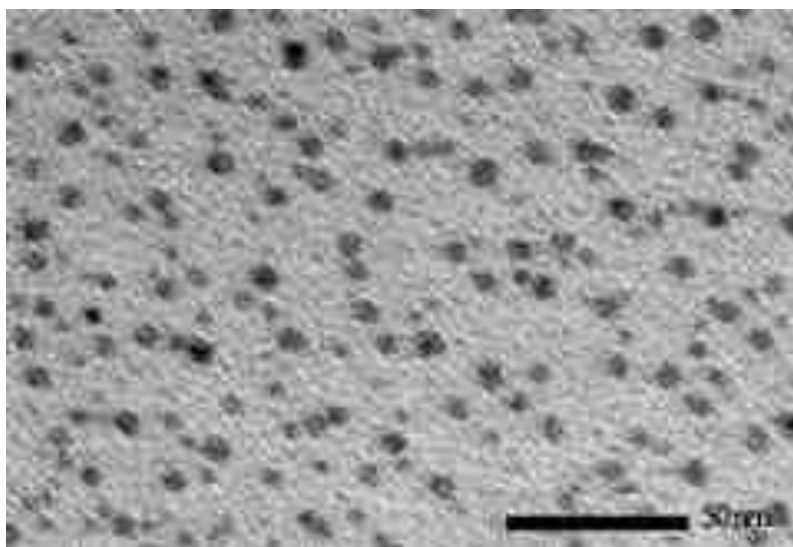


Рис. 3.1. Електронно-мікроскопічне (ТЕМ-1400) зображення наночастинок Селену (SeNPs)

За допомогою спектрофотометричного методу було проведено спектрофотометрію наночастинок Селену. Відповідно до робіт [459], Nano-Se може бути вимірний за допомогою УФ-Vis спектроскопії та обчислення коефіцієнт згасання за законом Бера-Ламберта:  $A = \varepsilon \times c \times L$ , де  $A$  – оптична щільність,  $\varepsilon$  – молярна поглинання розчиненої речовини при заданій довжині хвилі ( $\lambda$ ),  $c$  – молярна концентрація,  $L$  – довжина шляху світла в сантиметрах.

Колоїдний розчин Nano-Se у видимому на УФ спектрі демонстрував максимуми поглинання за 210 нм (рис. 3.2). Пік поглинання за значення 210 нм знаходиться в ультрафіолетовій ділянці ( $\lambda_{\max} = 210$  нм). Ультрафіолетові спектри Nano-Se отримані завдяки властивостям 6 групи елементів таблиці

Менделеева [459]. На основі отриманих спектрів ультрафіолетового випромінювання встановлено, що наночастинки не агрегуються відповідно до розподілу Гаусса; вони мають сферичну форму [543]. Поглинання колоїдного розчину Nano-Se вимірювали через різні проміжки часу.

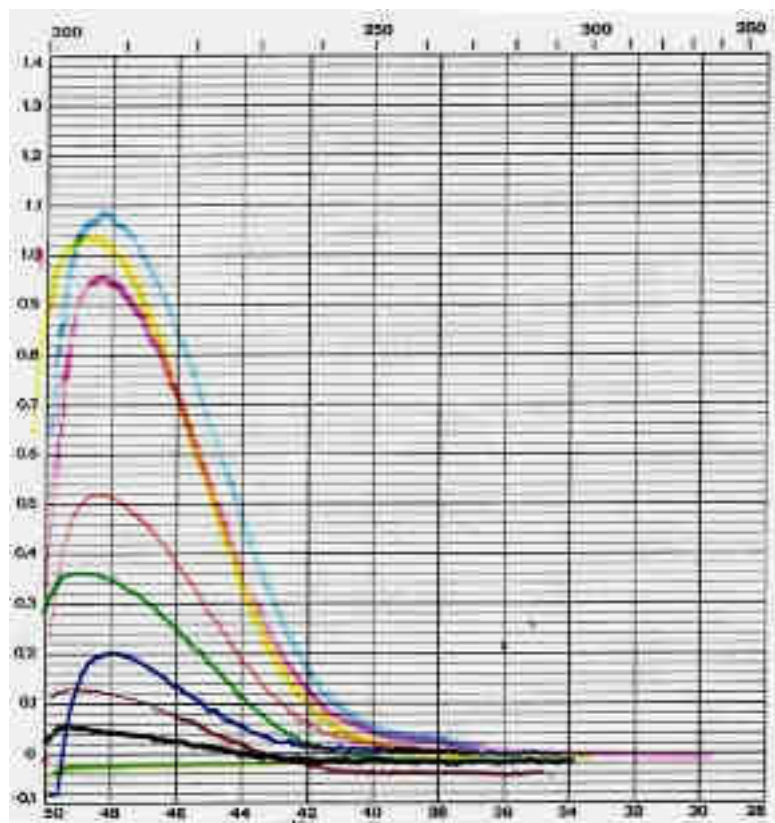


Рис. 3.2. UV-VIS-спектри розведення наночастинок Nano-Se: — 1:10; — 1:15; — 1:20; — 1:25; — 1:35; — 1:40 ; — 1:100; — 1:200; — 1:250.

Інкубація пробіотичної культури *B. subtilis* за присутності SeNPs у 0,15 М NaCl в УФ-ділянці спектру супроводжувалась суттєвим підвищенням накопичення білоквмісних екзометаболітів (рис. 3.3). Для контрольних зразків метаболітів *B. subtilis* за відсутності Nano-Se для визначення накопичення білків екзометаболіту відповідні розведення становили 1:4, тому концентрації становили  $0,14 \pm 0,01$  мг/мл. Одночасно дослідження враховує розведення (1:10) зразків за наявності Nano-Se, що супроводжується накопиченням білкових метаболітів відповідно  $2,62 \pm 0,02$  мг/мл ( $p < 0,05$ ). Тобто, під впливом Nano-Se спостерігається збільшення накопичення вмісту білків *B. subtilis* IMV B-7392 у 18,22 рази. Отже, за спектральними характеристиками ефективні концентрації

Nano-Se збільшували вихід біологічно активних речовин, отриманих *B. subtilis* IMV B-7392.

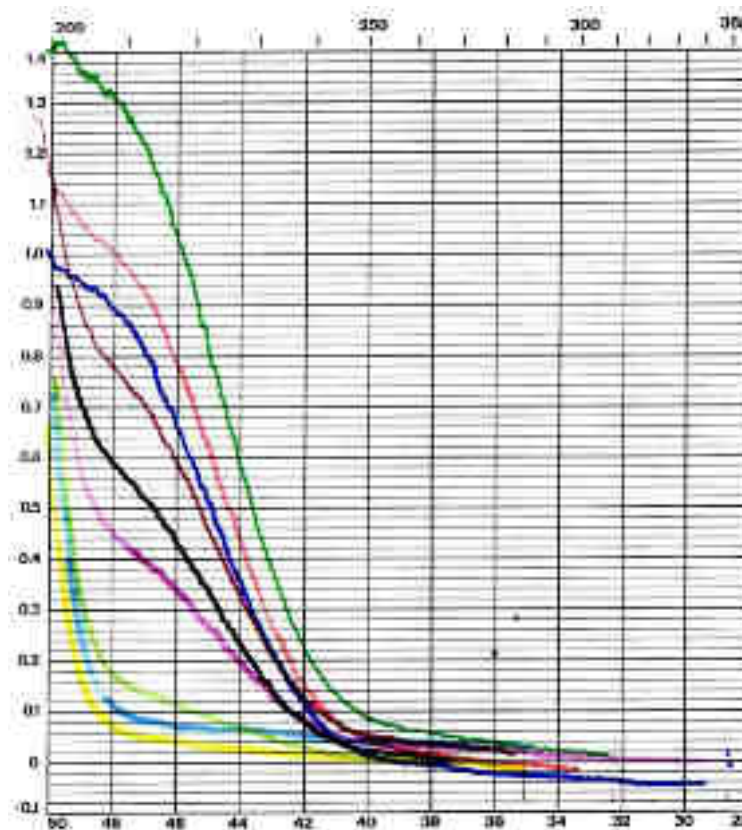


Рис. 3.3. Визначення метаболітів білкових речовин *Bacillus subtilis* IMVB-7393 ( $10^2$  кл/см<sup>3</sup>) в 0.15M NaCl за відсутності та присутності Nano-Se: розведення — 1:4 (контроль); — 1:40; — 1:100; — 1:200; — 1:10; — 1:25; — 1:20; — 1:30.

Важливе значення має оцінка ефективних концентрацій Nano-Se для модулювання ферментативної активності клітин фагоцитів. Система фагоцитів показала здатність наноселену активувати метаболічну активність фагоцитів в оптимальних дозах Нано-Se ( $2 \times 10^{-5}$  мг/мл) [633].

У результаті цього з використанням електронної мікроскопії та спектроскопічного аналізу встановлено, що отримані методом абляції Селену частинки Nano-Se мають розмір від 4 до 8 нм, при УФ-Vis-аналізі не були агреговані, згідно з розподілом Гаусса. Здебільшого наночастинки мають сферичну форму, що характеризує пік за 210 нм ( $\lambda_{\max}=210$  нм). Характеристики цих кривих забезпечують інформацію про кількість наночастинок [462].



Подібні спектри поглинання UV-Vis були отримані Cui et al. (2018) [197]. Автори одержали наночастинки Селену з екстракту плодів глоду методом «зеленого» синтезу та надали інформацію про їх УФ-видиму спектроскопію.

### **3.1.3. Біотехнологія створення кормових добавок на основі *L. plantarum* ІМВ В-7679 з різними носіями Селену**

Для створення кормових добавок на основі *L. plantarum* ІМВ В-7679 для перепелів середовище культивування MRS збагачували різними носіями Селену. Розрахунок концентрацій Se для збагачення культурального середовища MRS проводили, виходячи з норм Європейського агентства з безпеки харчових продуктів (EFSA) [224]. Так, адекватний рівень добавки Se для птахівництва коливається між 0,3–0,5 мг/кг корму [421].

Для забезпечення необхідного рівня Se у кормових добавок *L. plantarum* ІМВ В-7679 з розрахунку на їх внесення у 1 кг корму, до середовища росту *L. plantarum* ІМВ В-7679 було додано різні носії Селену: наноселен, та селеніт натрію у різних дозах перед культивуванням (*L. plantarum* +Se). Збагачення MRS проводили SeNPs, отриманим методом абляції гранул Селену. Виходячи з необхідної концентрації Селену для створення кормових добавок на основі *L. plantarum* ІМВ В-7679 та відомих даних для SeNPs, що отримані методом лазерної абляції гранул Селену, відносно його токсичності на мишах [275].

Перші пілотні дослідження передбачали розрахунки для внесення різних носіїв Se-інокулуму до культури *L. plantarum* ІМВ В-7679 для отримання пробіотичної добавки до 10 кг корму з вмістом Se, що не перевищує 0,30 мг/кг корму. Для цього, проводили розрахунки:

Для створення кормової добавки на основі пробіотичної культури *L. plantarum* ІМВ В-7679 з SeNPs необхідно внести – 0,3 мг Se-інокулуму SeNPs, вихідна концентрація SeNPs (0,2 мг/мл) на 100 мл живильного середовища MRS, потрібно 1,5 мл SeNPs. Збагачення MRS наночастинками SeNPs у концентрації 0,003 мг/мл, в об'ємі 100 мл живильного середовища MRS розраховано на 10 кг корму (вміст Se 0,03 мг/кг корму). Кінцева концентрація Se у кормовій добавці,

на основі бактеріальної суспензії, збагаченої SeNPs складає 0,003 мг Se /мл.

Для створення кормових добавок на основі пробіотичної культури *L. plantarum* ІМВ В-7679 з вмістом селеніту натрію ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) проводили наступні розрахунки. Доза селеніту натрію аналогічна дозі з вмістом 0,3 мг Se-інокулуму з SeNPs та складає 0,3 мг Se на 1 кг корму (або 0,6575 мг селеніту на 100 мл живильного середовища MRS). Тобто 0,003 мг Se на 1 мл живильного середовища MRS, така концентрація є вихідною, для одержання кормової добавки з вмістом 0,3 ppm Se у вигляді селеніту натрію.

У колби асептично вносили по 100 см<sup>3</sup> модельного середовища із вмістом Se-інокулуму та посівної концентрації *L. plantarum* ІМВ В-7679 (рис. 3.4).



Рис. 3.4. Схема біотехнологічного синтезу біоаноселену

Розведення *L. plantarum* ІМВ В-7679 готували у 0,1 % пептонній воді, посівна доза ( $10^8$  КУО/см<sup>3</sup>) у кількості 5 % від об'єму середовища. Культивування здійснювали аеробно при 220 об/хв за температури 30±0,5°C продовж 48 годин. Об'єм інкубаційної проби – 100 см<sup>3</sup>. Після закінчення інкубації з кожної проби та контролю відбирають по 0,1 см<sup>3</sup>, з суспензії та рівномірно засівають на поверхню середовища MRS у чашки Петрі.

Отримані зразки *L. plantarum* ІМВ В-7679, що виростили за наявності різних носіїв Селену та контрольні зразки *L. plantarum* ІМВ В-7679 піддають ліофільній сушці для отримання кормових пробіотичних добавок з різними носіями Селену.

Отримані зразки культури *L. plantarum* ІМВ В-7679, що виростили за наявності різних носіїв Селену та контрольні зразки, заморожували та зберігали за температури  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  продовж 3–4 діб, а потім проводили ліофільне висушування клітин під вакуумом до залишкової вологості 2,5–4,5 %. Якість ліофілізованих селеновмісних кормових добавок оцінювали за показниками виживання *L. plantarum* ІМВ В-7679 у дослідних зразках.

Сушіння *L. plantarum* ІМВ В-7679 здійснювали на сублімаційній сушарці УЗВ-10 за режимів: початкова температура –  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , кінцева –  $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , тиск – не більше 6,65 Па ( $0,679\text{ кгс/м}^2$ ), тривалість сушіння – 30–34 год.

Кількість життєздатних клітин (КУО) до і після ліофілізації визначали методом серійного розведення. Кількість молочнокислих бактерій у 1 г добавки визначали за ГОСТ 10444.11-89 (1990) [62]. З цією метою один грам зразка змішували з 9 мл стерилізованої води і послідовно розводили від  $10^{-1}$  до  $10^{-9}$  у стерилізованій воді. Кількість життєздатних клітин (КУО) підраховували на середовищі MRS, чашки Петрі інкубували при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  впродовж 2 днів.

Для підвищення точності проведення експериментів паралельно для однієї проби висіви проводили в три чашки Петрі і для подальших розрахунків використовували середнє значення кількості мікроорганізмів.

### **3.1.4. Синтез наночастинок Селену пробіотичною культурою**

#### ***B. subtilis* ІМВ В-7392**

Для встановлення взаємодії з пробіотичною культурою *B. subtilis* ІМВ В-7392 були встановлені оптимальні дози Nano-Se для активації фагоцитів. Аналізи TEM були проведені для візуалізації Nano-Se щодо морфології клітин *B. subtilis* ІМВ В-7392 для отримання пробіотиків, збагачених Селеном.

Типові електронні мікрофотографії для *B. subtilis* ІМВ В-7392 без впливу наночастинок показані на рис. 3.5. Встановлено, що клітини *B. subtilis* ІМВ В-

7392 мали форму стрижня, і, завдяки жорсткому захисному ендоспору, електрони були слабо пропущені, що дає змогу припустити, що клітини перебувають у нормальному стані.

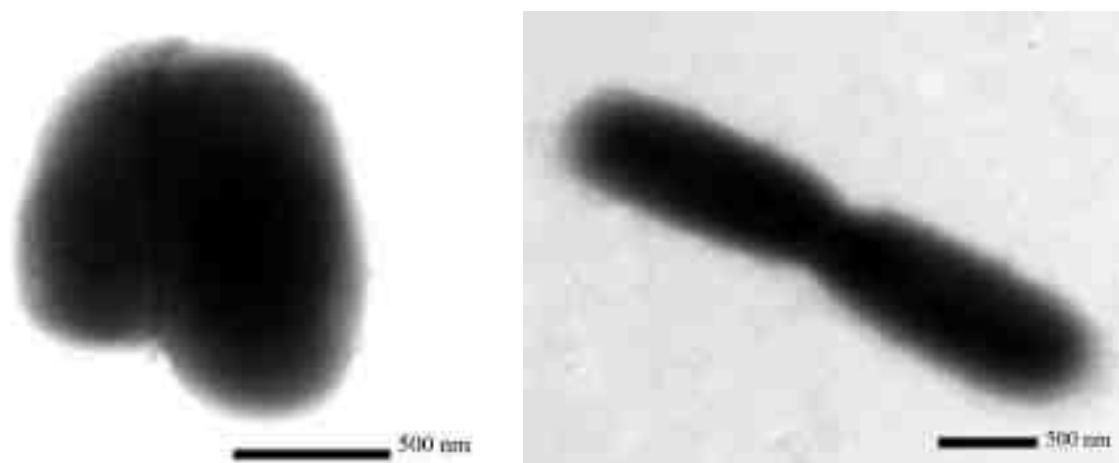
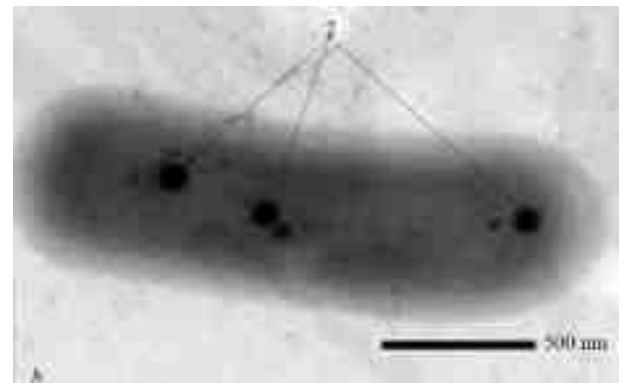
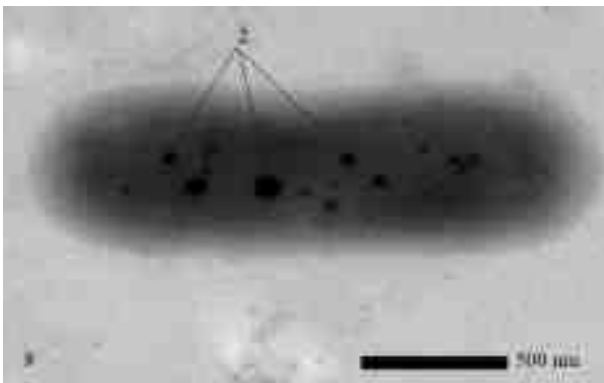
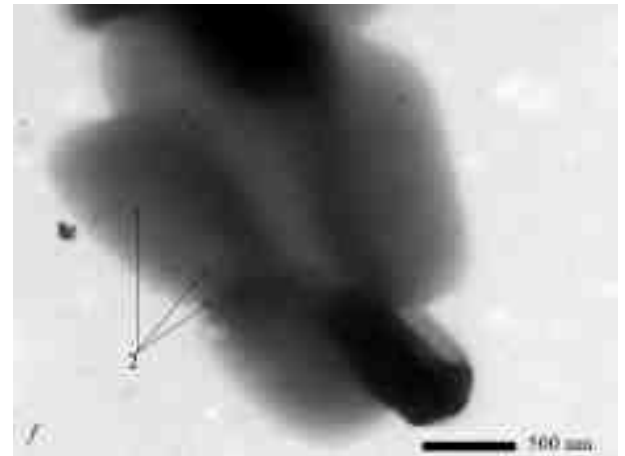
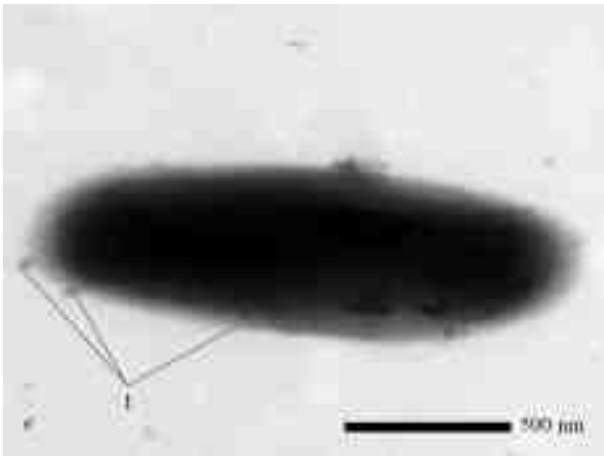
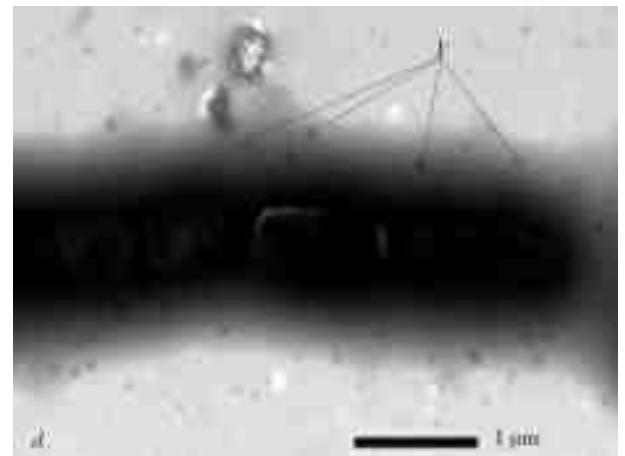
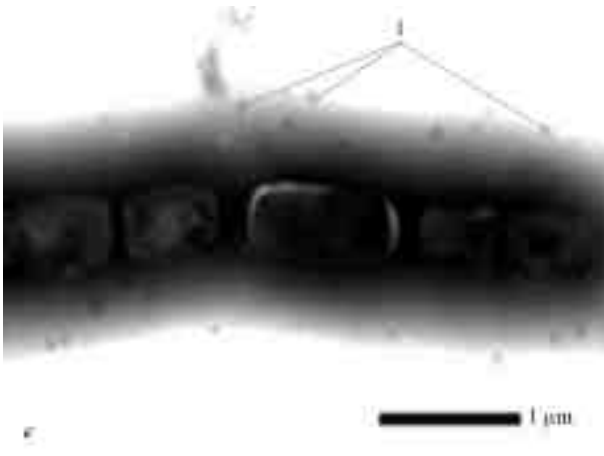
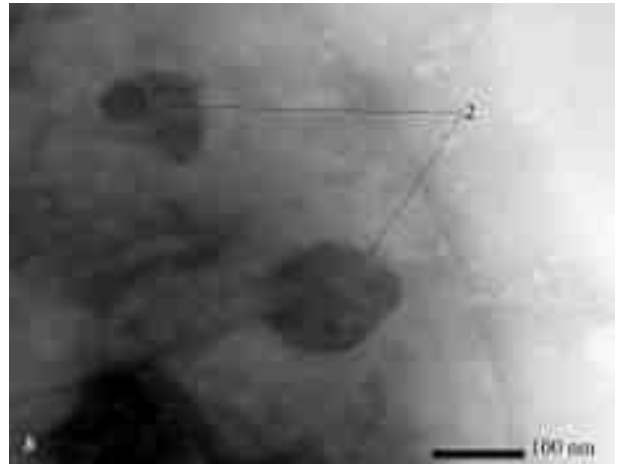
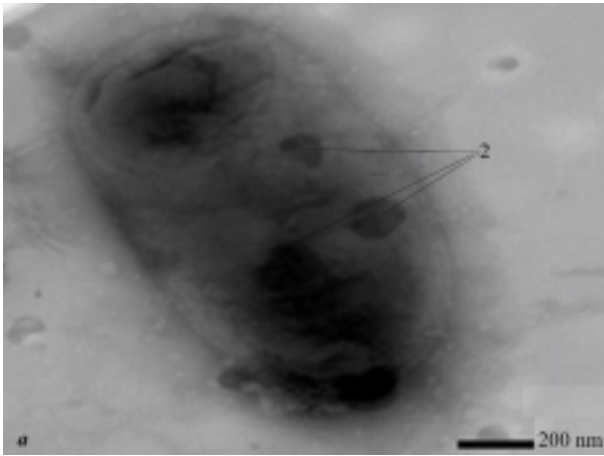


Рис. 3.5. TEM зображення *B. subtilis* IMV B-7392 (управління клітинами)

Водночас введення Nano-Se в кінцевій концентрації  $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл до *B. subtilis* IMV B-7392 при експозиції 15 хвилин супроводжувалося зміною морфології клітин.

Морфологічні зміни *B. subtilis* після додавання Nano-Se. Було показано, що Nano-Se спочатку взаємодіє із зовнішньою мембраною *B. subtilis*, після чого наночастинки потрапляють у клітини (рис. 3.6). Додавання нано-Se обумовило зміну морфології клітин та поглинання Nano-Se бактеріальною культурою.

Електронна мікроскопія (TEM-1400) морфологічної взаємодії між Nano-Se та *B. subtilis* IMV B-7392 (рис. 3.6 b, c, d, e) вказує на те, що Nano-Se ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл), ймовірно, в основному зв'язується з клітинними структурами поверхні (рис. 3.6 a, f, g, h, i, j, k), вказуючи на внутрішню сферичну структуру клітин *B. subtilis* IMV B-7392, підданих обробці Nano-Se. У цитоплазмі *B. subtilis* IMV B-7392 після 30-хвилинної обробки Nano-Se з'явилися деякі електронно-щільні гранули. Після обробки Nano-Se ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) бактеріальні клітини все ще зберігали свою цілісність.



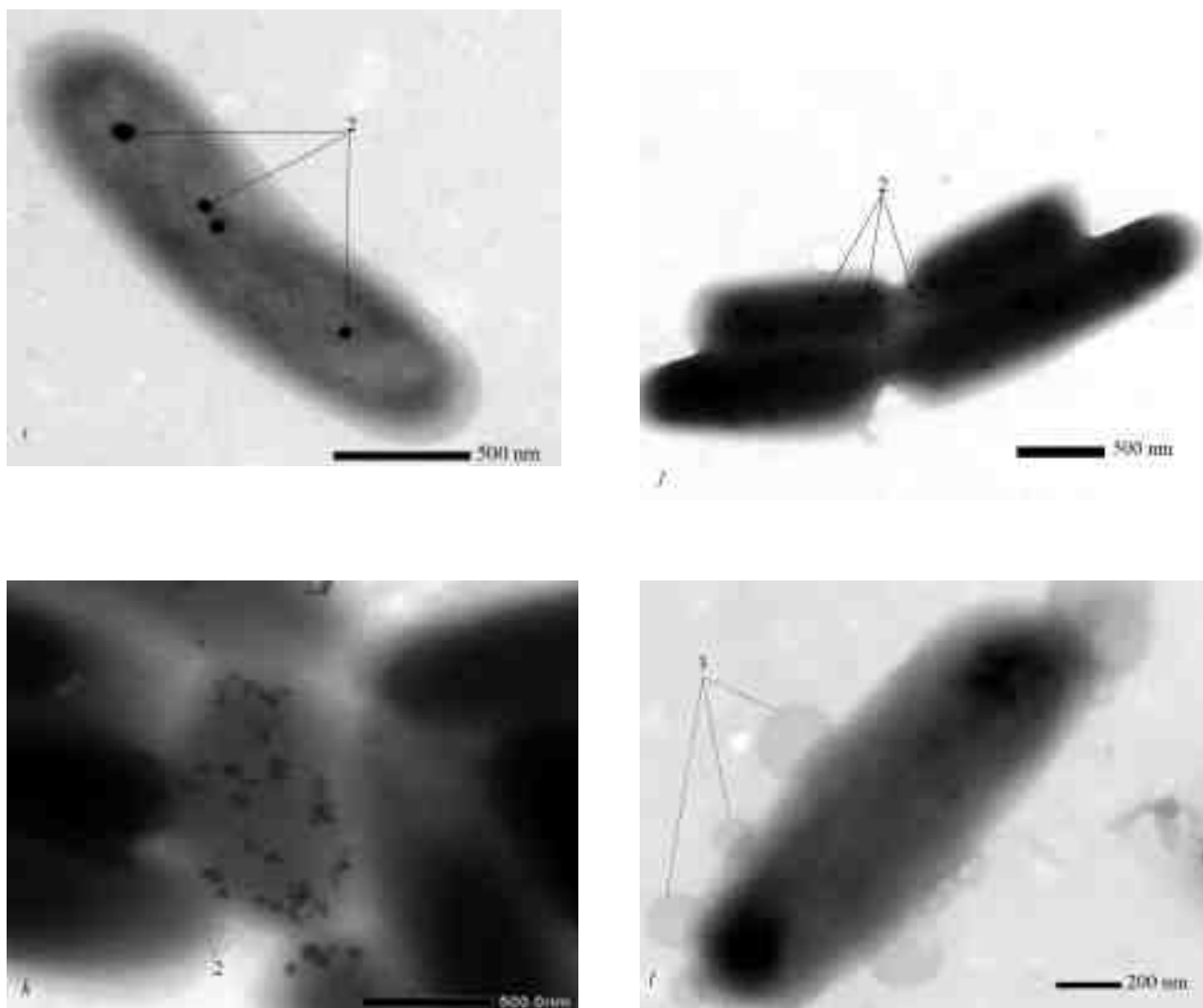


Рис. 3.6. Трансмисійні електронні мікрофотографії (ТЕМ-1400) морфологічної взаємодії між Nano-Se та *B. subtilis* IMV B-7392: 1 – адсорбція наночастинок Nano-Se; 2 – інтерналізація наночастинок Nano-Se; 3 – утворення бульбашок після пошкодження зовнішньої мембрани *B. subtilis* IMV B-7392, зумовленого Nano-Se

Вплив Nano-Se на культуру *B. subtilis* IMV B-7392 супроводжувався зміною розмірів бактерій, утворенням бінуклеатової клітини з розділеним нуклеїдом (рис. 3.6 с і d). Взаємодія між Nano-Se та *B. subtilis* IMV B-7392 призводить до тимчасового збільшення пористості в мембрані, що супроводжується утворенням бульбашок (рис. 3.6 l).

Електронно-мікроскопічне зображення (ТЕМ-1400) *B. subtilis* IMV B-7392, коли Nano-Se наносили в кінцевій концентрації  $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл, показало

взаємодію Nano-Se на клітинній поверхні та наявність сферичної форми Nano-Se у внутрішніх стільникових відділеннях. Встановлено, що зв'язування Nano-Se з структурами клітинної поверхні супроводжується змінами розмірів бактерій (рис. 3.6 в і d). Було показано подовження клітин *B. subtilis* IMV B-7392 до 5 мкм, що супроводжується зв'язуванням Nano-Se з клітинними поверхневими структурами. Взаємодія *B. subtilis* IMV B-7392 з SeNP у концентрації ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) не була пов'язана зі зміною росту бактеріальної культури.

Зокрема, нами вперше описано, що комбінації використання Nano-Se та *B. subtilis* IMV B-7392 супроводжуються значним збільшенням виходу біологічно активних речовин (екзометаболітів). Нано-Se у концентраціях  $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл сприяв втраті цілісності *B. subtilis* IMV B-7392, що призводить до підвищення проникності клітин після впливу Nano-Se на клітини, що супроводжувалося збільшенням виходу внутрішньоклітинних метаболітів.

Показано, що *B. subtilis* IMV B-7392 за наявності Nano-Se швидко засвоювали Nano-Se. Представлені мікрофотографи показали кількість електронно-щільних гранул всередині клітин *B. subtilis* IMV B-7392. Аналогічні результати отримані [357]. Їх дані демонструють значну інтерналізацію наночастинок оксиду цинку (ZnO) та титану (IV) ( $\text{TiO}_2$ ) в *Escherichia coli* залежно від дози. Інтерналізація ZnO NP до кишкової палички стала швидкою після 60-хвилинної обробки ZnO NP і виявила збільшення, про що свідчить зернистість. Вони продемонстрували, що менші НЧ можуть потрапляти в бактеріальні клітини і можуть взаємодіяти з клітинними макромолекулами [357], але механізм, завдяки якому НЧ могли проходити через клітинну стінку бактерій і мембрани, досі невідомий.

Підвищення зернистості клітин *S. typhimurium* TA98, оброблених NP ZnO або  $\text{TiO}_2$  [358]. Вони демонструють поглинання NP ZnO або  $\text{TiO}_2$  NP в *S. typhimurium* за допомогою проточної цитометрії. Дослідження TEM довели інтерналізацію цих НЧ у клітинах *S. typhimurium* TA98. Скануюча електронна мікроскопія в поєднанні з енергетично-дисперсійною рентгенівською спектроскопією (SeM-EDS) підтвердила білкове покриття над НЧ [358].

Доведена можливість *B. Subtilis* до поглинання нанорозмірних квантових точок CdSe та CdSe/ZnS (QD) через пуринозалежні механізми. Показано, що клітини *B. subtilis* за інкубації з голими кон'югатами CdSe QD під кімнатним світлом у багатьох випадках проявляють подовження клітин до >10 мкм, що відображає зниження швидкості ділення клітин [309; 531]. Для генетично споріднених *B. subtilis* 168/S було показано, що довжина клітин залежить від темпів росту і відома для мононуклеарних, бінуклеатних та міжклітинних клітин поділу [175; 531]. Однак під впливом Nano-Se відбулася зміна розміру *B. subtilis* IMV B-7392. На рис. 3.6 (с і d) показана бінуклеатна клітина з розділеним нуклеоїдом; ця клітина відповідає стадії 3 – бінуклеатні клітини [175]. Розширення клітин *B. subtilis* у дуже низьких концентраціях Cd призводить до пригнічення ферментів відновлення ДНК, які можуть інгібувати ділення клітин.

Результати наших досліджень узгоджуються із низкою інших робіт щодо здатності НЧ взаємодіяти з бактеріальною мембраною завдяки електростатичним силам [608]. Взаємодія наночастинок та бактеріальних клітин може призвести до порушення цілісності мембрани. Взаємодія між *B. subtilis* IMV B-7392 і Nano-Se супроводжується збільшенням проникності мембран (рис. 3.6 л). Проте на цьому етапі ефекти є оборотними, оскільки життєздатність клітин зберігається. За даними спектрометрії спостерігається збільшення виходу біологічно активних речовин (рис. 3.6 б).

Отже, інкубація *B. subtilis* IMV B-7392 з Nano-Se впродовж 30 хвилин змінює поверхню бактеріальних клітин. Клітини добре візуалізуються за електронно-мікроскопічного спостереження. Окрім того спостерігали утворення бульбашок на поверхні клітин (рис. 3.6 л), аналогічно взаємодії *B. subtilis* з наночастинами Pd [313].

Отже, проникнення позитивно заряджених НЧ у негативно заряджені бактеріальні клітини має вирішальне значення для активності НЧ як бактерицидних матеріалів. Однак проникнення позитивно заряджених НЧ у клітини *B. subtilis*, ймовірно, порушує цілісність мембрани, що призводить до



утворення бульбашок. Були отримані аналогічні результати [543], які показали, що прямий контакт оксиду титану та бактеріальної клітини збільшує проникність мембрани, але на цій стадії ефекти є оборотними. Ми отримали подібні дані, і проникнення Nano-Se у клітини *B. subtilis* IMV B-7392 у концентрації  $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл не супроводжувалося проявом бактерицидної чи бактериостатичної дії Nano-Se на цю культуру.

У разі взаємодії з Nano-Se у концентрації ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) зростання бактерій *B. subtilis* IMV B-7392 не спостерігалось. Згідно з електронно-мікроскопічними дослідженнями аеробне культивування *B. subtilis* IMV B-7392 продовж 48 годин за наявності та відсутності Nano-Se ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) не супроводжувалося виникненням морфологічної різниці між бактеріями. Ми показали, що Nano-Se потрапляє в *B. subtilis* IMV B-7392 та/або приєднується до клітинних структур, це відбувається швидко впродовж 30 хвилин. Аналогічні результати були отримані авторами [309], коли культивували *B. subtilis* при pH 7 та 37 °C із селенітом, тож впродовж 30 хвилин спостерігалось зменшення вмісту Селеніту до 23–25 %, який був введений у середовище культури.

Для *B. subtilis* поширена наявність індукованої системи детоксикації селенітом, а не поширена передача дисиміляційного електрона [261]. Відомо, що глюкоза та сахароза здатні посилити метаболізм  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  у разі збагачення живильного середовища  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  у концентрації 1 мМ. Діапазон концентрацій  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , придатних для росту *B. subtilis*, становить від 0,6 мкМ до 5 мМ (від 50 ppb до 395 ppm Селену). За наявності 0,6 мкМ селеніту *B. subtilis* видалила 95 %  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  із живильного середовища [465].

Найбільш оптимальною концентрацією для метаболізму натрію  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  у культурі *B. subtilis* IMV B-7392 є концентрація 0,01 мг/мл. Збагачення високими концентраціями поживних речовин та  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  сприяло зменшення приросту біомаси клітин *B. subtilis* IMV B-7392. Здатність *B. subtilis* накопичувати біомасу в збагаченому середовищі культури ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) Nano-Se зумовлена властивостями бактерії виду *B. subtilis* до метаболізму  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  [214] та біотрансформація  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  до Nano-Se [183; 465; 659].

Присутність селеніту в культуральному середовищі *B. subtilis*, що зумовлює структурні зміни в клітинах, спостерігається внаслідок збільшення вмісту тиоредоксину та пов'язаного з ним ферменту НАДФ-тиоредоксин редуктази [260]. Селеніти можуть сприяти окисненню тіолів до сульфатної кислоти. Зворотний перехід тиол  $\leftrightarrow$  дисульфід – досить поширений біохімічний окисно-відновний процес, який протікає з утворенням відносно стійкого дисульфідного зв'язку. Здатність селеніту впливати на біохімічну реакцію *B. subtilis* та системи дитіолу визначає його активність як модулятора систем, залежних від тиоредоксу, які відповідають за підтримку окисно-відновних потенціалів клітин.

Властивість *B. subtilis* IMV B-7392 до поглинання Nano-Se може бути цікавою, якщо врахувати здатність *B. subtilis* до зменшення селеніту *in vitro* шляхом залучення системи тиоредоксину, що складається з НАДФ та тиоредоксин редуктази. Тиоредоксин може знижувати вміст дисульфідних білків через окисно-відновні дитіоли. *Bacillus subtilis* індукує тиоредоксин за наявності селеніту [260]. *B. subtilis* – це підгрупа мікроорганізмів, що має здатність до метаболізму Селену. Механізм відновлення селеніту в цих бактерій може бути аналогічним механізму, запропонованому для протеобактерій. Відновлення дисульфідів може каталізуватися селенолами, присутніми в бактеріальних клітинах [331].

Селеніт у *B. subtilis* може бути зменшений бацилітіолом, утворюючи відновлені молекули орґано-Se (RS-Se-SR) та високореактивний радикальний аніон супероксиду ( $O_2^{\cdot-}$ ). Тиоредоксин здатний споживати  $O_2^{\cdot-}$  і сприяти перетворенню  $R_1S-Se-SR_2$  в елементарний  $Se^0$  [331]. Окисно-відновний стан бацилітіолу може підтримуватися системою тиоредоксин / тиоредоксин редуктаза.

Отже, *B. subtilis* та деякі види *Lactobacillus* розглядаються як нові селенметаболізуючі пробіотики, які здатні трансформувати Селен у селенопротеїни (Sels) через селенід. Пробиотичні мікроорганізми здатні природним екологічним методом синтезувати наночастинки Селену та

засвоювати екзогенні наночастинки. Для бактерій *Lactobacillus* було виявлено здатність до метаболізації неорганічних іонів Селену (IV) у Se-метилоселеноцистеїн, Se-метіонін та інші невстановлені форми [363].

Важливість створення нових пробіотиків, що містять Селен, обумовлена фактами: вони здатні забезпечити перетворення неорганічного Селену в його органічні форми [311]. Se надходить у харчовий ланцюг через рослини та збагачені Селеном дріжджі та пробіотики. Селен може перебувати у формі селенату натрію, L-селенометионіну, селеніту натрію та селенової кислоти, а також у вигляді мікроорганізмів, збагачених Селеном.

Селен виконує захисні функції в організмі. Селеніди приймають активну участь у окисно-відновних процесах, клітинному диханні та синтезі специфічних функціональних ферментів [260; 331]

Антиоксидантна дія ферментів родини глутатіонпероксидази забезпечує селективні властивості для серцево-судинної системи. Дефіцит елемента посилює вироблення реакційноздатних видів Оксигену, синтез тромбоксанів, збільшує агрегацію тромбоцитів і гальмує розмноження протецикліно-захисного фактору ендотелію. Селен активізує клітинний та гуморальний рівень імунітету. Дефіцит Селену в організмі призводить до зниження функціональної активності нейтрофілів і їх кількість негативно впливає на формування антитіл, пригнічує активність природних клітин-кілерів [708].

Проникнення у внутрішні відділи бактеріальних клітин НЧ привернуло увагу фахівців, оскільки це відкриває можливість прогнозувати розробку нових протимікробних препаратів на їх основі для боротьби зі зростаючою загрозою стійкості до антибіотиків. Однак фактори взаємодії НЧ та бактерій та механізми їх антибактеріальної дії абсолютно незрозумілі [465]. Нами встановлено оптимальну концентрацію Nano-Se ( $0,2 \times 10^{-3}$  мг/мл) для збільшення виходу біологічно активних речовин *B. subtilis* IMV B-7392. Виявлено здатність *B. subtilis* IMV B-7392 до біоаккумуляції селеніту натрію та Nano-Se в оптимальних дозах.

Використовуючи TEM, було показано, що вплив *B. subtilis* IMV B-7392 за

наявності Nano-Se супроводжується швидким поглинанням Nano-Se впродовж 30 хв бактеріальною культурою. Проникнення Nano-Se у внутрішні відділи супроводжується локальною деформацією та минутою пористістю мембрани без її розриву. Проникнення Nano-Se в *B. subtilis* IMV B-7392 супроводжується збільшенням накопичення білків-екзометаболітів. Це важливо, оскільки види *Bacillus* розглядаються як виробники енергії вторинних біоактивних метаболітів (800 сполук), а лактобактерії продукують близько 100 сполук [156].

Здатність Nano-Se перетинати клітинну стінку визначає їх перспективу використання як антимікробних засобів та у складі комбінації антибіотиків, включаючи бета-лактамі антибіотики та аміноглікозиди. Перспективи комбінації Нано-Se та бета-лактамічних антибіотиків зумовлені здатністю бета-лактамів пригнічувати синтез клітинних стінок бактерій та їх особливостями, зокрема гідрофільною структурою, що ускладнює проникнення в клітини [379]. Результати показують, що *B. subtilis* IMV B-7392 потенційно може бути використана як носій для Nano-Se. Здатність *B. subtilis* до поглинання Nano-Se визначає потенційні переваги *B. subtilis* для цільових методів транспортування препаратів, а також підвищення виходу біологічно активних речовин та створення продуктів, що містять пробіотичний наноселен.

Отже, *B. subtilis* та деякі види *Lactobacillus* розглядаються як нові селенметаболізуючі пробіотики, які можуть трансформувати Селен у селенопротеїни (Sels) через селенід. Пробіотичні мікроорганізми здатні природним екологічним методом синтезувати наночастинки Селену та засвоювати екзогенні наночастинки.

Взаємодія *B. subtilis* IMV B-7392 з Nano-Se призводить до швидкого поглинання Nano-Se бактеріальною культурою та перехідної пористості в мембрані без її розриву. Виявлено оптимальну концентрацію SeNP для підвищення виходу біологічної активності *B. subtilis*. Здатність Nano-Se перетинати клітинну стінку *B. subtilis* IMV B-7392 має вирішальне значення для визначення способів дії лікарських засобів та розвитку терапії нового покоління.

### 3.1.5. Визначення основних показників біологічно активної кормової добавки з наночастинками Селену

Біологічно активна кормова добавка для с.-г. тварин та птиці повинна відповідати чинним вимогам і виготовлятися за технологічним регламентом, затвердженим у встановленому порядку з дотриманням санітарних норм і правил, затверджених центральними органами виконавчої влади в сфері охорони здоров'я України. Біологічно активна добавка є препаратом ліофільно висушених бактерій, що містить життєздатні клітини *Lactobacillus plantarum* ІМВ В-7679, збагачені водним розчином цитрату селену, ТУ У 15.8-35291116-008:2009 у концентрації  $2 \times 10^{-3}$  мг/мл.

Корисні властивості штаму обумовлені продуктами метаболізму та синтезом активних речовин олігопептидної природи з широким спектром біологічної активності, структурою пептидоглікану клітинної стінки та наявністю тейхоевих кислот, здатністю до синтезу молочної кислоти, пероксиду гідрогену та антибіотикоподібних речовин. Під впливом цього штаму змінюються показники імунореактивності організму внаслідок індукції синтезу раннього інтерферону, активації фагоцитарних клітин та природних клітин-кілерів. Корисні властивості штаму також обумовлені його антагоністичною дією відносно збудників інфекцій верхніх дихальних шляхів: представників грам-негативних ферментуючих та неферментуючих ентеробактерій (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), грам-позитивних коків (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) та патогенних коринебактерій (*Corynebacterium diphtheriae*) тощо, що пов'язано із синтезом метаболітів. Штам ефективно пригнічує ріст патогенних стафілококів *in vivo* і за експериментальної назальної стафілококової інфекції.

Встановлено, що досліджуваний штам *L. plantarum* ІМВ В-7679 має імуномодулювальні властивості: впливає на функціональну активність клітин фагоцитарної системи, сприяє елімінації золотистого стафілокока зі слизових оболонок носа та відновлює протиінфекційну резистентність слизових оболонок.

При вивченні реакцій нейтрофілів на вплив *L. plantarum* ІМВ В-7679

встановлено достовірне ( $p < 0,05$ ) підвищення показників фагоцитарної активності й окисного потенціалу нейтрофілів: ФІ збільшувався до  $77,2 \pm 2,16$  %, ФП до  $6,21 \pm 0,34$ , активність спонтанного НСТ-тесту (сНСТ) підвищувалась до  $23,28 \pm 0,58$  %, а індукованого (іНСТ) до  $50,26 \pm 2,18$  %, порівняно з показниками контрольної групи (ФІ –  $64,6 \pm 1,45$  %, ФП –  $4,62 \pm 0,12$ , сНСТ –  $11,25 \pm 0,5$  %, іНСТ –  $44,83 \pm 2,18$  % (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

**Показники фагоцитарної активності й окисного потенціалу нейтрофілів кролів за додавання біологічно активної кормової добавки для с.-г. тварин та птиці, %,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Показники	Контроль	Дослід
Фагоцитарний індекс, %	$64,6 \pm 1,45$	$77,2 \pm 2,16$ ***
Фагоцитарний показник, %	$4,62 \pm 0,12$	$6,21 \pm 0,34$ **
Спонтанний НСТ-тест, %	$11,25 \pm 0,5$	$23,28 \pm 0,58$ ***
Індукований НСТ-тест, %	$50,26 \pm 2,31$	$44,83 \pm 2,18$

**Примітка:** тут і надалі різниця вірогідна при: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

У піддослідних тварин (кролі із модельованим хронічним назальним стафілококовим ринітом) під впливом *L. plantarum* ІМВ В-7679 підвищувався ступінь заселення лактобацилами слизових оболонок носа ( $4,2 \pm 0,9$  Іг КУО/г; проти  $0,4 \pm 0,4$  у тварин, що не отримували інтраназальне введення *L. plantarum* ІМВ В-7679) та відбувалось відновлення протиінфекційної резистентності слизових: рівень лізоциму підвищувався до  $16,9 \pm 1,2$  мкг/мл (у контролі  $6,9 \pm 0,2$ ); рівень sIgA підвищувався до  $2,42 \pm 0,2$  мг/мл (у контролі  $1,23 \pm 0,1$ ).

Ступінь заселення поверхні слизових оболонок носа дослідних тварин золотистим стафілококом (Іг КУО/г) через 1 добу після початку інтраназального введення *L. plantarum* ІМВ В-7679 становив  $0,6 \pm 0,6$  Іг КУО/г, а через 7 діб золотистий стафілокок у цієї групи кролів не висівався зовсім, тоді як у контрольній групі тварин, через 1 та 7 діб ступінь заселення поверхні слизових оболонок носа був на рівні  $5,3 \pm 0,4$  Іг КУО/г.

Результати свідчать, що під впливом запропонованого штаму *L. plantarum* ІМВ В-7679 відбувалась елімінація золотистого стафілокока зі слизових оболонок носа експериментальних тварин, а також відбувалось відновлення нормобіоти та протиінфекційної резистентності слизових оболонок тварин.

Завдяки синтезованим метаболітам *L. plantarum* ІМВ В-7679 запобігає адгезії патогенних мікроорганізмів до слизових оболонок носа та кишківника.

Відмінною характеристикою *L. plantarum* ІМВ В-7679 є здатність катаболізувати аргінін з утворенням оксиду нітрогену (II) (NO) – сполуки, що приймає участь у регуляції більшості функцій шлунково-кишкового тракту (секреції муцину, регуляції перистальтики, запобіганню надходження ендотоксинів у сироватку крові) і надає виражену бактеріостатичну та імуностимулюючу дію. Використання *L. plantarum* ІМВ В-7679 дає змогу попереджувати виникнення гіпероксалурії і пов'язаних із нею патологічних станів. Позитивні технологічні характеристики *L. plantarum* ІМВ В-7679 (стійкість до дії високих температур, екстремальних значень рН, висушування та високих концентрацій етанолу) забезпечує можливість його широкого застосування у виробництві.

Основним показником якості препарату біологічно активної кормової добавки для с.-г. тварин, птиці та риби є кількість життєздатних клітин в 1 г препарату. Загальна кількість життєздатних мікроорганізмів у 1 г сухого препарату має бути не менше 400–500 млрд. клітин.

Бактеріальна чистота препарату визначається мікроскопічно та висівом на тверді середовища загальноприйнятими в мікробіології методами.

Одна доза препарату біологічно активної кормової добавки для с.-г. тварин, птиці та риби для великої рогатої худоби повинна вмішувати 400–500 млрд. мікробних клітин та складатися з ліофільно висушеного штаму *L. plantarum* ІМВ В-7679 – 0,3–0,6 г, желатину – 0,005–0,01 г та сахарози – 0,02–0,04 г. Маса однієї дози препарату разом із сухим залишком середовища росту і метаболітами бактерій складає від 0,5 до 1,0 г залежно від продуктивності ферментації. За органолептичними, фізико-хімічними та біологічними

властивостями та мікробіологічними показниками біологічно активна добавка для с.-г. тварин, птиці та риби має відповідати вимогам (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Органолептичні, фізико-хімічні та біологічні показники біологічно активної кормової добавки для с.-г. тварин та птиці**

Показник	Характеристика і норми
Зовнішній вигляд і колір	Пориста суха маса
Колір	Від жовтуватого до світло-коричневого
Масова частка вологи, %, не більше	6
Кількість життєздатних бактерій, млрд/г, не менше:	400–500
Стерильність препарату, % сторонніх мікроорганізмів не більше	0,005
Нешкідливість на одну мишу, мг	5
Специфічна активність препарату до тест-культур, мм зон затримки росту	8–28

### 3.1.6. Визначення токсичності наносполук Селену

Впровадження у сільськогосподарське виробництво нових препаратів, зокрема біотехнологічного походження, потребує суворого контролю, який необхідно проводити згідно системи GLP та стандарту. Нині чинний стандарт, розроблений ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, регламентує основні положення щодо стану безпечності застосованих препаратів та визначення їх токсичності (гострої та підгострої).

Гостру токсичність наносполук Селену визначали за їх введення білим мишам та білим щурам. За внутрішньошлункового застосування кормової добавки селеніту натрію з пробітиком та наноселену було встановлено, що їх застосування у дозах 1000, 3000 і 5000 мг/кг не обумовило загибелі та захворювань лабораторних тварин (табл. 3.3). Упродовж 14-добового спостереження лабораторні тварини були активними, мали задовільний апетит, не виявлено будь-яких змін у поведінці тварин.



Таблиця 3.3

**Результати визначення гострої токсичності за внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам сполук Селену**

Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих білих мишей			Число загиблих білих щурів		
		всього	у %	середній час загибелі	всього	у %	середній час загибелі
За введення селеніту натрію з пробіотиком							
6	1000	0	0	0	0	0	0
6	3000	0	0	0	0	0	0
6	5000	0	0	0	0	0	0
12	5000	0	0	0	0	0	0
За введення біоаноселену							
6	1000	0	0	0	0	0	0
6	3000	0	0	0	0	0	0
6	5000	0	0	0	0	0	0
12	5000	0	0	0	0	0	0

З даних таблиці видно, що внутрішньошлункове застосування селеніту натрію з пробіотиком та біоаноселену у вищевказаних дозах не обумовило загибелі тварин чи захворювань, що згідно класифікації речовин за токсичністю, СОУ 85.2-37-736:2011 [69], дає змогу віднести досліджувані засоби до 4 класу токсичності – малотоксичні речовини.

Під час проведення досліду з вивчення підгострої токсичності білим щурам впродовж 30 діб наноселен вводили внутрішньошлунково, щоденно впродовж 30 днів. Проводили спостереження за клінічним станом та поведінкою тварин. За періоду експерименту загибелі лабораторних щурів не встановлено. Результати визначення коефіцієнтів маси внутрішніх органів наведено в таблиці 3.4.

Як видно з даних, 30-добове застосування досліджуваної кормової

добавки не обумовило суттєвих змін у вагових коефіцієнтах маси печінки, серця, легень та нирок. При цьому у тварин дослідних груп відзначали зростання вагового коефіцієнту маси селезінки, відповідно на 8,4 %, 17,2 ( $p < 0,05$ ) та 26,5 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з показниками контрольної групи.

Таблиця 3.4

**Вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 30-у добу  
дослідку,  $M \pm m$ ,  $n=6$**

Внутрішні органи	Групи тварин, доза введення наноселену			
	контроль	I група 0,05 г/кг маси тіла	II група 0,25 г/кг маси тіла	III група 0,5 г/кг маси тіла
Печінка	27,9±0,72	27,6±0,69	29,1±0,53	28,3±0,84
Селезінка	2,15±0,12	2,33±0,17	2,52±0,11*	2,72±0,17*
Серце	3,65±0,09	3,73±0,18	3,77±0,18	3,67±0,24
Легені	8,25±0,89	9,5±0,64	8,77±1,14	8,13±0,40
Нирки	6,88±0,24	7,25±0,35	7,08±0,22	7,52±0,27

При розтині не виявлено патологічних змін внутрішніх органів грудної та черевної порожнин. Усі органи мали правильне анатомічне розташування, звичайний колір і консистенцію. У паренхіматозних органах не виявлено ознак запалення, порушень кровообігу і трофіки. Слизова оболонка шлунку та кишечника на момент проведення огляду була звичайного кольору з властивою рельєфністю без ознак набряків, ерозій і запалення.

Довготривале надходження досліджуваного засобу обумовило у тварин I дослідної групи вірогідне зростання концентрації гемоглобіну на 10,7 %, кількості еритроцитів на 12,8 %, кількості лейкоцитів 55,2 %, величини гематокриту 9,4 % ( $p < 0,05$ ), порівняно до показників контрольної групи (табл. 3.5). При цьому відзначали незначне зниження середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН), середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС) та кількості тромбоцитів.

Таблиця 3.5

**Гематологічні показники крові білих щурів на 30-у добу досліду,  $M \pm m$ ,  $n=6$** 

Показники	Групи тварин, доза введення наноселену			
	Контроль	I група 0,05 г/кг маси тіла	II група 0,25 г/кг маси тіла	III група 0,5 г/кг маси тіла
Гемоглобін, г/л	158,6±2,98	175,5±7,5*	167,7±0,88	172,7±5,36
Еритроцити, Т/л	7,68±0,23	8,66±0,03*	8,03±0,1	8,65±0,23*
Лейкоцити, г/л	7,54±0,15	11,7±1,5**	12,1±0,98***	10,8±1,92
Гематокрит, %	39,4±0,66	43,1±0,97*	41,7±0,38	43,1±0,97*
МСН, пг	20,7±0,26	20,3±0,8	20,9±0,23	19,9±0,38
МСНС, г/дл	40,2±0,19	39,9±0,4	40,2±0,19	40,0±0,44
MCV, мкм <sup>3</sup>	51,4±0,86	50,8±1,55	51,9±0,44	49,9±1,04
Тромбоцити	799,2±18,1	619,0±120	490,7±52,6***	578,7±148,2
Лейкоформула				
нейтрофіли	35,2±1,02	39,0±1,0	40,7±5,81	40,7±3,53
лімфоцити	60,0±0,63	56,0±0,0	52,7±4,81	54,0±4,0
моноцити	4,4±0,4	5,0±1,0	5,33±0,67	4,66±0,67
еозинофли	0,4±0,4	0,0±0,0	1,33±0,67	0,0±0,0

Крім того у тварин II та III дослідних груп відзначали зростання концентрації гемоглобіну, відповідно на 5,74 та 8,9 %, кількості еритроцитів – на 4,56 та 12,6 %, лейкоцитів – на 60,5 та 43,2 %, величини гематокриту – на 5,8 та 9,4 %, порівняно до показників контрольної групи. Також відзначали незначне зниження середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН), середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС) та кількості тромбоцитів. Проте ці зміни були не вірогідні.

Дані біохімічного дослідження сироватки крові наведені у таблиці 3.6. Як видно із представлених даних, що 30-добове застосування наноселену

обумовило зростання вмісту загального білка у тварин I, II та III дослідних груп на 7,9 %, 9,6 та 11,5 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з контрольної групою. Відзначалось вірогідне зростання ( $p < 0,01$ ) рівня сечовини на 58,8 %, 69,1 та 84,7 %.

Таблиця 3.6

**Біохімічні показники крові білих щурів на 30-у добу досліду,  $M \pm m$ ,  $n=6$**

Показники	Групи тварин, доза введення наноселену			
	контроль	I група 0,05 г/кг маси тіла	II група 0,25 г/кг маси тіла	III група 0,5 г/кг маси тіла
Загальний білок, г/л	69,5±2,7	75,03±2,34	76,2±0,3	80,0±0,2*
Сечовина, ммоль/л	3,86±0,46	6,13±0,41**	6,53±0,24**	7,13±0,14***
Креатинін, мкмоль/л	69,4±2,11	67,1±0,79	60,9±3,11	71,7±5,22
АсАТ, Од/л	185,2±3,27	167,5±20,5	181,9±3,95	186,3±41,1
АлАТ, Од/л	51,3±2,63	67,3±6,31*	56,5±5,06	72,1±6,88*
ЛФ, Од/л	206,7±17,8	384,3±12,3***	342,5±29,4**	328,9±28,9**
Загальний холестерол, ммоль/л	1,18±0,06	1,41±0,11	1,99±0,39*	2,01±0,49
МСМ, г/л	0,59±0,06	2,17±0,71*	2,46±0,15***	2,27±0,27***
Глюкоза, ммоль/л	5,18±0,25	4,83±0,48	5,57±0,29	5,53±0,15

У разі визначення ензиматичної активності сироватки крові у тварин дослідних груп відзначали зростання активності АлАТ на 31,2 % ( $p < 0,05$ ), 10,1 та 40,5 % ( $p < 0,05$ ) та активності лужної фосфатази на 85,9 % ( $p < 0,001$ ), 65,7 ( $p < 0,01$ ) та 59,1 % ( $p < 0,01$ ), відповідно до груп.

Поряд з тим відзначали, що застосування терапевтичної 5-кратної та 10-кратної терапевтичних доз обумовило зростання вмісту загального холестеролу на 19,5 %, 68,6 ( $p < 0,05$ ) та 70,3 % та МСМ – на 21,8 % ( $p < 0,05$ ), 23,9 і 25,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно із показниками контрольної групи. При цьому встановлено, що застосування досліджуваного препарату не обумовило суттєвих змін у активності АсАТ та рівня глюкози.

Отже, проведення первинних токсикологічних досліджень є вирішальною ланкою, що визначає можливість створення та застосування конкурентоспроможних, малотоксичних, високоефективних, екологічно чистих препаратів, що не спричиняють розвиток побічних ефектів.

Результати досліджень опубліковані у працях [10; 27; 72; 73; 78; 88; 89; 95; 93; 96; 163; 625; 627; 630; 632].

### **3.2. Ефективність застосування різних форм Селену за вирощування перепелів**

#### **3.2.1. Показники білкового обміну крові перепелів за дії Селену**

Протеїни є життєво необхідними для функціонування кожної клітини та тканини складними молекулами, що виробляються по всьому організму і циркулюють у крові. Плазма крові містить сотні різних білків, вимірюючи концентрацію яких отримують інформацію про стан органів та систем, визначають продуктивність організму та рівень впливу екзогенних препаратів, регулюючих метаболізм у цілому.

Загальний білок – показник білкового обміну організму, який відображає загальний вміст всіх білків у сироватці крові. За вмістом загального білка в крові оцінюють функції печінки (печінкові проби), разом з іншими аналізами визначають стан нирок, серця, легень тощо.

Під час дослідження показників білкового обміну у крові перепелів було встановлено найнижчий рівень вмісту протеїну у крові птиці дослідної групи, що отримувала стандартний комбікорм (табл. 3.7). Додавання до раціону препаратів Селену у чистому вигляді та у комбінації із пробіотиком спричиняло тенденцію до зростання вмісту загального протеїну. Найменшим таке зростання було у другій дослідній групі, яка отримувала селеніт натрію у складі раціону – на 8,4 % відносно контрольного рівня. Комбінування селеніту натрію із пробіотиком (група 3) достовірно ( $p < 0,05$ ) підняло рівень вмісту загального білка у крові дослідних перепелів на 11,89 %. Найбільші зміни щодо вмісту загального

протеїну у крові птиці відбулися за застосування наноселену у 4-й дослідній групі, 14,27 % відносно групи, що отримувала лише стандартний комбікорм. Така тенденція вказує на посилення білоксинтезувальної функції печінки.

Таблиця 3.7

**Вміст загального протеїну та альбуміну у крові перепелів за введення різних форм Селену,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Група птиці	Загальний протеїн, г/л	Альбумін, г/л
1 – контроль	36,17±1,63	18,73±1,96
2 – за додавання селеніту натрію	39,21±1,21	19,27±1,62
3 – за додавання селеніту натрію з пробіотиком	40,47±1,75	20,12±2,31
4 – за додавання наноселену з пробіотиком	41,33±1,93	23,31±1,82

Зміна рівня вмісту загального білка в сироватці крові може бути відносною та абсолютною та бути наслідком розрідження або згущення крові: у першому випадку або зміни саме рівня білка в крові, без зміни кількості крові – у другому. Беручи до уваги позитивний вплив досліджуваних препаратів на прирости маси дослідної птиці, можна стверджувати, що зростання кількості загальних протеїнів у сироватці крові перепелів є абсолютним і є передумовою для приросту маси тіла. Концентрація загального білка, білірубину, активність амінотрансфераз у сироватці крові відображають метаболічні функції печінки (синтез білків, обмін аніонів, утворенні жовчі, стан мембран гепатоцитів) [35; 219; 385].

Встановлено, що дослідні препарати селену та пробіотик спричинили зміни у вмісті альбуміну у крові перепелів, аналогічні вмісту загального протеїну. Результати досліджень показали, що рівень показнику у дослідних групах на 2,88–24,45 % переважали вміст альбуміну у крові перепелів контрольної групи, найінтенсивнішою зміна була за застосування наноселену.

У плазунів і птахів сечова кислота є кінцевим продуктом обміну пуринів та білків, синтезується вона із аміаку, оскільки ферменти орнітинового циклу у них взагалі відсутні та практично повністю відсутній фермент уратоксидаза, що перетворює сечову кислоту в алантоїн [600]. Як відомо, підвищення

концентрації сечової кислоти та креатиніну у сироватці крові може бути свідченням зниження швидкості елімінації цих метаболітів, що, в свою чергу, є наслідком погіршення фільтраційної та сечоутворювальної функцій нирок. Тенденція до зменшення вмісту сечової кислоти у перепелів дослідних груп свідчить про зниження деструкції білків і стабілізацію проміжного білкового обміну (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Вміст метаболітів білкового обміну у крові перепелів за введення різних форм Селену,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Група птиці	Креатинін, мкмоль/л	Білірубін, мкмоль/л	Сечова кислота, мкмоль/л
1 – контроль	31,5±3,26	17,57±1,45	0,35±0,04
2 – за додавання селеніту натрію	39,3±3,6	16,11±1,30	0,32±0,02
3 – за додавання селеніту натрію з пробіотиком	27,09±2,87	16,27±1,35	0,37±0,03
4 – за додавання наноселену з пробіотиком	25,93±2,08	15,62±1,61	0,26±0,02

Встановлено, що застосування селеніту натрію та наноселену обумовило зниження вмісту сечової кислоти у крові перепелів у 2-й та достовірно ( $p < 0,01$ ) у 4-й групах на 8,57 та 25,71 % відповідно відносно рівня контрольних перепелів. Комбіноване застосування селеніту натрію та пробіотику, навпаки, достовірно підвищило вміст сечової кислоти у 3-й дослідній групі на 5,71 % понад контроль ( $p < 0,001$ ).

Креатинін – кінцевий продукт білкового обміну, що приймає участь в енергетичному обміні. Утворюючись у м'язах, креатинін через кров виділяється із організму із сечею, отже креатинін є важливим показником функції нирок. Концентрація креатиніну в крові залежить від об'єму м'язової маси, підвищена концентрація його у сироватці крові є показником надлишкової кількості білка у раціоні, ниркової недостатності (зокрема через ураження токсичними чинниками чи медикаментами), зневоднення та ураження м'язів. Встановлено, що застосування селеніту натрію обумовило зростання вмісту креатиніну у

крові перепелів 2-ї дослідної групи на 7,8 мкмоль/л, а комбінація селеніту із пробіотиком та наноселену знизило його вміст на 4,41 та 5,57 мкмоль/л відповідно відносно контрольної групи.

Білірубін є головним із так званих жовчних пігментів, нормальним метаболітом живих організмів, що містять гемоглобін. У нормі постійно утворюється з гемоглобіну крові, трансформується в гепатоцитах печінки в глюкуронід білірубину та виділяється з жовчю в кишечник та виводиться із сечею. Підвищення вмісту білірубину в крові спостерігається за підвищеного руйнування еритроцитів, за порушень утилізації його печінкою чи утрудненні відтоку жовчі по жовчних шляхах у кишківник. Проведене дослідження показало, що вміст білірубину у крові перепелів дослідних груп перебував на рівні 88,9–92,6 % від вмісту у контролі, при чому застосування наноселену продемонструвало найінтенсивніше зниження вмісту показнику.

Збільшення вмісту протеїну, альбуміну, тенденція до зменшення активності амінотрансфераз, зменшення концентрації загального білірубину свідчать, що додавання до раціону різних сполук Селену позитивно вплинуло на метаболічні процеси та не мало негативного впливу на клітини печінки, про що свідчить активність трансаміназ, зокрема АсАТ та АлАТ (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

**Трансаміназна активність крові перепелів за введення різних форм  
Селену,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Група птиці	АсАТ, МО/л	АлАТ, МО/л	АсАТ/ АлАТ
1 – контроль	247,2±19,1	48,33±5,74	5,11
2 – за додавання селеніту натрію	279,7±21,3	58,23±5,04	4,80
3 – за додавання селеніту натрію з пробіотиком	235,5±11,9	43,67±3,83	5,39
4 – за додавання наноселену з пробіотиком	201,1±19,2	40,22±3,72	5,00

Аспартат- (АсАТ) та аланін- (АлАТ) амінотрансферази – ензими, що каталізують процеси утворення енергії в циклі Кребса. АсАТ та АлАТ знаходяться в цитоплазмі й мітохондріях клітин багатьох органів, головним



чином печінки, серця, скелетних м'язів, нирок, підшлункової залози та в еритроцитах. Активність їх у сироватці крові пропорційна ступеню ушкодження тканин, у першу чергу печінки, у зв'язку з чим визначення їх активності використовується у складі печінкових проб. При цьому активність АсАТ у крові дослідних груп перепелів була на рівні 81,4–113,2 % від контролю, а активність АлАТ відповідно становила 83,2–120,5 %. Проте за варіабельності показників різниці між дослідними та контрольними групами були не достовірними.

Експериментальні групи продемонстрували тенденцію до зниження концентрації сечової кислоти та креатиніну. Вміст сечової кислоти у птахів відображає використання білка, виведення азоту, а також антиоксидантну функцію організму. Концентрація сечової кислоти, як основного продукту катаболізму амінокислот і пуринів у птахів, корелює з процесом деградації білка і відображає баланс між споживанням, використанням і деградацією білків і виведення метаболітів білка нирками. Концентрація сечової кислоти в сироватці крові використовується для оцінки функції нирок при гіперурикемії (підвищеному рівні сечової кислоти в сироватці крові), що часто асоціюється із захворюваннями нирок. Тенденція до зниження концентрації сечової кислоти та креатиніну свідчить, що додавання пробіотиків та різних форм Селену не чинить негативного впливу на функцію нирок.

### **3.2.2. Характеристика ліпідного обміну крові перепелів за дії Селену**

Холестерол – речовина групи стеролів, що у значній кількості міститься в нервовій та жировій тканинах, печінці і є попередником стероїдних гормонів, жовчних кислот, ліпопротеїнів та вітаміну D. Надлишок його в організмі призводить до утворення жовчних каменів, холестеролових бляшок у судинах та до порушень обміну речовин.

Тригліцероли – естери гліцеролу та ВЖК, є природним резервом жирних кислот, які беруть участь у синтезі тригліцеролів, фосфоліпідів, гормонів, кетонових тіл, є транспортним засобом крові, основним компонентом

природньої змазки шкіри та найголовнішою формою зберігання енергії. Жирні кислоти є основою для утворення фосфоліпідів, формують мембрани клітини, та є попередником простагландинів та лейкортієнів (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**Показники ліпідного обміну у крові перепелів за введення різних форм Селену,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Група птиці	Загальні ліпіди, г/л	Холестерол, ммоль/л	Тригліцероли, ммоль/л
1 – контроль	17,57±1,85	6,75±0,72	5,63±0,49
2 – за додавання селеніту натрію	18,11±1,30	5,98±1,49	4,34±0,61
3 – за додавання селеніту натрію з пробіотиком	15,27±1,35	4,18±0,52*	3,83±0,41*
4 – за додавання наноселену з пробіотиком	16,84±2,03	4,84±0,74	3,9±0,99

Аналіз ліпідного спектру крові встановив, що вміст триацилгліцеролів та холестеролу зменшився ( $p < 0,05$ ) у перепелів групи 3, що узгоджується з дослідженнями, в яких зменшення вмісту їх у крові птиці за введення пробіотиків [423]. Додавання препаратів Селену (2-а і 4-а дослідні групи) спричиняють тенденцію до зниження вмісту показників ліпідного спектру, як і загальних ліпідів, при чому використання наноселену провокує більш виражене падіння вмісту загальних ліпідів та їх фракцій.

Відомо, що мікроорганізми в травному тракті можуть приймати участь у метаболізмі холестеролу в організмі, діючи на клітинні системи ферменту-господаря, які синтезують ендогенний холестерол. Гіпохолестеринемічна активність штамів молочнокислих бактерій *L. casei* IBM-7280 [586] була встановлена в експериментах *in vivo* на моделі мишей. Дослідження [522] виявили, що вміст у плазмі холестеролу та тригліцеролів був знижений, тоді як кількість ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) збільшувалось із додаванням пробіотика та селену. Можливо, це пов'язано з активацією ліполізу для постачання Селену [341].

Використання препаратів Селену обумовило тенденцію до підвищення вмісту Кальцію та Фосфору в сироватці крові дослідних перепелів, достовірною зміна була за використання селеніту у комбінації із пробіотиком (табл. 3.11). У разі стимуляції метаболічної активності пробіотичних препаратів утворюються низькомолекулярні жирні кислоти (ацетат, лактат, пропіонат, бутират), що знижують рН у кишечнику, сприяють засвоєнню Кальцію, Магнію та Феруму [179].

Таблиця 3.11

**Вміст Кальцію і Фосфору крові 35-денних перепелів,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Група птиці	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л
1 – контроль	2,71±0,22	2,59±0,34
2 – за додавання селеніту натрію	2,70±0,51	2,62±0,32
3 – за додавання селеніту натрію з пробіотиком	3,39±0,26*	3,05±0,31
4 – за додавання наноселену з пробіотиком	3,13±0,24	2,84±0,41

Дослідження [423], у яких додавали пробіотики, показали зниження вмісту тригліцеролів та холестеролу в крові. Існує припущення, що деякі бактеріальні пробіотичні штами можуть включати холестерол у бактеріальних клітинах, а також гідролізувати жовчні солі, які пригнічують активність 3-гідрокси-3-метилглутарил-коферменту А (HMG-CoA) редуктази, яка відіграє ключову роль у синтезі даного стерину, обмежуючи швидкість холестерогенезу та знижуючи загальний пул холестеролу в організмі [320].

Вважається, що пробіотики, що містять специфічні мікроорганізми, сприяють трансформації та асиміляції нано-Se у кишечнику [600]. Одним з можливих механізмів трансформації нано-Se може бути опосередкований дією мікробіотиків у кишечнику, які здатні перетворювати нано-Se у селеніт,  $H_2Se$  або Se-фосфат з подальшим синтезом селенопротеїнів [600].

### 3.2.3. Жирнокислотний склад ліпідів плазми крові перепелів

Впровадження ефективних засобів профілактики і лікування,

етиологічними факторами яких є аліментарні чинники – невід’ємна умова підвищення рентабельності птахівництва. Для профілактики та лікування оксидативного стресу використовують адаптогенні та антистресові препарати, що зумовлює оптимізацію процесу вільнорадикального окиснення ліпідів [122].

Актуальність створення нових комплексних препаратів обумовлюється недостатньою терапевтичною ефективністю наявних препаратів, а також низкою побічних явищ за їх використання. Це, зокрема, виникнення оксидативного стресу, який є неспецифічною універсальною відповідною реакцією організму на ушкодження та сприяє мобілізації захисних систем, спрямованих на видалення чи нейтралізацію патогенного фактору, мобілізацію систем антиоксидантного захисту та адаптацію метаболізму до екстремальних умов. Така реакція пов’язана не тільки з активацією ланок нейрогуморальної регуляції під час порушення гомеостазу, але й з тим, що активні метаболіти Оксигену є сигнальними молекулами, які індукують активність сполук, зокрема ліпідів, що приймають участь у біосинтезі та антиоксидантному захисті.

В останні десятиліття розробка нових технологій, що застосовуються до ліпідоміки, підвищило зацікавленість у вивченні та аналізі змін ліпідного профілю та розуміння основних молекулярних механізмів ліпідного обміну разом із їх участю у виникненні захворювань людини та тварин. Особливий інтерес представляє дослідження омега-3 та омега-6 довголанцюгових поліненасичених жирних кислот (LC-PUFA), зокрема EPA (ейкозапентаєнова кислота,  $20:5n-3$ ), DHA (докозагексаєнова кислота,  $22:6n-3$ ), і ARA (арахідонова кислота,  $20:4n-6$ ), та їх перетворення в біоактивні медіатори ліпідів. У цьому сенсі нові сімейства ліпідних медіаторів, отриманих з ПНЖК, включаючи резольвіни, отримані з EPA та DHA, та протечини та марезини, отримані з DHA, все частіше досліджуються через їх активну роль у процесі „повернення до гомеостазу” та вирішення запалення [707].

Ліпіди є необхідними елементами раціону як для забезпечення енергією, зокрема за бета-окиснення жирних кислот (ЖК). Жирні кислоти – це найпростіші ліпіди, які, в свою чергу, є компонентами інших більш складних ліпідів. ЖК

містять гідрофільну карбоксильну групу, приєднану до вуглеводневого ланцюга, що варіюється від C<sub>6</sub> (шість атомів карбону) до C<sub>32</sub>, з додатковою кінцевою метильною групою. Більшість існуючих у природі ЖК мають парну кількість атомів карбону та лінійних вуглеводневих ланцюгів, хоча деякі з них, знайдені переважно у бактеріях, можуть містити розгалужені або навіть циклічні структури [3]. Крім того, ці ланцюги можуть бути представлені у двох основних формах, насичених без присутності подвійних зв'язків, або ненасичених, що містять один або кілька подвійних зв'язків, причому останні є більш фізіологічно важливими через свої лікувальні властивості. Особливий інтерес у ненасиченому сімействі становлять довголанцюгові поліненасичені жирні речовини (LC-PUFA), які можна розділити на дві основні групи – омега-3 (n-3) та омега-6 (n-6), залежно від положення першого подвійного зв'язку з метильної кінцевої групи ФА. Поширеними LC-PUFA є EPA (ейкозапентаєнова кислота, 20:5n-3), DHA (докозагексаєнова кислота, 22: 6n-3) та ARA (арахідонова кислота, 20:4n-6).

Оптимальним субстратом процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) є ненасичені жирні кислоти (ПНЖК), а безпосередньою мішенню атаки окиснювальних радикалів – подвійні зв'язки в молекулах цих кислот [3].

Реакції вільнорадикального окиснення та система антиоксидантного захисту (АОЗ) утворюють систему ПОЛ–АОЗ, в основі якої лежить збереження гомеостазу клітин. При дисбалансі системи АОЗ виникають порушення гомеостазу, характер яких залежить від інтенсивності процесів ПОЛ, стану клітинних мембран, структурним компонентом яких є вищі жирні кислоти та вільний холестерол. Поліненасичені жирні кислоти є структурними компонентами біологічних мембран, субстратами ПОЛ та попередниками ейкозаноїдів. Дослідження багатьох авторів свідчать про зміни жирнокислотного складу ліпідів плазми крові та еритроцитів при оксидативному стресі [3].

Відомо, що при патологічних процесах, які супроводжуються процесами пероксидації біомолекул, змінюється ступінь насиченості жирних кислот (ЖК) ліпідів, тому вагоме значення для забезпечення функціонального стану клітин має співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот у ліпідах мембран

[25, 52]. Метою наших досліджень була оцінка жирнокислотного складу ліпідів крові птиці за введення комплексного препарату (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Жирнокислотний склад фосфоліпідів плазми крові перепелів, %  $M \pm m$ ,  $n=3$**

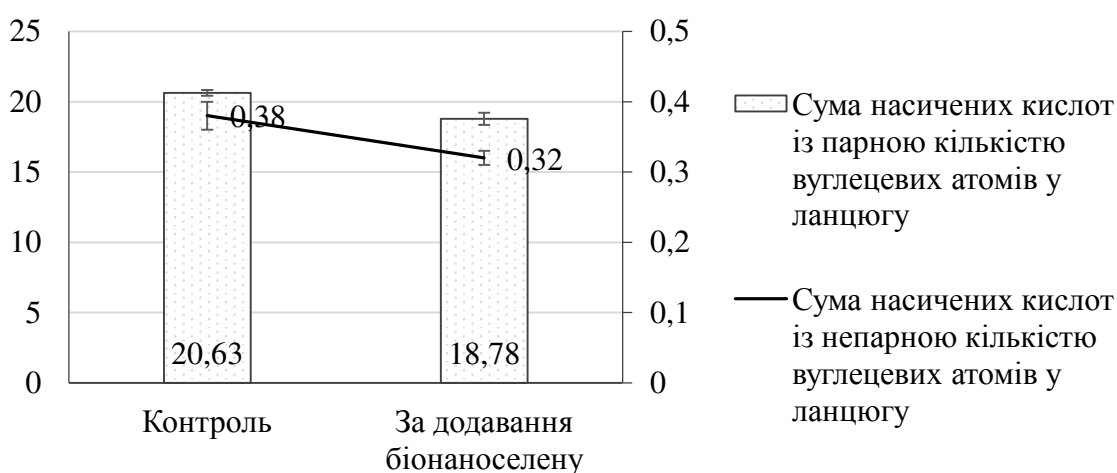
Жирні кислоти, їхній код та родина	Контрольна група	За додавання біонаноселену
Каприлова, 8:0	0,12±0,01	0,09±0,01*
Капринова, 10:0	0,24±0,01	0,20±0,01*
Лауринова, 12:0	0,34±0,01	0,28±0,01*
Міристинова, 14:0	0,56±0,01	0,50±0,01*
Пентадеканова, 15:0	0,38±0,01	0,32±0,01*
Пальмітинова, 16:0	8,85±0,04	8,25±0,17*
Пальмітоолеїнова, 16:1 $\omega$ -7	0,91±0,02	0,88±0,01
Стеаринова, 18:0	10,24±0,14	9,23±0,23*
Олеїнова, 18:1 $\omega$ -9	33,15±0,84	30,44±0,88*
Лінолева, 18:2 $\omega$ -6	14,98±0,45	15,34±0,49
Ліноленова, 18:3 $\omega$ -3	6,68±0,21	6,97±0,23
Арахінова, 20:0	0,28±0,01	0,23±0,01*
Ейкозаєнова, 20:1 $\omega$ -9	0,24±0,01	0,22±0,01
Ейкозадієнова, 20:2 $\omega$ -6	0,30±0,01	0,32±0,01
Ейкозатриєнова, 20:3 $\omega$ -6	1,17±0,01	1,31±0,04*
Ейкозатетраєнова (арахідонова), 20:4 $\omega$ -6	5,34±0,06	5,96±0,14*
Ейкозапентаєнова, 20:5 $\omega$ -3	1,65±0,02	1,82±0,04*
Докозадієнова, 22:2 $\omega$ -6	0,97±0,03	1,22±0,05*
Докозатриєнова, 22:3 $\omega$ -3	1,26±0,02	1,43±0,05*
Докозатетраєнова, 22:4 $\omega$ -6	2,37±0,10	3,05±0,11*
Докозапентаєнова, 22:5 $\omega$ -3	4,47±0,18	5,45±0,16*
Докозагексаєнова, 22:6 $\omega$ -3	5,50±0,16	6,48±0,17*

Дані газохроматографічного аналізу жирнокислотного складу плазми

крові засвідчують, що у птиці 1-ї групи (контроль) спостерігається збільшення насиченості ліпідів сироватки внаслідок підвищення вмісту пальмітинової ( $p < 0,01$ ) та міристинової ( $p < 0,001$ ) жирних кислот, а сума ненасичених жирних кислот була вірогідно зменшена ( $p < 0,001$ ). Підвищення вмісту пальмітинової кислоти свідчить про інтенсифікацію процесів ПОЛ та накопичення лізоформ лецитинової фракції фосфоліпідів. Рівень ПНЖК був вірогідно зменшений у порівнянні з показниками птиці 2-ї групи (дослід) внаслідок зниженого вмісту есенціальних ЖК (лінолевої та ліноленової).

Отже, жирнокислотна формула ліпідів сироватки крові перепелів 1-ї групи характеризується підвищеною насиченістю Гідроеном ліпідного комплексу на фоні дефіциту окремих ПНЖК, що є компенсаторною реакцією, бо саме насичені жирні кислоти мало піддаються процесам пероксидації [51].

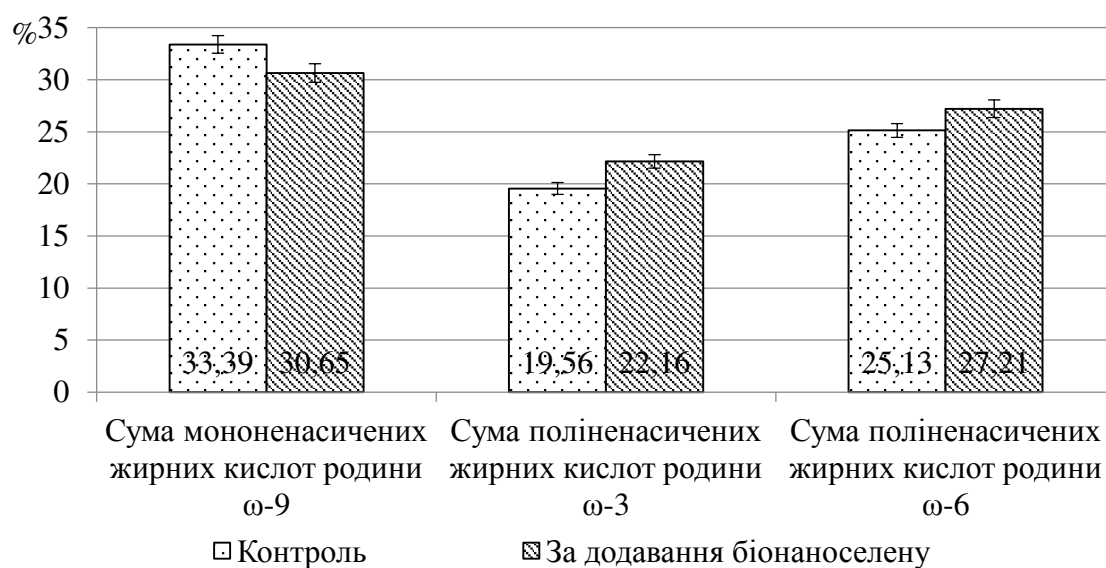
Зафіксовано (рис. 3.7), що в жирнокислотному складі фосфоліпідів плазми крові перепелів за додавання біоаноселену порівняно з інтактними перепелами зменшується відносний вміст насичених жирних кислот із парною (каприлової, капринової, лауринової, міристинової, пальмітинової, стеаринової та арахінової) і непарною (пентадеканової) кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу.



**Рис. 3.7. Вміст насичених кислот у складі фосфоліпідів плазми крові перепелів із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу**

Зафіксовано (рис. 3.8) зменшення вмісту мононенасичених жирних кислот родини  $\omega$ -9 (олеїнової), але збільшується – поліненасичених жирних кислот родин  $\omega$ -6 (ейкозатриєнової, ейкозатетраєнової, арахідонової, докозатетраєнової) та  $\omega$ -3

(ейкозапентаєнової, докозатриєнової, докозапентаєнової та докозагексаєнової).



**Рис. 3.8. Вміст ненасичених кислот родин  $\omega$ -3  $\omega$ -6 та  $\omega$ -9 у складі фосфоліпідів крові перепелів**

Одночасно в жирнокислотному складі фосфоліпідів плазми крові перепелів за додавання біонаноселену збільшується вміст довголанцюгових і ненасичених похідних лінолевої (1,48 проти 1,29) та ліноленової (0,52 проти 0,46) кислот. Оскільки фосфоліпіди є основою ліпопротеїнів, то наведений вище їх жирнокислотний склад може вказувати на покращення транспортувальної функції плазми крові [20].

Виявлений стан жирнокислотного складу ліпопротеїдів сироватки крові перепелів, яким вводили селеніт натрію, є наслідком інтенсифікації процесів ПОЛ і призводить до порушення метаболізму ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів, що узгоджується з літературними даними [3]. При стресі концентрація окремих ПНЖК у мембранах клітин значно підвищується. Однією з важливих функцій ПНЖК є синтез ейкозаноїдів, субстратом яких виступає арахідонова та лінолева жирні кислоти. Метаболіти арахідонової кислоти – простагландини, тромбоксани та лейкотриєни мають високу біологічну активність з широким спектром регуляторної дії.

Після введення препарату наноселену жирнокислотний склад ліпідів нормалізувався внаслідок зменшення вмісту пальмітинової на 18,9 % ( $p < 0,05$ ),



міристинової – на 21,4 %, ( $p < 0,01$ ) та арахідонової – на 19,6 %, ( $p < 0,01$ ) кислот. Дослідження та аналіз даних щодо вмісту індивідуальних жирних кислот у мембранах еритроцитів птахів дослідних і контрольної груп дозволив встановити підвищення відсоткового вмісту ЖК 22:5 ( $\omega$ -3) та 22:6 ( $\omega$ -3) ( $p < 0,05$ ) у мембранах еритроцитів 1-ї групи птиці, що, можливо, є фактором захисту від пероксидного ушкодження мембранних фосфоліпідів, оскільки жирні кислоти  $\omega$ -3 ряду є недосконалим субстратом для цикло- та ліпооксигеназ [52, 316]. Дисбаланс жирних кислот в еритроцитах крові птиці, яким вводили селеніт натрію, характеризується підвищенням умісту окремих поліненасичених жирних кислот (арахідонової та докозагексаєнової,  $p < 0,05$ ). Ефективність використання препарату полягає в нормалізації рівня жирних кислот і відновлення їхнього метаболізму на стадії утворення ейкозаноїдів.

Характер порушень за введення прооксидантного селеніту натрію залежить від інтенсивності процесів ПОЛ, стану клітинних мембран, структурним компонентом яких є вищі жирні кислоти та вільний холестерол. Поліненасичені жирні кислоти – структурні компоненти біологічних мембран, субстрати ПОЛ та попередники ейкозаноїдів є зв'язуючою ланкою цих процесів. Дослідження багатьох авторів свідчать про зміни жирнокислотного складу ліпідів плазми крові, еритроцитів при оксидативному стресі, що супроводжує більшість захворювань. Арахідонова кислота, як і інші ПНЖК, взаємодіють з компонентами дихального ланцюга мітохондрій, гальмують комплекси ланцюга та порушують процеси переносу електронів, що призводить до утворення вільних радикалів у мітохондріях. У фізіологічних умовах, коли концентрація ПНЖК у мембранах мітохондрій є нормальною, цей ефект незначний. При стресі концентрація ПНЖК у мембранах клітин значно підвищується.

У жирнокислотному складі етерифікованого холестеролу плазми крові за додавання біонаноселену знизився вміст насичених жирних кислот із парною (каприлової – на 5,88 %, капринової – на 8,33 %, міристинової – на 5,77 %, пальмітинової – на 1,93 %, лауринової – на 6,25 % й арахінової – на 5,41 %) та непарною (пентадеканової – на 6,25 %) кількістю атомів С у ланцюзі та

мононенасичених кислот родини  $\omega$ -7 (пальмітоолеїнова – на 3,57 %) (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

**Жирнокислотний склад етерифікованого холестеролу плазми крові  
перепелів, %,  $M \pm m$ ,  $n = 5$**

Жирні кислоти та їхній код	Контроль	Дослід
Каприлова, 8:0	0,17±0,01	0,16±0,01
Капринова, 10:0	0,24±0,01	0,22±0,01
Лауринова, 12:0	0,32±0,01	0,3±0,01
Міристинова, 14:0	0,52±0,01	0,49±0,01
Пентадеканова, 15:0	0,32±0,01	0,3±0,01
Пальмітинова, 16:0	8,62±0,11	8,95±0,12
Пальмітоолеїнова, 16:1 $\omega$ -7	1,12±0,03	1,16±0,02
Стеаринова, 18:0	8,99±0,39	9,76±0,31
Олеїнова, 18:1 $\omega$ -9	31,39±1,14	32,66±1,11
Лінолева, 18:2 $\omega$ -6	15,03±0,4	15,37±0,38
Ліноленова, 18:3 $\omega$ -3	5,93±0,06	5,44±0,09**
Арахінова, 20:0	0,37±0,01	0,35±0,01
Ейкозаєнова, 20:1 $\omega$ -9	0,19±0,01	0,21±0,01
Ейкозадієнова, 20:2 $\omega$ -6	0,33±0,01	0,30±0,01
Ейкозатриєнова, 20:3 $\omega$ -6	1,80±0,04	1,74±0,04
Ейкозатетраєнова- арахідонова, 20:4 $\omega$ -6	5,13±0,13	5,42±0,13
Ейкозапентаєнова, 20:5 $\omega$ -3	1,94±0,05	1,53±0,09**
Докозадієнова, 22:2 $\omega$ -6	1,02±0,02	0,98±0,02
Докозатриєнова, 22:3 $\omega$ -3	1,36±0,03	1,15±0,05**
Докозатетраєнова, 22:4 $\omega$ -6	3,22±0,07	2,98±0,07*
Докозапентаєнова, 22:5 $\omega$ -3	5,54±0,16	4,71±0,11**
Докозагексаєнова, 22:6 $\omega$ -3	6,44±0,06	5,82±0,14**

Одночасно встановлено збільшення вмісту стеаринової (на 5 %) та олеїнової (на 4,05 %), а також поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -6:

лінолевої (на 2,26 %), ейкозадієнової (на 10,53 %), ейкозатетраєнової-арахідонової (на 5,6 %).

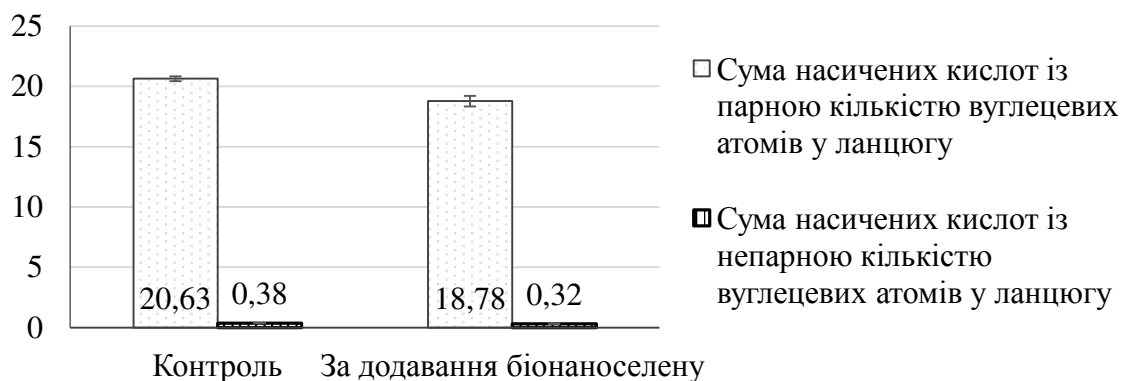
При цьому у дослідній групі перепелів за додавання біоаноселену достовірно знижується вміст кислот родини  $\omega$ -3: лінолевої (на 8,36 %), ейкозапентаєнової (на 21,13 %), докозатри-, пента- та гексаєнових кислот (на 15,44 %, 14,98 та 9,63 % відповідно) та  $\omega$ -6 жирних кислот – докозадієнової та докозатетраєнової (на 3,92 та 7,45 %) й ейкозадієнової та ейкозатрієнової кислот (на 9,09 та 3,33 %). Водночас за додавання біоаноселену не змінюється включення в етерифікований холестерол плазми крові перепелів довголанцюгових і ненасичених похідних лінолевої кислоти, але збільшується включення довголанцюгових і ненасичених похідних лінолевої кислоти (рис. 3.9).



**Рис. 3.9. Вміст ненасичених кислот родин  $\omega$ -3  $\omega$ -6 та  $\omega$ -9 у складі етерифікованого холестеролу плазми крові перепелів**

При цьому за додавання біоаноселену у крові перепелів було встановлено підвищення суми насичених жирних кислот із парною кількістю вуглецевих атомів у ланцюзі на 1,32 %, суми мононенасичених жирних кислот родини  $\omega$ -9 на 6,62 % та суми поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -6 на 10,17 %.

Одночасно встановлено зниження суми насичених ЖК із непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу на 6,25 %, суми мононенасичених жирних кислот родини  $\omega$ -7 на 4 %, суми поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -3 на 2,07 % та співвідношення  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 на 20,19 % (рис. 3.10).



**Рис. 3.10. Вміст насичених кислот у складі етерифікованого холестеролу плазми крові перепелів із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюзі**

Зниження етерифікації холестеролу плазми крові перепелів насиченими та мононенасиченими жирними кислотами за споживання біонаноселену у складі раціону може вказувати на зниження його кристалічності та поліпшення міжтканинного транспортування [30]. Холестерол, що у своєму складі містить велику кількість насичених та мононенасичених жирних кислот, здатний легко відкладатися на стінках кровоносних судин та виявляти атерогенні властивості [67]. В той же час за присутності відносно великої кількості поліненасичених жирних кислот у складі холестеролу він легко транспортується кров'ю та не відкладається на стінках кровоносних судин [67].

Отримані нами результати вказують на поліпшення транспортувальної та протизапальної функції плазми крові перепелів за згодовування біонаноселену у складі комбікорму через зростання вмісту поліненасичених жирних кислот у фосфоліпідах. При цьому у плазмі крові зменшується кількість етерифікованого з насиченими та мононенасиченими жирними кислотами холестеролу.

Однією з важливих функцій ПНЖК є синтез ейкозаноїдів, субстратом яких виступає арахідонова та лінолева жирні кислоти. Метаболіти арахідонової кислоти – простагландини, тромбоксани та лейкотрієни мають високу біологічну активність і належать до прозапальних факторів, які сприяють агрегації тромбоцитів, утворенню прозапальних цитокінів.

Проведені дослідження вказують на позитивний ефект комплексного

препарату на жирнокислотну формулу ліпідів сироватки крові піддослідної птиці. Досліджуваний препарат нормалізує ліпідний склад сироватки крові, сприяючи оптимізації рівня насичених та ненасичених жирних кислот.

### 3.2.4. Жирнокислотний склад мембран еритроцитів крові перепелів

Полієнові жирні кислоти (ЖК) не синтезуються в організмі, але є незамінними вітаміноподібними факторами, які потрапляють з кормом. Від їх нормального вмісту залежать рухливість мембран та виконання ними фізіологічних функцій (диференційна проникність, активний транспорт іонів та метаболітів, захисна та опорні функції, участь у передачі збудження, скоротливості тощо). Пошкодження структурних компонентів мембран у процесі ПОЛ негативним чином відбивається на їхніх функціях.

Метою наших досліджень було визначити склад жирних кислот ліпідів, екстрагованих з еритроцитів крові перепелів, яким вводили досліджувані препарати. У таблиці 3.14 наведено дані щодо вмісту індивідуальних жирних кислот у мембранах еритроцитів птиці дослідної та контрольної груп. У птиці 1-ої групи, порівняно з 2-ою групою, вірогідно зменшується відсотковий вміст кислот 14:0, 16:0 та 18:0. При цьому істотно зростає рівень кислот 20:4 ( $\omega$ -3), 22:3, 22:5 ( $\omega$ -3) та 22:6 ( $\omega$ -3). Причому відсоток 22:6 ( $\omega$ -3) у мембранах еритроцитів перепелів 1-ої групи в 3,2 рази перевищує такий у 2-ій групі, а 20:4 ( $\omega$ -6) – на 33,6 %.

Отже, у птиці, яким вводили прооксидантний наноселен має місце зниження рівня НЖК, а також суттєве зростання рівня основних ПНЖК.

Відомо, що еритроцити не мають власного генетичного апарату, що регулює біосинтез жирних кислот, які переносяться до цих клітин за допомогою ліпопротеїнів дуже низької щільності, головним чином, з печінки, де відбувається їх синтез. В організмі людини та тварин *de novo* можуть синтезуватися лише НЖК та моноєнові жирні кислоти. Зниження вмісту поліненасичених жирних кислот при оксидативному стресі може відбуватися внаслідок зниження інтенсивності їх синтезу *de novo*. Щодо основних ПНЖК п-

3 та n-6 рядів, то вони в організмі тварин не синтезуються з НЖК та МНЖК [52].

Таблиця 3.14

**Розподіл жирних кислот у мембранах еритроцитів перепелів дослідних груп, моль % до загального вмісту жирних кислот,  $M \pm m$**

Жирні кислоти та їх коди	Контроль	За додавання біонаноселену
Міристинова $C_{14:0}$	$0,39 \pm 0,05^{**}$	$0,78 \pm 0,08$
Пентадеканова $C_{15:0}$	$0,18 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,03$
Ізопальмітинова $C_{16:0}$	$0,61 \pm 0,08$	$0,56 \pm 0,06$
Пальмітинова $C_{16:0}$	$30,1 \pm 1,2^*$	$37,8 \pm 2,6$
Пальмітинова $C_{16:0}$	$5,76 \pm 1,1$	$6,28 \pm 0,5$
Маргарінова $C_{17:0}$	$0,45 \pm 0,05$	$0,48 \pm 0,04$
Стеаринова $C_{18:0}$	$12,0 \pm 1,2^*$	$17,1 \pm 1,4$
Олеїнова $C_{18:1}$	$25,2 \pm 4,3$	$24,2 \pm 2,5$
Лінолева $C_{18:2}$	$12,0 \pm 2,5$	$11,1 \pm 1,6$
Ейкозатриєнова $C_{20:3}$	$0,68 \pm 0,05^{**}$	$0,19 \pm 0,05$
Арахідонова $C_{20:4}$	$2,74 \pm 0,3^*$	$1,82 \pm 0,2$
Докозатриєнова $C_{22:3}$	$0,28 \pm 0,04^*$	$0,15 \pm 0,03$
Докозапентаєнова $C_{22:5}$	$0,28 \pm 0,06^*$	$0,12 \pm 0,02$
Докозагексаєнова $C_{22:6}$	$0,16 \pm 0,04^*$	$0,05 \pm 0,01$

Виявлений дисбаланс жирних кислот за введення селеніту натрію може бути пов'язаний з порушенням утворення жирних кислот під впливом елонгаз і десатураз. Після введення комплексного препарату в жирнокислотному складі ліпідів еритроцитів спостерігається нормалізація ліпідних показників, насамперед внаслідок зміни рівня пальмітинової, арахідонової, стеаринової, ейкозо- та докозаполієнових жирних кислот.

Після введення комплексного препарату в жирнокислотному складі ліпідів еритроцитів спостерігається нормалізація ліпідних показників,

насамперед внаслідок зміни рівня пальмітинової, арахідонової, стеаринової, ейкозо- та докозаполієнових жирних кислот.

Відсутність компенсаторного накопичення докозаполієнових жирних кислот у клітинних мембранах еритроцитів птахів 2-ої групи можна розглядати як фактор сприятливого впливу введеного препарату, а також як обґрунтування необхідності призначення птиці комплексних препаратів, що здатні модулювати склад жирних кислот мембран клітин.

Оксидативний стрес супроводжується вивільненням у кров катехоламінів та глюкокортикоїдів із надниркових залоз. Катехоламіни при взаємодії з  $\beta$ -адренорецепторами на поверхні плазматичної мембрани, активують реакції сигнальної трансдукції. Під впливом фосфоліпази відбувається вивільнення ПНЖК з фосфатидилінозиту та фосфатидилхоліну. Ці жирні кислоти здатні на рівні геному зумовлювати репресію генів, що контролюють  $\beta$ -окиснення жирних кислот та експресію білків, що беруть участь у синтезі ліпідів *de novo* [52; 316]. Ендогенний дисбаланс жирних кислот може передувати змінам у складі інших ліпідних класів, зокрема холестеролу. Оскільки ПНЖК є лігандами для деяких факторів транскрипції, що регулюють на генетичному рівні синтез та катаболізм ліпідів, то дисбаланс жирних кислот може бути незалежним фактором різноманітних захворювань [52].

Підвищення відсоткового вмісту 22:5 ( $\omega$ -3), 22:6 ( $\omega$ -3) у мембранах еритроцитів 1 групи птиці є фактором захисту від пероксидного ушкодження мембранних фосфоліпідів, оскільки жирні кислоти n-3 ряду є недосконалим субстратом для цикло- та ліпоксигеназ [52]. Основними внутрішньоклітинними депо декотрих інших ПНЖК є фосфатидилінозитол та фосфатидилетаноламін. Дисбаланс жирних кислот в еритроцитах крові птиці, яким вводили селеніт натрію, характеризується зменшенням кількості основних насичених жирних кислот, а також підвищенням вмісту поліненасичених жирних кислот (арахідонової та докозагексаєнової). Ефективність використання комплексного препарату полягає в нормалізації рівня жирних кислот і відновлення їхнього метаболізму на стадії утворення ейкозаноїдів.

### 3.2.5. Фосфоліпідний склад мембран еритроцитів та плазми крові перепелів за використання сполук Селену

Фосфоліпіди – основний ліпідний компонент клітинних мембран, які безпосередньо приймають участь в основних метаболічних процесах, а більшість властивостей мембран пов'язані з присутністю в них полярних ліпідів, наявність яких визначає інтенсивність вільнорадикального пероксидного окиснення. Інтенсифікація процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) істотно впливає на структуру і функції самого ліпідного бішару мембран. Поява підвищеної кількості активних продуктів ПОЛ є сигналом для активації фосфоліпаз, насамперед фосфоліпази А<sub>2</sub>. Вона відщеплює задіяні в окисному процесі ЖК та їх фрагменти, відщеплює ділянки, що утримують пероксидні, епоксидні групи атомів, переводить їх у гідрофільну форму і вимиває, видаляючи з ліпідного бішару. Розрив ланцюга в молекулі полієнової ЖК проходить у місці локалізації подвійного зв'язку. Активація процесу ПОЛ у мембранах особливо інтенсивна і тривала та супроводжується появою в їх структурі лізоформ фосфоліпідів (лізососфатидилхоліну тощо), альдегідів, кетонів, які пошкоджують структуру ліпідного бішару і потенціюють збільшення проникності й плинності мембран. При цьому відбувається адаптивна перебудова структури ліпідного бішару мембран [3].

Склад фосфоліпідів, їх розташування в мембранах визначають каталітичні властивості мембранозв'язаних ферментів, бар'єрні властивості мембран, їх проникність для різних речовин. У мембранах відбувається процес часткового відновлення компонентів шляхом заміни азотовмісних сполук, що забезпечує взаємоперетворення фосфатидилхоліну і фосфатидилсерину та зміною жирних кислот у мембранних фосфоліпідах [52].

При вивченні складу та природи фосфоліпідів мембран еритроцитів крові птиці, якій вводили препарати, встановлено, що в мембранах еритроцитів птиці, що отримувала селеніт натрію, спостерігається зростання абсолютних рівнів сфінгомієліну, фосфатидилсерину та фософоінозитидів ( $p < 0,001$ ) порівняно з 2-



ю групою птиці (табл. 3.15). Водночас не зазнає вірогідних змін вміст фосфатидилінозиту (ФІ), фосфатидилхоліну та кардіоліпіну. Незначне зменшення вмісту лізофосфатидилхоліну та фосфатидиетаноламіну у мембранах еритроцитів свідчить про гальмування процесів вільнорадикального окиснення [51]. У двох дослідних групах виявлено достовірне збільшення вмісту фосфоінозитів – мінорних компонентів плазматичної мембрани еритроцитів. Встановлено, що фосфоінозитиди активують фосфорилування Akt/PKB, а також серин/треонін кіназу, які активують декілька компонентів та беруть участь у механізмі програмованої клітинної смерті.

Таблиця 3.15

**Вміст фосфоліпідів мембран еритроцитів крові перепелів, %  $M \pm m$**

Показник	Група		
	Контроль	Селеніт натрію	Біонаноселен
Фосфатидилхолін	26,4±0,61	25,8±0,92	25,9±1,13
Сфінгомієлін	23,8±0,44	24,5±0,35	24,9±0,72
Фосфатидилсерин	9,3±0,33	9,8±0,35	10,2±0,19*
Лізофосфатидилхолін	11,4±0,18	10,7±0,27	10,3±0,32*
Фосфоінозитиди	9,9±0,14	11,3±0,25**	11,5±0,22***
Фосфатидиетаноламін	19,2±0,73	17,9±0,32	17,2±0,27*

З урахуванням вищенаведених даних, слід відзначити, що мембрани еритроцитів птиці 1-ї групи характеризуються вірогідними змінами в ліпідному складі порівняно з цими показниками 2-ї групи. Ці зміни, зокрема, стосуються підвищення кількості – 22:5  $\omega$ -3 ( $p < 0,01$ ), загального холестеролу ( $p < 0,01$ ), а також зниження рівня 22:5  $\omega$ -6 ( $p < 0,05$ ). Результати проведених досліджень свідчать про наявність закономірностей у виникненні порушень складу жирних кислот та фосфоліпідів у мембранах еритроцитів птахів, які отримували селеніт натрію. Відомо, що холестерол та сфінгомієлін ущільнюють клітинні мембрани, у той час як фосфоліпіди, які містять великі кількості полієнових жирних кислот (фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин), їх розріджують [316].

Підвищення рівня фосфатидилетаноламіну та фосфатидилсерину у мембранах еритроцитів птахів 1-ї групи компенсує ущільнювальну дію надлишку мембранного холестеролу та сфінгомієліну, що узгоджується з даними інших авторів [52]. Відомо, що за умов пероксидного ушкодження мембрани холестерол може виступати як антиоксидант. Можливо, що підвищення рівня холестеролу після введення селеніту натрію, яке спостерігали в наших дослідженнях, забезпечує неспецифічний протекторний ефект від ушкодження вільними радикалами. В еритроцитах птахів 1-ї групи встановлено підвищений вміст сфінгомієліну ( $p < 0,01$ ), який є прекурсором для вторинних месенджерів (церамід, сфінгозин та сфінгозин-1-фосфат), що приймають участь у клітинних процесах, включаючи диференціацію, старіння, апоптоз та проліферацію. В результаті проведеної роботи встановлено, що антианемічні препарати впливають на проникність еритроцитарних мембран, їх осмотичну та кислотну резистентність. Ефективність їх дії залежить від компонентного складу використаних препаратів. Отже, є переконливі підстави використовувати препарат наноселену молодняку птиці з метою оптимізації показників гомеостазу.

Не зазнав вірогідних змін вміст фосфатидилінозиту (ФІ), фосфатидилхоліну (ФХ), кардіоліпіну (КЛ). Підвищення кількості лізоформ фосфоліпідів лізокардіоліпіну (ЛКЛ), лізофосфатидилхоліну (ЛФХ), лізофосфатидилетаноламіну (ЛФЕА) у мембранах еритроцитів свідчить про активацію вільнорадикального окиснення [52].

Виходячи з вищенаведених даних, можна відзначити, що мембрани еритроцитів перепелів 1 групи характеризуються змінами в ліпідному складі порівняно з показниками птиці 2 групи. Ці зміни, зокрема, стосуються підвищення кількості 22:5 n-3, загального холестеролу (що встановлено в попередніх дослідях), фосфоліпідів (фосфатидилетаноламіну та сфінгомієліну), а також зниження рівня 22:5 n-6 у мембранах еритроцитів.

Результати проведених досліджень свідчать про наявність певних закономірностей у виникненні порушень складу жирних кислот та фосфоліпідів у мембранах еритроцитів птиці, які отримали селеніт натрію. Відомо, що

холестерол та сфінгомієлін ущільнюють клітинні мембрани, у той час як фосфоліпіди з високим вмістом полієнових кислот (фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин), розріджують клітинні мембрани [316]. Отже, підвищення рівня фосфатидилетаноламіну та фосфатидилсерину у мембранах еритроцитів птиці 1 групи компенсує ущільнювальну дію надлишку мембранного холестеролу та сфінгомієліну.

Відомо, що холестерол у деяких випадках може виступати як антиоксидант, особливо за умов пероксидативного ушкодження мембрани [52]. Можливо, що зростання рівня холестеролу після введення селеніту натрію, яке встановлено в наших попередніх дослідженнях, забезпечує неспецифічний протекторний ефект від ушкодження вільними радикалами. Але підвищення рівня холестеролу в клітині може спричиняти зміни у складі інших ліпідів, які впливають на перебіг клітинних функцій та експресію генів.

Встановлено, що в еритроцитах птиці 1 групи підвищений вміст сфінгомієліну. Підвищення відсоткового вмісту 22:5 n-3 на фоні пониження кількості 22:5 n-6 у мембранах еритроцитів птахів 1 групи, можливо, є фактором захисту від пероксидного ушкодження мембранних фосфоліпідів, оскільки жирні кислоти n-3 ряду не використовуються як субстрат для цикло- та ліпоксигеназ [52]. Отже, наведені дані підтверджують відому тригерну роль вільних радикалів та активних форм Оксигену у розвитку мембранних патологій. Ключовим фактором патогенезу захворювань може бути ліпідний дисбаланс, що розвивається у віддаленому періоді після впливу пошкоджуючого фактору [52]. Відомо, що PUFA є попередниками в синтезі моногідроксильованих похідних жирних кислот. Не виключено, що підвищення рівня PUFA у формених елементах крові, спричинене дією АФО, може призводити до накопичення моногідроксильованих похідних жирних кислот в імунокомпетентних клітинах, спричиняючи виникнення імунного дисбалансу, ключова роль якого у патогенезі різних захворювань широко відома [3]. У детоксикації гідропероксидів фосфоліпідів беруть участь внутрішньоклітинні ферменти: глутатіонпероксидаза, фосфоліпідгідропероксид – глутатіонпероксидаза й селеннезалежна глутатіон-S-

трансфераза. Пероксидази містять в активному центрі селенцистеїн, що бере участь у другому електронному відновленні пероксидів. Фосфоліпід-гідропероксид глутатіонпероксидаза може діяти на гідропероксиди фосфоліпідів мембран, тоді як класична глутатіонпероксидаза активно впливає на гідропероксид жирної кислоти, що відщепився внаслідок дії фосфоліпази A<sub>2</sub> [52]. На основі цих позицій стає зрозумілим значення процесів деацилювання-реацилювання у 2-у положенні гліцерину фосфоліпідів у тканинах. Обмін жирними кислотами у 2-у положенні при незмінній молекулі фосфоліпиду розглядають як засіб локального регулювання фізичних властивостей мембран.

Вважають, що фосфоліпід-пероксидаза може втягуватись у модуляцію біологічної активності реакцій, які є пероксидзалежними. Наприклад, для активації циклооксигенази і ліпооксигенази необхідна невелика кількість гідропероксидів ліпідів. За високої концентрації вони діють як інгібітори. Тобто, ПОЛ відіграє важливу роль у сигнальній трансдукції, пов'язаній із регуляцією структури й функції мембран та регуляції метаболізму арахідонової кислоти [3; 52].

Наведені результати досліджень свідчать про наявність певних закономірностей у виникненні порушень складу фосфоліпідів та жирних кислот у мембранах еритроцитів птахів, які отримали селеніт натрію. Підвищення лізоформ фосфоліпідів у мембранах еритроцитів птиці 1 групи свідчить про активацію вільнорадикального окиснення. Введення препарату наноселену призводить до оптимізації цих показників.

### **3.2.6. Дослідження дії різних форм Селену на пероксидне окиснення ліпідів у печінці перепелів**

Вільнорадикальні реакції пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) відбуваються в усіх клітинах організму, регулюючи нормальний перебіг фізіолого-біохімічних процесів. У процесі ліпопероксидації утворюються активні реакційноздатні форми Оксигену, як результат функціонування ланцюга переносу електронів. Знешкодження супероксид-радикалу (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), гідроксильного (OH), нітрокисильного радикалів (NO<sup>•</sup>) і пероксиду гідрогену

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) відбувається за допомоги спеціалізованих ферментативних систем, до яких відносять каталазу, супероксиддисмутазу (СОД), глутатіонпероксидазу (ГПО) та глутатіонредуктазу (ГР). У знешкодженні продуктів ПОЛ бере участь глутатіон та церулоплазмін.

СОД, каталаза і глутатіонпероксидаза – головні ферменти антиоксидантного захисту клітин, що приймають участь у нейтралізації супероксиданіон-радикалу та пероксиду гідрогену, які утворюються в результаті переходу неподільного електрону з мітохондріального ланцюга переносу електронів. СОД перетворює надзвичайно реакційноздатні форми Оксигену, як O<sub>2</sub><sup>-</sup> в H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, що в подальшому розкладається каталазою на воду та Оксиген. Розкладання пероксиду гідрогену в клітинах можливе також і за участі ГПО. Між ферментами, які контролюють реакції перетворення активних форм Оксигену в клітинах, існують складні взаємозв'язки. СОД і каталаза діють єдиною скоординованою парою, при цьому активність ГПО має негативну кореляційну залежність до активності каталази і практично не корелює з активністю СОД.

Супероксиддисмутаза – фермент, що знешкоджує супероксидні аніон-радикали шляхом їх перетворення у менш реакційноздатні молекули пероксиду Гідрогену та триплетного Оксигену за схемою: O<sub>2</sub><sup>-</sup> + O<sub>2</sub><sup>-</sup> + 2H<sup>+</sup> → O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Активність ферменту пов'язана з рівнем редокс-процесів у тканинах, а зниження активності СОД може бути обумовлене збільшенням концентрації H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> і продуктів ПОЛ та нагромадженням сполук, які взаємодіють з іонами металів у її активному центрі.

Каталаза розкладає пероксид гідрогену за реакцією: 2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → 2H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub>.

Активність каталази змінюється у постнатальний період. Пригнічення її ферментативної активності обумовлене дією продуктів радіолізу води [2], а підвищення – інактивацією специфічної протеїнази, що гідролізує каталазу.

У дослідженні встановлено, що додавання препаратів селену у раціон перепелів самостійно (дослідна група 2) та у комбінації із пробіотиком (групи 3, 4) сприяло зростанню активності СОД та її синергіста каталази у тканинах печінки дослідної птиці (табл. 3.16). Найменші зміни у активності ферментів

спостерігалися за використанням селеніту натрію, що викликало зростання активності каталази та СОД на 2,86 та 3,33 % відповідно. Комбінування селеніту із пробіотиком у складі комбікорму дало змогу підняти активність каталази на 11,62 % та СОД на 10,74 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.16

**Активність антиоксидантних ензимів у печінці 35-добових перепелів,**

$M \pm m; n=5$

Група птиці	Показники	
	СОД, ум.од./г	КАТ, мккат/г
1 – контроль (ОР)	6,61±0,18	22,38±0,92
2– ОР + селеніт натрію	6,83±0,31	23,02±0,96
3 – ОР + селеніт натрію з пробіотиком	7,32±0,24*	24,98±0,63
4 – ОР + біогенний наноселен з пробіотиком	7,81±0,29**	25,95±0,47

Глутатіон є центральним метаболітом глутатіонзалежної антиоксидантної системи, який вберігає структуру та функції клітинних мембран від пошкоджень, є донором протонів, відновлює дисульфідні зв'язки, впливає на активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази.

Застосування селеніту натрію (2-а дослідна група) знизило вміст відновленого глутатіону у печінці 35-денних перепелів до рівня 96,88 % від рівня птиці, що отримувала лише стандартний комбікорм (табл. 3.17). Вміст показнику за застосування селеніту натрію та наноселену у комбінації із пробіотиком, навпаки, переважив рівень інтактної птиці на 7,81 % у 3-й та достовірно ( $p < 0,01$ ) на 25 % у 4-й дослідних групах.

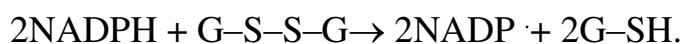
Мінімальний вміст HS-груп білків спостерігався у контрольній групі перепелів і за застосування препаратів селену лише зростав. При цьому селеніт натрію та селеніт натрію у комбінації із пробіотиком у комбікормі підвищили вміст HS-груп білків у печінці перепелів на 2,61 та 4,83 % відповідно, а застосування наноселену – достовірно на 16,17 %.

**Вміст відновленого глутатіону та HS-груп білка у печінці 35-добових перепелів,  $M \pm m$ ;  $n=5$**

Група птиці	Показники	
	Відновлений глутатіон, ммоль/г	HS-групи білків, мкмоль HS-груп/10 <sup>5</sup> г білка
1 – контроль (ОР)	0,64±0,04	238,21±12,74
2– ОР + селеніт натрію	0,62±0,03	244,43±11,23
3 – ОР + селеніт натрію з пробіотиком	0,69±0,03	249,71±21,34
4 – ОР + біогенний наноселен з пробіотиком	0,80±0,02**	276,73±9,82*

Глутатіонпероксидаза – фермент системи захисту від надлишкового окиснення ліпідів мембран клітин. Активний центр ГПО містить два атоми Селену, які зв'язані з цистеїном у вигляді селеноцистеїну. Безпосередню участь у реакціях, що відбуваються за дії ГПО, приймає глутатіон, завдяки його унікальній властивості переходити з відновленої форми в окиснену і навпаки.

*Глутатіонредуктаза (ГР)* [КФ 1.6.4.2], як і глутатіонпероксидаза, локалізована переважно у цитозолі. Головною функцією її є підтримання достатнього рівня активного глутатіону шляхом відновлення його дисульфідної форми за допомогою NADPH як донорів Гідрогену:



Аналогічно змінам активності СОД і каталази, застосування препаратів Селену сприяло зростанню активності глутатіонзалежних ферментів у тканинах печінки дослідних перепелів (табл. 3.18).

При цьому найменше зростання активності ГПО спостерігалось у другій дослідній групі, яка отримувала селеніт натрію у складі раціону (на 6,56 % відносно контрольних показників). Застосування селеніту натрію із одночасним введенням пробіотику, як і застосування наноселену, призвело до достовірного зростання активності ГПО у на 16,42 % у 3-й ( $p < 0,05$ ) та на 27,12 % у 4-й ( $p < 0,01$ ) дослідних групах. Активність ГР, як і активність ГПО, у дослідних

групах переважала контрольні показники, достовірними зміни були у 3-й (15,92 %,  $p < 0,05$ ) та 4-й дослідних групах (26,05 %,  $p < 0,01$ ).

Таблиця 3.18

**Активність глутатіонзалежних ензимів у печінці 35-добових перепелів,**

$M \pm m; n=5$

Група птиці	Показники	
	ГПО, мкмоль/хв×мг білка	ГР, мкмоль NADP·H <sub>2</sub> /хв×мг білка
1 – контроль (ОР)	5,42±0,28	7,41±0,39
2– ОР + селеніт натрію	5,77±0,42	7,97±0,49
3 – ОР + селеніт натрію з пробіотиком	6,31±0,26*	8,59±0,33*
4 – ОР + біогенний наноселен з пробіотиком	6,89±0,31**	9,34±0,38**

Значною зміною клітинного метаболізму є активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), за якого утворюються гідропероксиди ліпідів, дієнові кон'югати та ТБК-активні продукти. Зазвичай їх кількість є величиною сталою, дані проміжні продукти сприяють усуненню руйнівних компонентів дихального ланцюга в мітохондріях, активують проліферацію та диференціацію клітин, транспорт іонів, регулюють проникність клітинних мембран, руйнування пошкоджених хромосом тощо [79]. Збільшення вмісту продуктів ПОЛ може бути ознакою порушення захисної функції організму, а зменшення визначається за хронічних захворювань. Окисний стрес, що розвивається за інтенсифікації процесів ПОЛ, зумовлює зміни в активності мембрано-зв'язаних ферментів, порушення функцій білків, зниження регуляторного впливу гормонів, медіаторів [17]. Визначення вмісту ТБК-активних продуктів у тканинах печінки перепелів є складовою комплексного дослідження можливої токсичної дії препаратів Селену та пробіотиків (табл. 3.19).

Проведене дослідження показало, що найнижчий вміст ТБК-активних продуктів був притаманний контрольній групі, що отримувала лише стандартний комбікорм. Додавання препаратів селену та пробіотику сприяло



переважанню вмісту їх над рівнем вмісту контрольної групи на 6,25–22,25 %. Достовірними зміни були за одночасного застосування із пробіотиком селеніту натрію ( $p < 0,05$ ) та пробіотику із наноселеном ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 3.19

**Вміст ТБК-активних продуктів у печінці 35-добових перепелів,  $M \pm m$ ;  $n=5$**

Група птиці	ТБК-АП, мкмоль/г
1 – контроль (ОР)	16,26±0,21
2– ОР + селеніт натрію	15,29±0,23
3 – ОР + селеніт натрію з пробіотиком	14,12±0,82
4 – ОР + біогенний наноселен з пробіотиком	13,29±0,54**

Результати наших досліджень підтверджуються даними експерименту Xu et al. (2018) [681], в якому встановлено, що біогенні наночастинки Селену (SeNPs), синтезовані за допомогою бактерій *Lactobacillus casei* ATCC 393, зменшували оксидативний стрес в епітеліальних клітинах кишечника, знижували концентрацію кінцевого продукту пероксидного окиснення ліпідів (малонового діальдегіду), підвищували активність селензалежної глутатіонпероксидази.

Дослідженням продемонстровано, що біогенні BNSe<sub>2</sub>, синтезовані за допомогою *L. casei* ATCC 393, захищають кишкову епітеліальну бар'єрну функцію від наслідків оксидативних ушкоджень, нормалізують функції мітохондрій за участю сигнального шляху Nrf2/ARE.

### 3.2.7. Вплив сполук Селену на морфологію органів виділення перепелів

Велику роль у підтримці гомеостазу організму тварин та птиці мають нирки, які видаляють із крові нелеткі кінцеві продукти обміну, чужорідні речовини, продукти азотистого обміну. Порушення ниркового метаболізму за стресових факторів різного походження спричиняє виникнення порушень роботи всього організму, гормональні розлади, порушення яйцекладки, зниження продуктивності та живої маси птиці [210; 222; 299; 458].

Селен (Se) є мікроелементом, що приймає участь у якості кофактору у структурі селенопротеїдів, які регулюють метаболізм гормонів щитоподібної залози, ферментативного антиоксидантного захисту та імунної системи [669]. Нестачу елемента пов'язують із серцево-судинними хворобами, ризиком вірусних інфекцій та підвищеним ризиком смертності [4]. Низький його рівень у сироватці крові часто зустрічається за гострого пошкодження нирок чи хронічного захворювання [669]. Гіпоселенемія сприяє імунній дисфункції та чутливості до інфекційних захворювань за хвороб нирок, що успішно корегується пероральним та внутрішньовенним введенням Se внаслідок зниження вмісту продуктів окисного стресу та оптимізації роботи антиоксидантних ензимів.

У роботі досліджена гістологічна структура нирок перепелів до і під час яйцекладки, проведене морфометричне дослідження отриманих препаратів у віковому аспекті та за надходження препаратів Селену.

Нирки – парний орган сечоутворення, що відіграє важливу роль у забезпеченні гомеостазу. Нирки у перепелів темно-червоного кольору, довгасті, ніби втиснуті у вентральні заглиблення попереково-крижового відділу хребта і клубочкової кістки. Сечовивідна і сечовидільна зони виражені нечітко. Орган поділяється на середню, передню і задню частини. Сечовидільні канальні на вентральному краї нирки з'єднуються в короткі гілки, що відкриваються в сечовід та закінчуються в середньому відділі клоаки. Сечового міхура і сечівника у птахів нема. На гістологічному зрізі ниркової паренхіми помітні розрізані ниркові канальці, стінки яких складаються із епітелію, поряд з якими на зрізі коркової речовини у полі зору знаходяться численні тільця Мальпігі (судинний клубочок, оточений капсулою Шумлянського–Боумена).

Діаметр ниркових клубочків у нирках місячних перепелів (табл. 3.20) становить  $5,49 \pm 0,06$  мкм, у 2-х місячному віці –  $6,92 \pm 0,09$  мкм. Площа поперечного перетину ниркових клубочків становить  $23,89 \pm 0,09$  та  $40,42 \pm 0,17$  мкм<sup>2</sup> у 1- та 2-х місячному віці відповідно.

Ниркові канальці є чутливими до ушкодження. Вони містять велику

кількість лізосом, більш чутливі до активації реакцій пероксидного окиснення ліпідів, ішемії, перевантаження нефрону білком [500].

Таблиця 3.20

**Морфометричні показники нирок перепелів,  $M \pm m$ ,  $n=40$**

Показник	1 місяць	2 місяці
Діаметр судин, мкм	18,36±0,28	14,88±0,32
Діаметр прямих канальців, мкм	2,14±0,08	2,55±0,13
Діаметр ниркових клубочків, мкм	5,49±0,06	6,92±0,09
Площа просвіту судин, мкм <sup>2</sup>	305,12±0,33	226,51±9,26
Площа просвіту прямих канальців, мкм <sup>2</sup>	3,61±0,08	5,53±0,07
Площа поперечного перетину ниркових клубочків, мкм <sup>2</sup>	23,89±0,09	40,42±0,17

До початку періоду яйцекладки діаметр прямих канальців нирок перепелів становить 2,14±0,08 мкм, а площа їх просвіту – 3,61±0,08 мкм<sup>2</sup>. У 2-х місячному віці ці показники становлять 2,55±0,13 мкм та 5,53±0,07 мкм<sup>2</sup> відповідно. З віком певних змін зазнають і судини нирок. У 1-місячних перепелів діаметр судин та площа їх просвіту становлять 18,36±0,28 мкм та 305,12±0,33 мкм<sup>2</sup> відповідно. Під час яйцекладки (у 2-х місячному віці) ці величини дещо знижуються і становлять 14,88±0,32 мкм та 226,51±9,26 мкм<sup>2</sup> відповідно.

Попри токсичність високих рівнів Селену (Se) елемент входить до складу селеноцистеїнів, які контролюють важливі ферментативні реакції [265]. Se-залежні хвороби проявляються як порушення репродуктивної функції, пригнічення росту, білом'язова хвороба. Селеновмісні сполуки попереджують гепатоцелюлярні окисні пошкодження [144], апоптоз кишечника [241] та пошкодження нирок [606]. Дієтичне додавання Селену у складі дріжджів знижує негативний вплив екзотоксикантів, прискорює швидкість клубочкової фільтрації, канальцевої реабсорбції [124], зменшує васкулярну дегенерацію ниркових канальців [575]. Додавання Селену у складі дріжджів нормалізує рівень ліпідної пероксидації, нормалізує активність антиоксидантних ферментів, зменшує смертність птиці, ураження печінки та імуносупресію, захищає ниркові клітини

від окисного стресу та інгібує блокаду клітинного циклу.

У контрольній групі гістологічна будова була нормальною, що проявлялося у вигляді нормальних епітеліальних клітин ниркових каналців з однорідною плазмою та чітко окресленою каналцевою нирковою порожниною. У цитоплазмі проксимальних звивистих каналців епітеліальних клітин спостерігалась велика кількість мітохондрій та шорсткий ендоплазматичний ретикулум. У групах, що отримували препарати Селену, нирки не мали явних змін, порівняно з контрольною групою.

Проведені дослідження дозволили встановити структурну організацію нирок перепелів до і під час яйцекладки, визначити розміри деяких анатомічних структур нирок у віковому аспекті та за надходження препаратів Селену. Отримані результати дослідження гістохімічних змін у нирках перепелів можна використовувати під час проведення подальших досліджень.

### **3.2.8. Розвиток вісцеральних органів перепелів за додавання різних форм Селену**

Дискусія щодо безпечного використання мінеральних, органічних та нанорозмірних препаратів Селену продовжується досить тривалий час, що обумовлено вузьким діапазоном нетоксичних доз та різноманітним впливом на обмінні процеси. Окрім впливу на метаболізм нез'ясованим є вплив кормових препаратів Селену на розвиток (вагу) органів відносно живої ваги, що прямо чи опосередковано впливає на правильну роботу органів та функціонування організму в цілому. Особливо важливим є вивчення вісцеральних органів. Вісцеральні (інтраперитонеальні) органи – внутрішні органи, оточені внутрішнім шаром очеревини. Інтенсивний обмін речовин у птиці обумовлений високим кров'яним тиском та специфікою кровопостачання легенів. На метаболізм в організмі птиці впливає одночасне проходження артеріальної та венозної крові по ворітній системі судин нирок, що сприяє утворенню сечовини як кінцевого продукту білкового обміну. Еритроцити птахів мають ядра, що збільшує тривалість життя цих клітин.

Метою роботи було дослідити розвиток вісцеральних органів перепелів за

індексами мас серця, печінки, селезінки, легенів, нирок та підшлункової залози за додавання до основного раціону годівлі птиці селеніту натрію, неорганічного Селену з пробіотиком та наноселену з пробіотиком.

У дослідженні було встановлено, що використання селеніту натрію, самостійно та у комбінації із пробіотиком, та нанорозмірний Селен у складі комбікорму (рис. 3.11) спричинили тенденцію до зростання індексу маси серця дослідних груп перепелів.

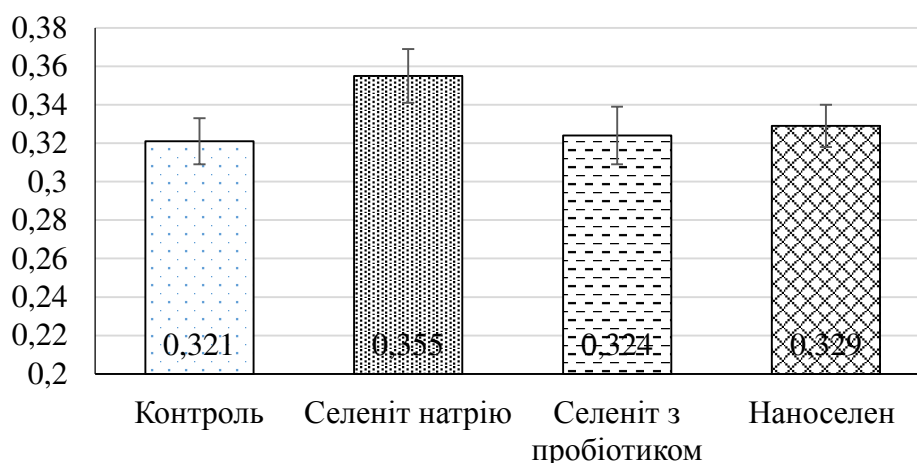


Рис. 3.11. **Індекс маси серця перепелів породи Фараон, %,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Найменший вплив спричинив селеніт натрію у комбінації із пробіотиком (група 3), найбільший – окремо застосований селеніт (група 2). Збільшення маси серця за використання препаратів Селену може трактуватися адекватним зростанням м'язової маси загалом через інтенсифікацію глутатіонзалежної ланки ферментативного захисту. Селен у складі ГПО, ГР та ГТ сприяє продуктивнішому зв'язуванню активних радикалів оксигену, внаслідок чого інтенсифікується білковий та ліпідний обмін, як результат – зростає маса м'язової тканини. Сучасні кроси птиці високої продуктивності перебувають у стані, за якого обмін речовин, функції окремих органів та систем знаходяться на межі норми і патології. У високопродуктивної птиці в особливо напруженому режимі працюють печінка, нирки, ендокринні органи [291].

З початком статевого дозрівання ендокринна система змінює інтенсивність метаболізму з метою створення депо кальцію для формування яєць. Провідну роль у цьому відіграє печінка, яка приймає пряму чи опосередковану участь в

усіх обмінних процесах, а функціональні зміни гепатоцитів спричиняють порушення як у системах органів, так і в організмі в цілому. Печінка – найбільша залоза організму, функціонування якої обумовлює загальне здоров'я птиці, якість її життя та отримання високих показників приросту м'яса та рівня несучості [79]. У органі відбуваються процеси гемопоезу, продукується жовч, печінка приймає участь у вуглеводному, ліпідному та білковому обміні, виконує важливу роль в імуногенезі, процесах зсідання крові, виконує дезінтоксикаційну функцію. Орган легко адаптується до різних умов утримання та годівлі внаслідок інтенсифікації власних функцій. У роботі було встановлено, що індекс маси печінки перепелів, аналогічно індексу маси серця, мав тенденцію до зростання за використання дослідних препаратів (рис. 3.12). Використання наноселену у складі раціону (група 4) обумовило зростання індексу печінки на 5,04 % відносно індексу інтактної птиці.

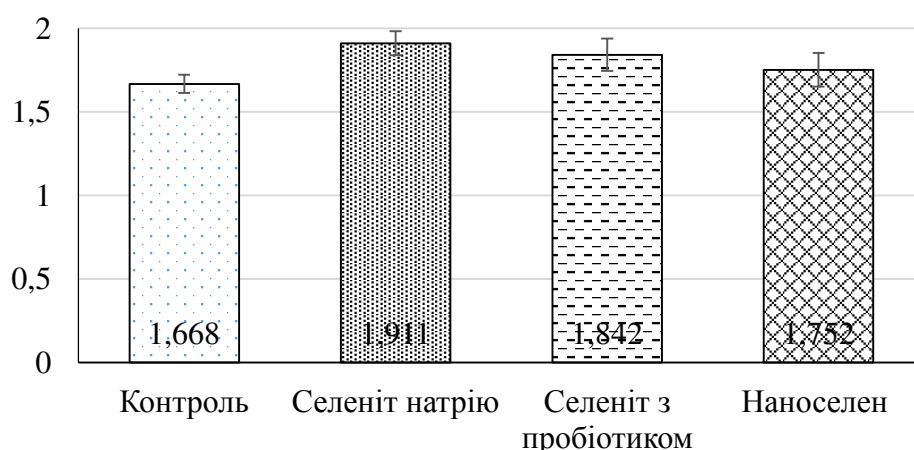


Рис. 3.12. **Індекс маси печінки перепелів породи Фараон, %,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Селеніт натрію у складі раціону збільшив показник достовірно на 14,57 % ( $p < 0,05$ ) відносно контролю. Дані зміни пов'язані із більшою токсичністю неорганічного препарату, порівняно з нано-формою Селену. В той час, як більше співвідношення поверхні до об'єму нанопрепарату дає змогу йому швидше засвоюватись, включатися до складу ферментів та інтенсифікувати прирости маси, селеніт натрію засвоюється повільніше та має токсичний ефект, що проявляється збільшенням маси печінки у відповідь на його введення. Одночасне введення пробіотику із селенітом (група 3) дещо згладжує даний

ефект, проте індекс печінки групи переважає індекс печінки птиці, що отримувала наноселен у раціоні на 5,4 %, що свідчить про більшу токсичність.

Селезінка – важливий орган периферичної ланки імунної системи, яка поєднує в собі ознаки органу гемопоезу та імунної системи [115]. Однією із головних її функцій є участь у імунологічних процесах, захисті організму від шкідливих агентів. Вона є депо крові, вторинним органом лімфопоезу і єдиним органом імуногенезу, який забезпечує імунний контроль крові та виявляє в ній чужорідні агенти, виконує роль біологічного фільтра.

У дослідженні було встановлено, що застосування селеніту натрію у комбінації із пробіотиком (група 3) знизило показник індексу селезінки на 7,07 % у порівнянні із контрольною птицею (рис. 3.13).

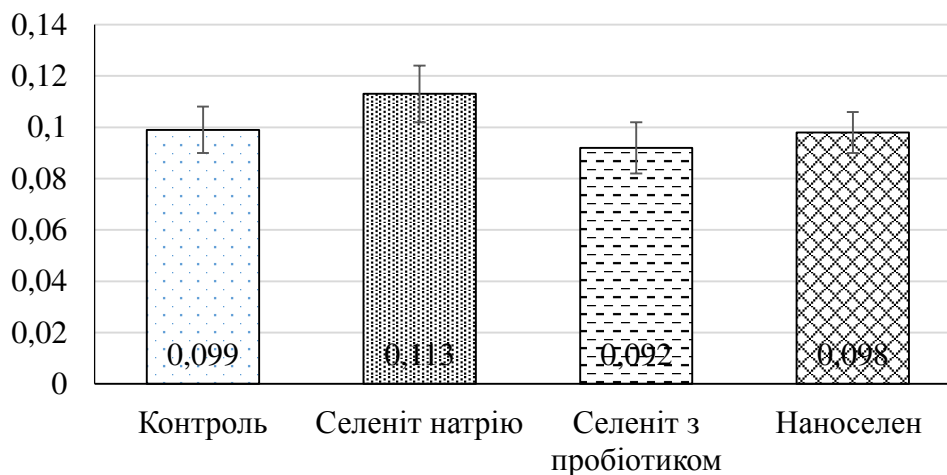


Рис. 3.13. Індекс маси селезінки перепелів породи Фараон, %,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Застосування наноселену практично не змінило величину індексу, на 1 % знизившись відносно показнику 1-ї групи. Згодовування перепелам чистого селеніту натрію у складі раціону, аналогічно індексу печінки та серця, обумовило зростання індексу селезінки на 14,14 % понад рівень інтактної птиці, що може свідчити про підвищену імунну відповідь організму птахів на застосування препарату.

Селезінка здійснює екстрамедулярний гемопоез, синтезує речовини різних груп, приймає участь в обміні речовин. Втрата селезінки або її структурні пошкодження призводять до значних порушень імунної системи [28; 115]. Вважають, що селезінка птахів здійснює руйнування еритроцитів та

утворення лімфоцитів, та, на відміну від селезінки ссавців, не депонує кров [42]. Високий рівень метаболізму птахів спричиняє високу потребу у надходженні кисню до їх організму, що впливає на розвиток та масу легень.

Результати дослідження свідчать, що застосування селеніту натрію у складі комбікорму, самотійно чи у комбінації із пробіотиком, обумовило зростання індексу легенів на 16,94 та 11,29 % відповідно у порівнянні із інтактною птицею (рис. 3.14).

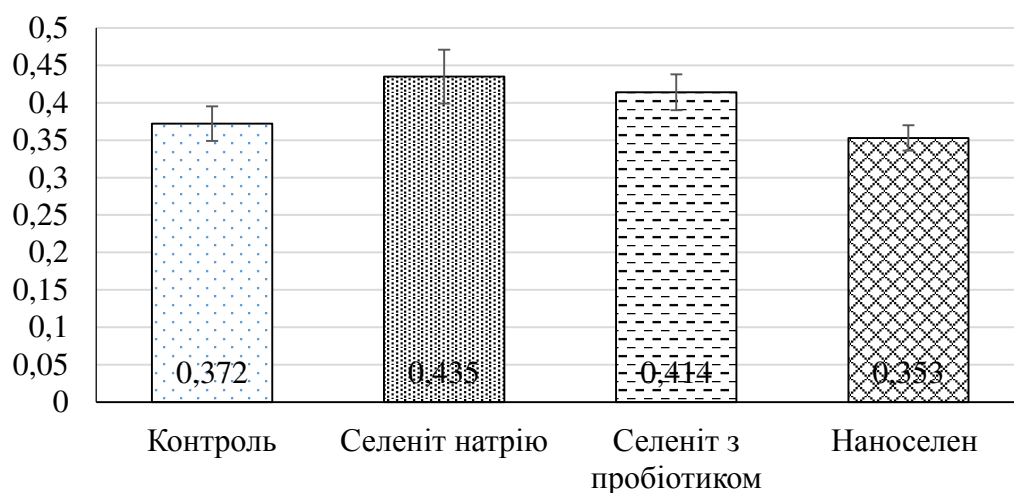


Рис. 3.14. Індекс маси легенів перепелів породи Фараон, %,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Використання наноселену зменшило величину показника на 5,11 % відносно інтактної птиці. Вірогідно, зменшення індексу легень у 4-й дослідній групі пояснюється сприянням наноселену інтенсивнішому газообміну всередині легень, а застосування неорганічної форми селену, через певний токсичний ефект, спричинений на печінку та селезінку, зумовлює адаптивне зростання маси легень задля збільшення кисневої інактивації токсичних метаболітів.

Органи сечовиділення птахів складаються з нирок і сечоводів, що впадають у середню частину клоаки. Сечовий міхур та сечоводи у птахів відсутні. Нирки характеризуються поліфункціоналізацією, приймають участь у волюморегуляції, осморегуляції, іонній регуляції, стабілізації рН крові, регуляції артеріального тиску, еритропоезу, згортанні крові, а також для них притаманна інкреторна, метаболічна та екскреторна функції.

Результати досліджень свідчать, що застосування препаратів Селену та



пробіотику спричиняють тенденцію до зниження індексу нирок на 7,93–4,76 % (рис. 3.15). Найбільше зниження показнику відносно інтактної птиці спостерігалось у 3-й дослідній групі, що отримувала одночасно селеніт натрію та пробіотик, найменше – за застосування наноселену (4-а дослідна група). Значне зниження маси нирок може свідчити про зниження функціональності видільної системи, уповільнення виділення токсичних кінцевих продуктів обміну і, як результат, втрату продуктивності через накопичення токсичних метаболітів.

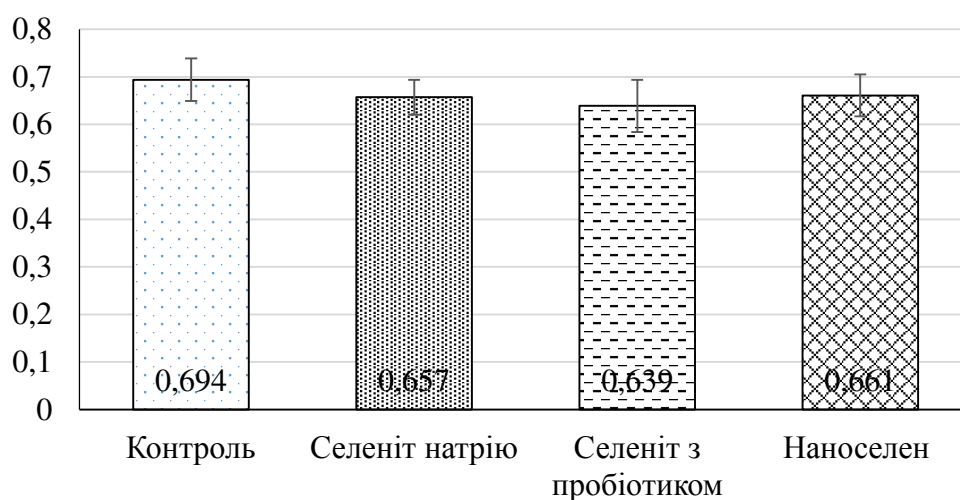


Рис. 3.15. **Індекс маси нирок перепелів породи Фараон, %,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Підшлункова залоза птахів розташована мезоперитонеально: головка та тіло в черевній порожнині, хвіст у позаочеревинному просторі [58]. Залоза містить островці ендокринної тканини, які секретують інсулін, глюкагон, соматостатин, панкреатичний поліпептид, ліпокаїн тощо та секретуються травні ферменти. Підвищення секреції інсуліну веде до збільшення поглинання глюкози клітинами тканин і відкладання в печінці та м'язах глікогену, зниженню концентрацію глюкози в крові.

Використання селеніту натрію та пробіотику (група 3) та наноселену (група 4) обумовило зростання індексу підшлункової залози на 7,88 та 5,45 % відповідно, що може свідчити про більшу гормональну активність органу і, як результат, ефективніше використання вуглеводів корму (рис. 3.16).

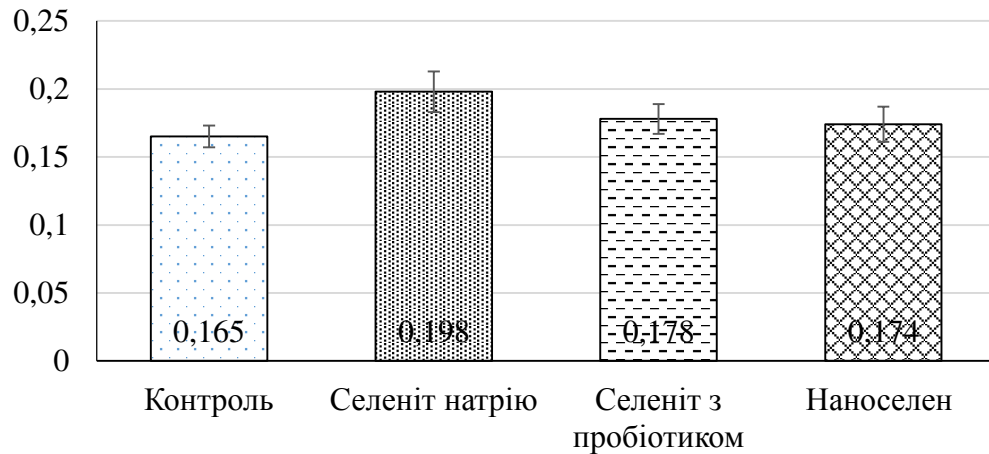


Рис. 3.16. Індекс маси підшлункової залози перепелів, %,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Значне зростання індексу залози, показане за застосування чистого селеніту натрію у складі раціону (20 % понад рівень показнику у контролі) свідчить про функціональну неспроможність гормональної активності та зростанням маси підшлункової компенсувати кількість синтезованих гормонів. Таке некомпенсоване зростання маси призводить до зниження вуглеводного та ліпідного обмінів, енергетичних втрат та захворювань підшлункової залози.

### 3.2.9. Прирости маси тіла молодняку перепелів за додавання сполук Селену

У збалансованому раціоні доречно застосовувати біологічно активні речовини та пробіотики, які дозволяють отримувати високоякісну продукцію від здорового поголів'я без застосування кормових антибіотиків.

Важливим компонентом раціону є продукти, що комбінують пробіотичну мікрофлору та сировину рослинного і тваринного походження. В останні роки використання пробіотичних добавок спрямовані на корекцію мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту [1] за несприятливих умов ведення птахівництва.

Додавання пробіотичних добавок до кормів підвищує біодоступність поживних речовин, стан здоров'я, імунітет, продуктивність та збереження птиці. Добавки Селену з використанням неорганічних і органічних форм застосовуються для підвищення темпів зростання і підвищення антиоксидантного захисту організму. Однак дані форми мають обмеження:

вузький інтервал безпеки, неспецифічне зв'язування з тканинними білками. Альтернативною формою можуть слугувати наночастинки Селену, що мають кращу біодоступність, відносно високий запас безпеки і низьку токсичність.

Результати дослідження свідчать, що використання у раціоні перепелів пробіотику (*L. plantarum*) та препаратів Селену (селеніт натрію та біонано-Se) призводять до переважання птиці дослідних груп за масою тіла контрольних аналогів (рис. 3.17).

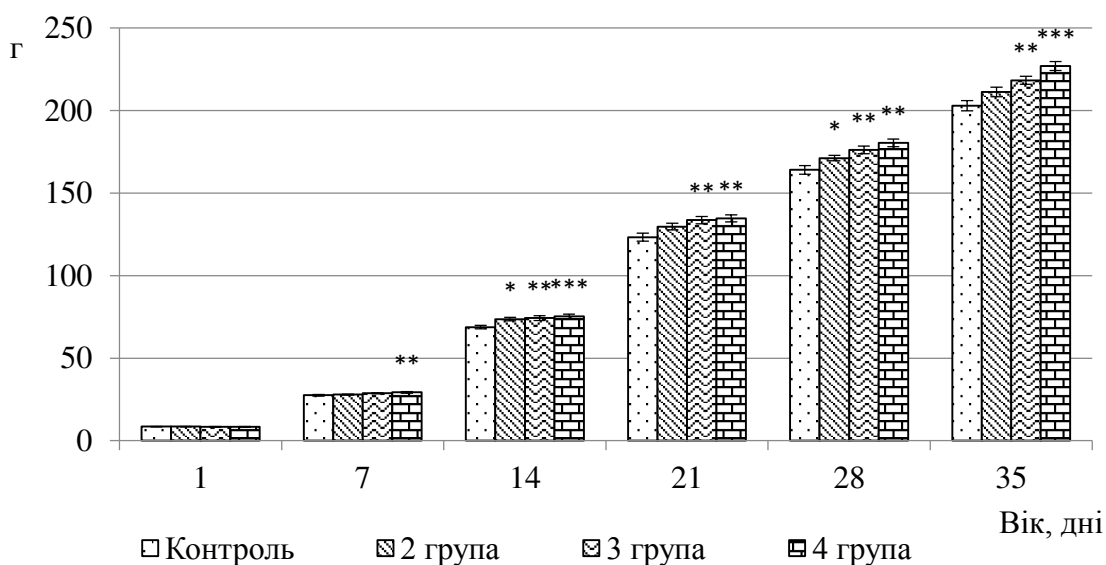


Рис. 3.17. **Маса тіла перепелів:** за додавання неорганічного Селену (2 група), неорганічного Селену з пробіотиком (3 група) та нано-Селену з пробіотиком (4 група), г,  $M \pm m$ ,  $n=12$

Добові перепелята контрольної та дослідних груп не мали значної відмінності у масі тіла, що й слугувало відбору їх та формуванню з них за методом аналогів груп для дослідження. У результаті проведених досліджень встановлено зростання маси тіла птиці, що різнилося залежно від використання препарату Селену чи пробіотику. Найменше зростання маси показало використання селеніту натрію у раціоні (група 2), що було достовірним у 14-, 21-добовому віці перепелів ( $p < 0,05$ ) та на 28-у добу експерименту ( $p < 0,01$ ). Абсолютні прирости маси тіла даної групи переважали контрольні показники на 1,7–10,9 %. Використання пробіотику у складі раціону (група 3) достовірно підвищувало масу тіла перепелів з 14-доби експерименту до кінця досліджу, що

переважало контрольні показники приростів з різницею маси тіла відносно контролю на 4,2–8,3 %.

Найінтенсивніший вплив на масу тіла перепелів справило використання у складі раціону птиці біонаноселену у комплексі з пробіотиком. Маса тіла перепелів даної дослідної групи достовірно переважала контрольні показники впродовж експерименту з фінальним показником 11,8 %.

Відповідно до маси тіла зазнали змін і абсолютні прирости дослідних перепелів (рис. 3.18).

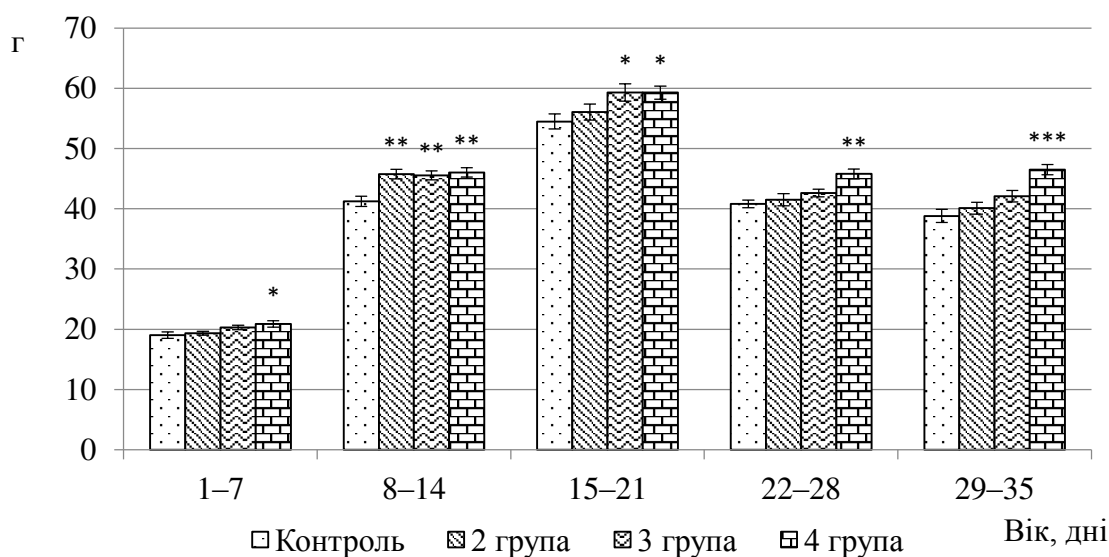


Рис. 3.18. Абсолютні прирости маси тіла перепелів, г,  $M \pm m$ ,  $n=12$

Використання селеніту натрію у раціоні птиці обумовило тенденцію до зростання абсолютного приросту маси перепелів другої дослідної групи порівняно із контрольними аналогами із достовірним показником впродовж другого ( $p < 0,001$ ) та шостого ( $p < 0,05$ ) тижня вирощування, що може бути обумовлено ювенальною зміною оперення та перебудовою організму до початку яйцекладки, що є стрес-чинником для організму птиці.

Абсолютні прирости маси тіла у групі 3, що разом із комбікормом отримувала *L. plantarum* у кількості  $2,5 \times 10^6$  КУО на голову/добу, на 4,4–10,5 % переважали показники контрольної групи. Достовірними показники були впродовж перших двох тижнів дослідження та наприкінці експерименту.

Птиця, що отримувала біонано-Se у складі раціону, за абсолютними

приростами достовірно переважала показники контрольної групи на 8,8–19,8 %. При цьому показники були вірогідними у перепелів 4-ї групи впродовж всього експерименту.

Аналогічна тенденція спостерігалася стосовно середньодобових приростів маси тіла молодняку перепелів (рис. 3.19).

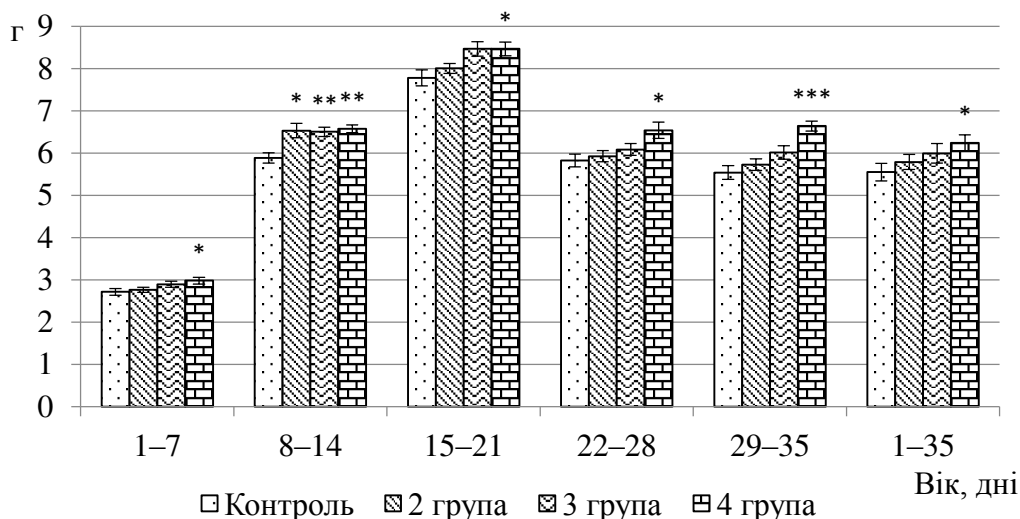


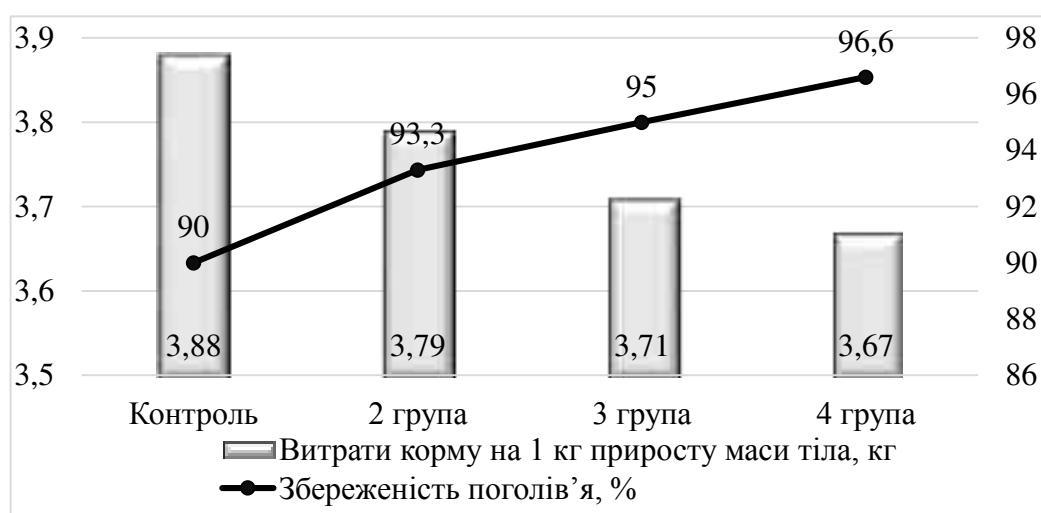
Рис. 3.19. **Середньодобові прирости маси тіла перепелів, г,  $M \pm m$ ,  $n=12$**

Найвищими показниками характеризувалися перепела 4-ї дослідної групи, що отримували біонано-Se у складі комбікорму у кількості 0,3 мг/кг корму. Аналогічно абсолютним приростам, достовірними зміни середньодобових приростів були впродовж всього періоду експерименту. Така динаміка дала змогу середньодобовим приростам 4-ї дослідної групи достовірно перевершити контрольні показники у середньому за період дослідження на 11,8 %. Дещо нижчими були показники у перепелів, що отримували пробіотик (група 3), достовірно впродовж другого ( $p < 0,01$ ) і третього ( $p < 0,05$ ) тижня експерименту. Найменше переважали контрольні показники середньодобових приростів перепела, що отримували селеніт натрію у складі раціону у кількості 0,3 мг/кг  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (група 2). Тенденція спостерігалась впродовж усього експерименту з достовірною перевагою ( $p < 0,05$ ) впродовж другого тижня дослідження.

Отже, за показниками росту перепелів встановлено, що птиця, яка споживала разом із комбікормом наноселен та пробіотик, перевищила аналоги контрольної та інших дослідних груп за показниками маси тіла, абсолютного та

середньодобового приростів. Такі результати пов'язані із легшим засвоєнням біонано-Se, на відміну від селеніту натрію, у шлунково-кишковому тракті перепелів та інтенсивнішим включенням першого у метаболізм, зокрема у склад ферментів антиоксидантного захисту (глутатіонзалежні ензими) та гормонів щитоподібної залози, що дало змогу перепелам, що отримували біонано-Se, проявити вищі прирости та масу тіла.

Одночасно із вивченням впливу на організм перепелів препаратів Селену та пробіотику, доданих до раціону, за зміною маси, абсолютних та середньодобових приростів маси тіла птиці, вивчали зміни витрат корму на одиницю приросту маси тіла та збереженість дослідного поголів'я (рис. 3.20).



**Рис. 3.20. Витрати корму на 1 кг приросту маси тіла, кг та збереженість поголів'я перепелів**

Результати дослідження свідчать, що перепела дослідних груп, що отримували селеніт натрію, *L. plantarum* та біонано-Se показали менші витрати корму на 1 кг приросту маси тіла порівняно із контрольними аналогами на 2,72 %, 4,40 та 5,4 % відповідно та вищу збереженість поголів'я на 3,4 %; 5 та 6,7 %. Нормальна кишкова мікрофлора утворює відносно стабільну систему організму тварин та птиці [129; 427], однак дефіцит поживних речовин, що виникає при інтенсивному вирощуванні та різноманітні стрес-чинники зовнішнього середовища можуть порушувати рівновагу системи [129; 206; 281]. Тому одним із ефективних способів збереження якісного і кількісного складу та

біохімічної активності нормальної мікрофлори є використання раціонів, збагачених лактобацилами, які запобігають розвитку захворювань та активують імунну відповідь.

Лактобацили приймають участь у процесах формування системної та місцевої імунної резистентності [1] завдяки своїм універсальним імуномодельючим властивостям. *L. plantarum* утворюють асоціації зі слизовою оболонкою кишечника, взаємодіють з епітеліальними та імунокомпетентними клітинами та М-клітинами пейєрових бляшок, стимулюють імунну систему через активацію механізмів гуморальної та клітинно-опосередкованої імунної відповіді [347], а також функції ретикуло-ендотеліальної системи кишкового тракту та продукування цитокінів.

Лактобактерії активують проліферацію та диференціацію імунокомпетентних клітин [308], приводять до індукції синтезу імуноглобулінів на місцевому та системному рівнях [680], стимулюють скоротливі функції кишечника, сприяючи травленню. Лактобактерії проявляють антиканцерогенні властивості, посилюючи цитотоксичні функції Т-лімфоцитів, макрофагів та клітин-кілерів [516; 517], приймають участь у формуванні феномену «оральної толерантності» до харчових антигенів.

*L. plantarum* відносять до нормальної мікрофлори групи грам-позитивних молочнокислих організмів, що ферментують 25 вуглеводів до лактатної кислоти [517]. Антимікробні речовини, вироблені *L. Plantarum*, є альтернативою антибіотикам, адже блокують рецептори для грам-негативних та позитивних бактерій [427]. *L. Plantarum* проявляють ензиматичні властивості, здатні знижувати кількість патогенних мікроорганізмів, зокрема бактерії групи кишкової палички, *Candida Albicans*, *Candida Enteritis*, *Shigella*, *Salmonella*, *Listeria* тощо [129; 281]. *L. plantarum* стабільні за високих температур (98 °C) та високої кислотності (pH 1,2–2,0) [547; 640], що дає змогу використовувати їх як засіб транспортування *in vivo* терапевтичних сполук чи білків.

*L. plantarum* притаманна антиоксидантна активність, здатність підтримувати проникність кишечника [427; 516; 691], пригнічувати ріст

газоутворюючих бактерій, знижувати симптоми синдрому подразненого кишечника [89], нормалізувати баланс мікробіоти та стабілізувати структуру травних ензимів [691]. *L. plantarum* здатні індукувати інтерферон, зменшувати пухлинну активність [89; 691], збільшують нейротрофічний фактор гіпокампу, що дає змогу використовувати їх у лікуванні хвороб нервової системи [267].

*L. plantarum* проявляють антивірусну активність. Клітини Панета, атакуючи віруси, продукують інтерлейкін (IL-1 $\beta$ ), що призводить до відшарування щільної оболонки кишечника та вторинного мікробіального/грибкового інфікування [419]. *L. plantarum* здатні руйнувати IL-1 $\beta$ , знімаючи запалення та прискорюючи відновлення кишечника впродовж кількох годин. У досліджах продемонстровано, що біогенні BNSe2, синтезовані за допомогою *L. casei* ATCC 393, захищають кишкову епітеліальну бар'єрну функцію від наслідків оксидативних ушкоджень, нормалізує функції мітохондрій, за участю сигнального шляху Nrf2 / ARE [488].

Результати досліджень відображені у працях [7; 10; 11; 12; 13; 41; 73; 74; 84; 85; 87; 94; 87; 88; 89; 90; 92; 94; 95; 100; 101; 102; 103; 106; 107; 108; 159; 160; 162; 622; 618; 621; 623; 624; 626; 628; 629].

### **3.3. Характеристика наночастинок діоксиду церію**

#### **3.3.1. Біотехнологія використання нанокристалічного діоксиду церію**

Аналізуючи відомі способи одержання композицій, що містять наночастинок оксиду церію, необхідно зазначити наступне:

1. Як правило, всі процеси проводять у дві стадії: на першій стадії отримують наночастинок діоксиду церію, на другій – повторно редиспергують їх у розчині стабілізатору;
2. Більшість відомих водних розчинів наночастинок діоксиду церію нестабільні, особливо при зміні рН у зону, більше рН 6;
3. У якості стабілізатору використовують токсичні хімічні сполуки; при цьому одержані розчини неможливо використовувати у біологічних системах;
4. Відсутній адекватний спосіб очистки колоїдного розчину наночастинок



діоксиду церію від домішок, зокрема вихідних речовин, що не прореагували, та побічних продуктів реакції;

5. Розмір наночастинок діоксиду церію є визначальним для його споживчих (каталітичних, антиокиснювальних) властивостей; із зменшенням розміру активність наночастинок підвищується.

Мінімальний розмір одержаних нині наночастинок – більше 3 нм.

Завдання дослідження полягало у розробці більш досконалого, одностадійного способу одержання наночастинок діоксиду церію, стійких у широкому діапазоні водневого показника (рН), особливо у слабокислій, нейтральній і слаболужній зоні, що відповідає значенню рН біологічних систем, а також фармацевтичних і косметичних композицій.

У результаті реалізації даного винаходу створюється стабільний прозорий продукт, що розчиняється у водних системах. Спосіб, що пропонується, дає змогу одержати водний колоїдний розчин наночастинок діоксиду церію з можливістю керування розміром частинок, зокрема з можливістю одержання частинок ультрамалого розміру  $< 2$  нм. Це дає можливість одержати стабільний продукт, який об'єднує в собі споживчі властивості наночастинок діоксиду церію та пониженою токсичністю допоміжних компонентів, що дозволить забезпечити весь комплекс характеристик високоефективного застосування у всіх сферах промисловості. Вказані технічна задача та технічний результат досягаються завдяки способу одержання композиції, що містить водорозчинні наночастинок діоксиду церію, в якому використовують розчин солі церію, та контролюють водневий показник розчину.

Процес синтезу проводять за наявності стабілізатору, в якості якого використовують полікарбонат. Як полікарбонат, використовують полікарбонові кислоти та/або їх похідні, а саме поліакрилову кислоту. В якості полікарбонату можна використовувати поліакрилат лужного металу або амонію. Найменш токсичною і біологічно толерантною із даної групи сполук є поліакрилова кислота та/або її водорозчинні солі лужних металів або амонію. Ці сполуки виконують функції регулятору розміру (темплату) наночастинок

діоксиду церію у момент утворення *in situ*, стабілізатору і редиспергуючого агенту при очищенні системи від домішок. При цьому для стабілізації системи вміст полімеру повинен бути не меншим 5 груп карбоксилату на одну наночастинку, переважно не меншим 10–20 груп, або для поліакрилової кислоти не меншим 0,5 масової частки на 1 масову частку діоксиду церію, переважним є співвідношення не менше 1:1 – 2:1. Надлишок полімеру-стабілізатору у системі є допустимим і не погіршує її фізико-хімічних параметрів.

Для забезпечення регулювання розміру наночастинок, підтримують водневий показник розчину солі церію та стабілізатору вище значення рН гідролізу солі церію і нижче рН розчину солеутворення полікарбоксилату. Розмір наночастинок діоксиду церію можна регулювати шляхом зміни параметрів процесу (часу і температури) при значенні рН розчину вище значення рН гідролізу водорозчинної солі церію і нижче рН розчину солеутворення похідних полікарбонових кислот. Під час проведення процесу без експозиції при значенні рН розчину вище значення рН гідролізу водорозчинної солі церію і нижче рН розчину солеутворення похідних полікарбонових кислот, можна одержати ультрамалі наночастинки діоксиду церію розміром у межах  $\sim 1$  нм. Одержану композицію, що містить наночастинки і стабілізатор, очищують від вихідних речовин, що не прореагували та/або продуктів реакції, методом термостатування або редиспергування (переосадження). У першому випадку очищення здійснюють шляхом висушування і витримки готового продукту у термостаті за температури 110–130 °С впродовж 12–24 годин. Механізм оснований на здатності поліакрилату амонію при нагріванні переходити у слабозчинний поліамід (поперечнозшитий поліїмід). При цьому водорозчинні неорганічні солі можна легко відмити, а потім перевести поліамід у поліакрилат термогідролізом у водному розчині. При використанні редиспергування механізм очищення оснований на здатності наночастинок діоксиду церію, покритих поліакрилатом, оборотно коагулювати при зниженні рН розчину

нижче точки солеутворення поліакрилату амонію. Після відмивання декантацією або центрифугуванням осад знову переводять у розчин шляхом підвищення рН. Спосіб одержання ультрамалих водорозчинних наночастинок діоксиду церію, може бути реалізований наступним чином.

У ємності готують водний розчин солі церію; при цьому значення рН розчину повинно бути нижче значення початку гідролізу солі церію. В систему вводять полікарбоксилат і перемішують до повного розчинення. Після чого рН розчину підвищують уведенням розчину лугу. В якості розчину лугу використовують водний розчин лужного металу або аміаку. При рН вище значення початку гідролізу солі церію, але нижче значення солеутворення карбоксилату спостерігається утворення гелю гідроокису церію, який переходить у золь. Витримування системи при даних значеннях рН і температура проведення реакції визначають розмір частинок, що утворюються. Для досягнення мінімального розміру наночастинок діоксиду церію  $<3$  нм, процес ведуть за нормальних умов і перехід системи із гелю в золь пропускають. Після підвищення рН розчину до значень  $>8$ , полікарбоксилат переходить у сіль і формує стійку заряджену оболонку на поверхні наночастинок, яка перешкоджає коагуляції системи. Нагрівання системи шляхом кип'ятіння, автоклавування та/або висушування, а також обробки у термошафі веде до зниження кількості води у гідратній оболонці наночастинок і вільних гідроксильних груп на поверхні оксиду церію.

Утворений прозорий водний розчин наночастинок діоксиду церію, стабілізований полікарбоксилатом, може використовуватися як готовий продукт або бути очищеним. Для очищення системи пропонуємо два методи: термостатуванням та редиспергуванням (переосадженням).

Згідно з першим методом систему висушують і витримують у термостаті впродовж 12–20 годин за температури 110–130 °С. Сухий продукт подрібнюють і диспергують у воді, при цьому неорганічні солі переходять у розчин і відмиваються. Потім за допомогою розчину лугу підвищують значення рН розчину до  $>8$  і система знову переходить у стан прозорого розчину. Механізм оснований на здатності поліакрилату амонію у разі нагрівання

переходити у слабозчинний поліамід (і поперечнозшитий поліїмід).

При цьому, водорозчинні неорганічні солі можна легко відмити, а потім перевести поліамід у поліакрилат термогідролізом у водному розчині.

Згідно з другим методом, для очищення розчину, рН знову знижують підкисненням до значень нижче солеутворення полікарбонату, що призводить до утворення агломератів наночастинок і збільшення розміру частинок у системі. Якщо вміст полімеру-стабілізатору у системі близький до мінімального, розділення відбувається мимовільно.

При більш високих концентраціях стабілізатору може утворюватися високостійкий золь. У цьому випадку коагуляцію і седиментацію частинок зумовлюють додаванням до розчину поліакриламід (потрібна кількість, зазвичай, не більше  $10^{-4}$  %). Після обробки поліакриламід нагріванням гідролізують у поліакрилову кислоту (поліакрилат амонію), і забруднення системи побічними продуктами не відбувається. Після розшарування осад відділяють декантацією або центрифугуванням, декілька разів промивають дистильованою водою аби відділити розчинені солі та надлишок вільного полімеру-стабілізатору. Осад переводять у розчинний стан підлужненням (утворенням солі полікарбонату) і використовують як готовий продукт, або упарюють і/або сушать з утворенням твердого водорозчинного продукту. Спосіб дає змогу одержувати ультрамалі стійкі у водному розчині наночастинок діоксиду церію, які очищені від сторонніх домішок та надлишку полімеру-стабілізатору.

За внесення краплі краплини 3 %-ного розчину  $H_2O_2$  починається окиснення поверхні наночастинок (рис. 3.21). У подальшому вся система переходить в окиснений стан і флуоресценція зникає. Після інактивації вільних радикалів і розкладу пероксиду гідрогену система регенерує і повертається у вихідний стан. Через 24 години флуоресценція майже відновлюється. У разі зберігання у відкритій склянці (нормальні умови) повна регенерація відбувається через 96 годин, за кип'ятіння – через 3 хвилини.

Синтезовані наночастинок характеризуються високою активністю в окисно-відновних процесах за інактивування пероксиду гідрогену (рис. 3.22). При цьому

після виведення вільних радикалів та активних форм кисню, наночастинки діоксиду церію регенерують і можуть знову брати участь у редокс-процесах.

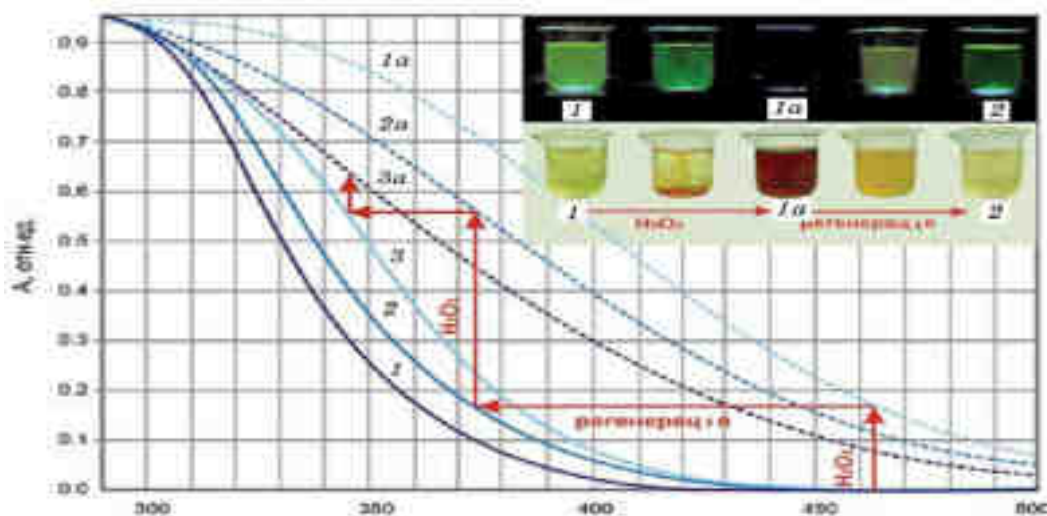


Рис. 3.21. Динаміка зміни УФ-спектрів поглинання 0,3 мМ водного розчину НДЦ, (розмір часток 2–3 нм), у процесі обробки за рН 8: 1 – вихідний колоїдний розчин; 1а – розчин після введення 1 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 2 – розчин після експозиції 3 годин за 37 °С; 2а – повторне введення 1 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 3 – розчин після експозиції 3 годин за 37 °С; 3а – чергове введення 1 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Вгорі на картинці – люмінесценція розчинів 1, 1а і 2 під дією опромінення і перехідні стани. Знизу на картинці – ті ж розчини при природному освітленні.

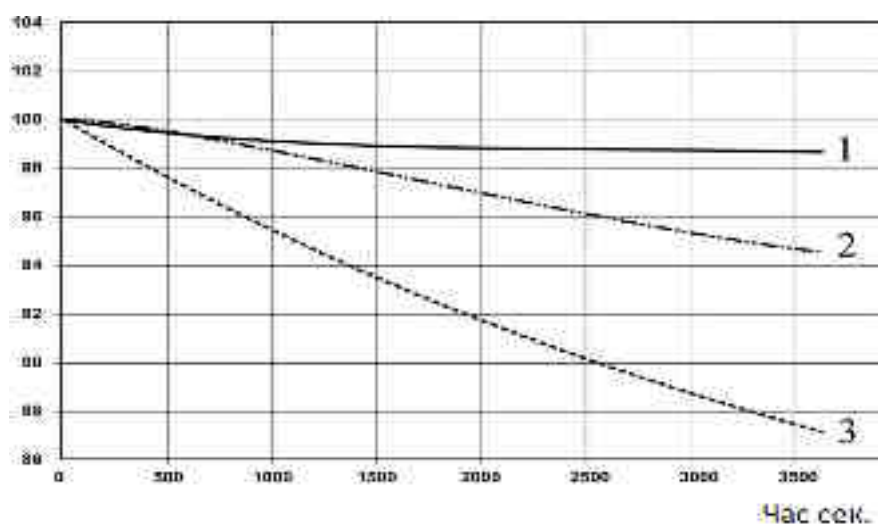


Рис. 3.22. Антиоксидантна активність НДЦ відносно антоціанів (природних антиоксидантів): 1 – розчин антоціану 2 – розчин антоціану + пероксид водню + НДЦ 3 – розчин антоціану + пероксид водню (НДЦ значно інгібує окиснення антоціану під впливом пероксиду гідрогену).

Одержані наночастинки у поверхневому шарі, що представлені переважно у відновленому виді  $\text{CeO} (2-x) (x 0,5)$ , малотоксичні та є ідеальним об'єктом біологічних, медичних (терапевтичних) та інших досліджень.

Спосіб одержання ультрамалих водорозчинних наночастинок діоксиду церію реалізували наступним чином. Чотиригорлу колбу, що містила крапельну лійку, термометр, електрод рН-метра та мішалку заповнили 200 мл 0,1 N розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$  та 8,08 г (20 мМ)  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ . Вмикали мішалку та перемішували систему до повного розчинення сульфату церію. В окремій ємності розчиняли 4,5 г поліакрилової кислоти (молекулярна вага  $MW=6000-10000$ ) у 100 мл 0,1 N розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . При використанні комерційних продуктів поліакрилової кислоти або солей поліакрилової кислоти (наприклад, продукту BASF Sokalan PA 30) кількість поліакрилату загрузали з урахуванням реальної концентрації продукту, яка вказана у паспорті підприємства-виробника. При постійному перемішуванні, невеликими порціями в колбу вводили розчин поліакрилової кислоти. У крапельну лійку 50 мл наливали 1 N розчин аміаку, вмикали рН-метр і при постійному перемішуванні (контроль рН і візуальний контроль системи) у реакційну суміш по краплям добавляли розчин аміаку. Починаючи зі значення водневого показника (рН 1,7), система починала опалесціювати і при рН 4,0 утворювався жовтий (жовто-білий) гель у вигляді пластівців, що переходив у золь. Розмір наночастинок також значною мірою визначається початковим співвідношенням сульфат церію: поліакрилова кислота. При значному надлишку поліакрилової кислоти стадія утворення гелю відсутня, відразу утворюються нанокластери діоксиду церію розміром  $< 1$  нм. При використанні у якості стабілізатору поліакрилової кислоти оптимальним є співвідношення поліакрилової кислоти і діоксиду церію 1:1–2:1 (масових часток). Надлишок полімеру-стабілізатору у системі є допустимим і не погіршує її фізико-хімічні параметри. Витримували систему при даному рН для формування кристалів потрібного розміру (при необхідності підігрівали) і швидко вливали кількість аміаку, що залишилась, до рН 10–11. Від часу витримки системи за таких умов і температури реакційної суміші залежить

розмір нанокристалів. Вмикали обігрів та упарювали вміст колби на 2/3. При цьому відганявся надлишковий аміак. Охолоджували вміст колби. Прозорий лимонно-жовтий розчин (~100 г) містив 3,4 г наночастинок оксиду церію, стабілізованих поліакрилатом амонію (~5,5 г). У якості домішок система містила 6 г сульфату амонію. Охолоджували вміст колби. Прозорий жовтий розчин (~ 100 г), що містить наночастинок оксиду церію, стабілізовані поліакрилатом амонію, може використовуватися як готовий продукт, та може бути очищеним, зокрема діалізом, переосадженням або підлягати кальцинації з метою одержання нанокристалічного порошку чистого діоксиду церію.

Запропонований спосіб дає змогу отримати ультрамалі наночастинок діоксиду церію, стійкі у широкому діапазоні рН, особливо у слабоекислій, нейтральній та слаболужній зоні, що відповідає значенню рН біологічних систем, а також фармацевтичних і косметичних композицій (рис. 3.23).

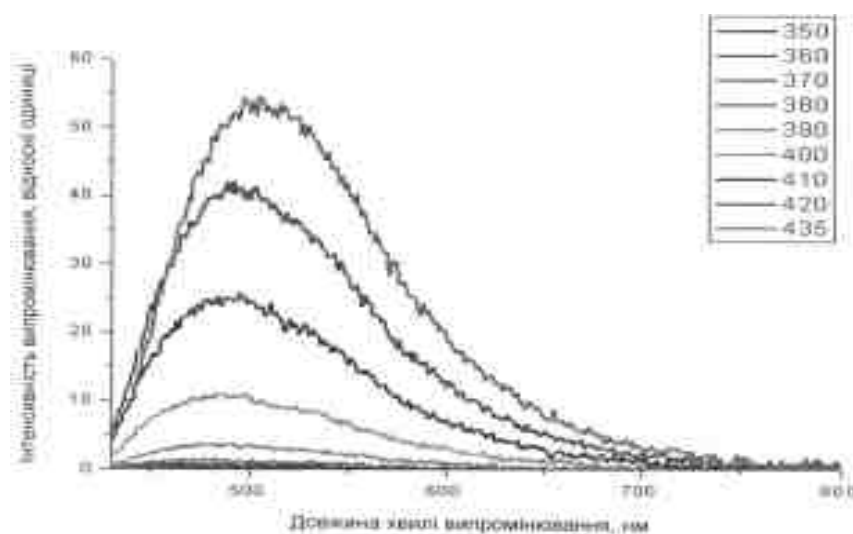


Рис. 3.23. Спектри випромінювання наночастинок діоксиду церію

У результаті реалізації даного винаходу утворюється стабільний прозорий продукт, розчинний у водних системах.

### 3.3.2. Експрес-оцінка стабільності препарату наночастинок діоксиду церію

Нанокристалічний діоксид церію (НДЦ) – представник нового класу неорганічних антиоксидантів, що може інактивувати активні форми Оксигену, але при цьому не проявляє фотокаталітичної активності. НДЦ – порошок

світло-жовтого кольору з розміром часток 4–11 нм, отриманий співробітниками лабораторії «Наномедтех» (Київ, Україна) та допоміжні речовини для створення оптимального складу основи.

Концепція створення антиоксидантних та адаптогенних препаратів полягає у використанні сучасних методів фізико-хімічного аналізу для контролю якості одержаних кінцевих продуктів. У НДІ екології і біотехнології у тваринництві БНАУ розроблена технологія та одержано препарат НДЦ для використання з метою профілактики антиоксидантного стресу курей.

Метою досліджень була розробка методів кількісної оцінки стабільності створеного антиоксидантного препарату з використанням методів фізико-хімічного аналізу та прогнозування терміну його зберігання.

Для визначення стабільності препарату використовували модифікований прискорений ізотермічний метод, згідно з яким критеріями для оцінки стабільності препарату були кількісний та якісний склад діючої речовини у препараті залежно від часу зберігання за різних температур.

Досліди щодо прискореного ізотермічного методу проводили з використанням сухоповітряних термостатів “Biological Termostat BT-12” (точність  $+0,1$  °C). Через 10–100 діб дослідні зразки вилучали з термостата і проводили дослідження щодо визначення кількості та якості діючої речовини, її форми, в'язкості препарату та інших показників, використовуючи спектрофотометрію в ультрафіолетовій і видимій ділянках спектра (Спекорд М-400) та атомно-абсорбційну спектрофотометрію (AAS-3). Для аналізу процесу термоінактивації біологічного об'єкта використовували кінетичне рівняння першого порядку:  $\ln C_t = \ln C_0 - Kt$ ,

де  $C_t$  – концентрація діючої речовини у момент часу,  $t$ ;  $C_0$  – вихідна концентрація діючої речовини;  $K$  – константа швидкості інактивації;  $t$  – час, діб.

Константа швидкості інактивації  $K$ , визначається за рівнянням Ареніуса:

$$K = K_0 \exp(-E/RT),$$

де  $K_0$  – передекспоненційний множник;  $E$  – енергія активації;  $R$  – універсальна газова стала;  $T$  – абсолютна температура, К.



Проведені розрахунки підтверджують, що створений нами препарат наночастинок діоксиду церію відповідає вимогам, які ставляться до стабільності розчинних полімерних засобів. НДЦ (наночастинки діоксиду церію) – стерильна, стабільна комплексна сполука гідроокису церію (III) з цитратом у вигляді захищеного колоїду з концентрацією діючої речовини: Се (III) – 85 мг/мл, цитрату – 20 мкг.

Аналізуючи зміни концентрації та форми діючої речовини досліджуваних зразків препарату за різних температур, використовуючи рівняння (3.1), знаходили значення  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$  і т.д., розраховували  $E$  та  $K$  за рівнянням (3.2).

Використовуючи одержані для різних температур дані щодо концентрації та форми діючої речовини, будували графік залежності цих показників від терміну зберігання за різних температур, після чого знаходили константи швидкості інактивації препарату ( $\ln k$  перебуває у лінійній залежності від зворотної температури  $1/T$ ).

Далі знаходили величини енергії активації препарату ( $E$ ) і константи швидкості інактивації для будь-яких інших температур, після чого, виходячи з початкової концентрації та форми діючої речовини ( $C_0$ ), прогнозували стабільність, а за графіком визначали зниження.

Вивчення кінетики інактивації стабілізованого цитратом біопрепарату НДЦ при підвищених температурах дало змогу кількісно оцінити його стабільність і прогнозувати термін зберігання (табл. 3.21).

Таблиця 3.21

### Прогноз стабільності препарату НДЦ

Температура зберігання, °С	Втрати концентрації діючої речовини, %		
	за 1 рік	за 2 роки	за 3 роки
30	7,4	14,3	30,7
25	2,1	4,2	9,8
15	1,2	2,9	6,7

Для перевірки правильності цього прогнозу зразки препарату зберігали

упродовж 2-х років за температури 4 °С, 20 та 25 °С і через кожні півроку визначали їхні якісні характеристики. Було встановлено стабільність препарату, що відповідає даним зробленого прогнозу.

### 3.3.3. Визначення гострої токсичності нанодисперсного діоксиду церію

Метою визначення гострої токсичності препаратів НДЦ було встановлення ступеня токсичності (межі коливання токсичної дії) та їх смертельних доз.

Так, за умов гострої токсичності встановлено, що білі щури гинули від застосування досліджуваних НДЦ, в основному, на першу добу після внутрішньом'язового введення. Показники загибелі лабораторних тварин та їх клінічні симптоми за відповідних доз введення двох препаратів виявилися ідентичними, тому дані досліджень при визначенні гострої токсичності подаємо одні й ті ж як для препарату НДЦ 1, так і для препарату НДЦ 2. Ідентичність досліджень була встановлена і у разі повторних уведень.

На орієнтовному етапі досліджень була виявлена смертельна ( $DL_{100}$ ) та максимально переносима ( $DL_0$ ) дози НДЦ препаратів як лікарської форми, так і її діючої речовини. В результаті проведених досліджень встановлено 100 % загибель білих щурів ( $DL_{100}$ ) за дози препаратів 32 мл/кг та відсутність загибелі лабораторних тварин ( $DL_0$ ) за введення препаратів у дозі 24 мл/кг (табл. 3.22).

Таблиця 3.22

**Величини смертельної ( $DL_{100}$ ) та максимально стерпної дози ( $DL_0$ ) доз НДЦ для білих щурів за внутрішньом'язового введення, n = 9**

Назва препарату	За препаратом		У перерахунку на діючу речовину, мг/кг	
	$DL_{100}$	$DL_0$	$DL_{100}$	$DL_0$
НДЦ мл/кг (мг/кг)	32 (32000)	24 (24000)	2720	2040
НДЦ 2 (мг/кг)	32 (32640)	24 (24480)	2720	2040

Симптоми загибелі у щурів у разі введення великих доз досліджуваних препаратів були однаковими та проявлялися порушенням координації рухів, тремором голови, а, згодом, і всього тіла, з подальшим настанням смерті.

Отримані дані загибелі білих щурів залежно від введених доз НДЦ препаратів при визначенні гострої токсичності НДЦ у розгорнутому досліді висвітлені у таблиці 3.23.

Після отриманих результатів було проведено підрахунки середньосмертельних доз препаратів діоксину церію за різними методами. Для покращення сприймання матеріалу та полегшення розрахунків дані введених доз препаратів подані в мл/кг, а потім перераховувалися в мг/кг.

Таблиця 3.23

**Стан виживання білих щурів при визначенні гострої токсичності досліджуваних препаратів за умов внутрішньом'язового введення, n=60**

Дози за препаратом, мл/кг (за діючою речовиною, мг/кг)	24 (2040)	26 (2210)	28 (2380)	30 (2550)	32 (2720)
Вижило	6	5	4	2	0
Загинуло	0	1	2	4	6

Середньосмертельні дози ( $DL_{50}$ ) препаратів на білих щурах за методом Г. Кербера розраховували за формулою:

$$DL_{50} = DL_{100} - (\sum_{zd} / m) \quad (1)$$

де:  $DL_{100}$  – доза речовини, яка вивчається і зумовлює загибель у всій групі тварин (32 мл/кг за препаратом, або 2720 мг/кг – за діючою речовиною);

$z$  – середньоарифметичне з числа тварин, які загинули, або у котрих спостерігалася врахована реакція під впливом кожних двох суміжних доз;

$d$  – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

$m$  – число тварин у кожній групі.

Результати отриманого матеріалу на білих щурах за методом Г. Кербера показаний у таблиці 3.24.

**Гостра токсичність препаратів НДЦ на білих щурах за методом  
Г. Кербера**

Дози за препаратом, мл/кг (за діючою речовиною, мг/кг)	24 (2040)	26 (2210)	28 (2380)	30 (2550)	32 (2720)
Вижило	6	5	4	2	0
Загинуло	0	1	2	4	6
z	0,5 1,5 3,0 5,0				
d	2,0 2,0 2,0 2,0				
zd	1,0 3,0 6,0 10,0				

У нашому випадку, як видно з таблиці 3.20

$$\sum_{(zd)} = 1,0 + 3,0 + 6,0 + 10,0 = 20.$$

Згідно з формулою  $DL_{50} = 32 - (20 : 6) = 32 - 3,333 = 28,667$  мл/кг.

Отже,  $DL_{50}$  для НДЦ на білих щурах за внутрішньом'язового введення при обчисленні за методом Г. Кербера становить 28,7 мл/кг, а у перерахунку на основну діючу речовину церій трьохвалентний ( $Se^{3+}$ ) – 2436,7 мг/кг.

При перерахунку препаратів, з врахуванням питомої ваги, з мл/кг на мг/кг  $DL_{50}$  НДЦ мг/кг.

$DL_{50}$  препарату на білих щурах за методом Г. Першина розраховували за формулою:

$$DL_{50} = \sum [(a + b)(m - n)] : 200. (2)$$

де: a і b – величини суміжних доз;

m і n – відповідні цим дозам частоти смертельних наслідків у відсотках.

Хід обробки отриманого матеріалу на щурах за методом Г. Першина показаний у таблиці 3.25.

$$\sum_{[(a+b)(m-n)]} = 830,0 + 901,8 + 1931,4 + 2070,8 = 5734.$$

Згідно з формулою  $DL_{50} = 5734 : 200 = 28,67$  мл/кг.

Таблиця 3.25

**Гостра токсичність препарату НДЦ на білих щурах за методом Г. Першина**

Дози за препаратом, мл/кг (за діючою речовиною, мг/кг)	24 (2040)	26 (2210)	28 (2380)	30 (2550)	32 (2720)
Вижило	6	5	4	2	0
Загинуло	0	1	2	4	6
Відсоток тварин, які загинули	0	16,6	33,3	66,6	100
a + b	50    54    58    62				
m – n	16,6    16,7    33,3    33,4				
(a + b) (m – n)	830,0    901,8    1931,4    2070,8				

Отже,  $DL_{50}$  досліджуваного НДЦ препаратів на білих щурах за внутрішньом'язового введення при обчисленні за методом Г. Першина становить 28,7 мл/кг, а у перерахунку на основну діючу речовину – церій трьохвалентний ( $Ce^{3+}$ ) 2437 мг/кг.

При перерахунку препаратів, з врахуванням питомої ваги, з мл/кг на мг/кг  $DL_{50}$  НДЦ буде становити 28670 мг/кг.

При визначенні  $DL_{50}$  за Б.М. Штабським залежність летальності (%) ( $Y$ ) від дози ( $X$ ) може бути описана рівнянням прямої з кутовим коефіцієнтом ( $a$ ):

$$Y = aX + b \quad (3)$$

Значення  $a$  та  $b$  знаходимо за формулами:

$$a = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1} \quad (4)$$

$$b = \frac{\Sigma Y - a \Sigma X}{n} \quad (5)$$

Знаючи  $a$  та  $b$ , вирішуємо рівняння (3) відносно  $X$ :

$$X = (Y - b) : a \quad (6)$$

Потім, послідовно підставляємо у формулу (6) значення  $Y$ , які рівні 50 %, 84 і 16 %, знаходимо  $DL_{50}$ ,  $DL_{16}$ ,  $DL_{84}$  та далі, як звичайно, розраховуємо  $\sigma$ ,  $m$ ,

$mt$  ( $t$  – критерій Стюдента) та довірчі межі за формулою  $DL_{50} \pm mt$ .

Значення згідно отриманих досліджень на білих щурах представлено в таблиці 3.26.

Таблиця 3.26

**Параметри середньосмертельної дози препаратів при обчисленні за методом Б.М. Штабського**

Y (мл/кг)	X (мл/кг)
66,66	30
33,33	28
16,66	26
$\Sigma = 116,65$	$\Sigma = 84$

Отже:

$$a = (66,66 - 16,66) : (30 - 26) = 50 : 4 = 12,5;$$

$$b = (116,65 - 12,5 \cdot 84) : 3 = (116,65 - 1050,0) : 3 = -933,35 : 3 = -311,117;$$

$$DL_{50} = (50 + 311,117) : 12,5 = 361,117 : 12,5 = 28,889 \text{ мл/кг};$$

$$DL_{16} = (16 + 311,117) : 12,5 = 327,117 : 12,5 = 26,169 \text{ мл/кг};$$

$$DL_{84} = (84 + 311,117) : 12,5 = 395,117 : 12,5 = 31,609 \text{ мл/кг};$$

$$2\alpha = DL_{84} - DL_{16} = 31,609 - 26,169 = 5,44;$$

$$m = 2\alpha : (\sqrt{2} \cdot N) = 5,44 : 6,0 = 0,907; mt = 0,907 \cdot 2,11 = 1,914;$$

$$H_g = DL_{50} - mt = 28,889 - 1,914 = 26,975;$$

$$B_g = DL_{50} + mt = 28,889 + 1,914 = 30,803.$$

Отже, параметри середньосмертельної дози НДЦ препаратів на білих щурах при внутрішньом'язовому введенні при обчисленні за методом Б.М. Штабського становлять:  $DL_{50} = 28,9$  (27,0 ÷ 30,8) мл/кг, а у перерахунку на основну діючу речовину – церій трьохвалентний ( $Ce^{3+}$ ):

$$DL_{50} = 2455,6 \text{ (2292,9 ÷ 2618,3) мг/кг.}$$

При перерахунку препаратів, з врахуванням питомої ваги,  $DL_{50}$  НДЦ за методом Б.М. Штабського буде становити 28889 (26975 ÷ 30803) мг/кг.

Сутність методу найменших квадратів для пробіт аналізу кривих летальності за В.Б. Прозоровським при визначенні середньосмертельних доз зводиться до знаходження такої прямої, відстань від якої (точніше квадрат відстані) у всіх експериментальних точок була би найменшою, тобто при розрахунках враховують „вагу” точки, яка тим більша, коли вона ближча до 50 %.

Залежність між дозами та пробітами, як і всяка прямолінійна залежність, виражається рівнянням:

$$\gamma = A_0 + A_1 x \quad (7)$$

Коефіцієнти  $A_0$  і  $A_1 x$  знаходили із системи рівнянь:

$$(\sum \beta) A_0 + (\sum \chi \beta) A_1 = (\sum \gamma \beta) \quad (8)$$

$$(\sum \chi \beta) A_0 + (\sum \chi^2 \beta) A_1 = (\sum \chi \gamma \beta) \quad (9).$$

Підставляючи значення  $A_0$  із рівняння (8):

$$A_0 = \frac{(\sum \gamma \beta - (\sum \chi \beta) A_1)}{\sum \beta} \quad (10)$$

в рівняння (9), одержали:

$$\sum \chi \beta / \sum \beta \cdot [\sum \gamma \beta - (\sum \chi \beta) A_1] + (\sum \chi^2 \beta) A_1 = \sum \chi \gamma \beta \quad (11).$$

Застосовані дози ( $\chi_3$ ) і відповідні їм емпіричні значення летальності ( $\gamma_3$ ) отриманих нами на білих щурах при внутрішньом'язовому введенні НДЦ (табл. 3.27) є основою для роботи за методом В.Б. Прозоровського.

Таблиця 3.27

**Характеристика пробіт-аналізу кривої летальності для білих щурів  
при внутрішньом'язовому введенні НДЦ препаратів**

Дози в мг/кг $\chi_3$	Леталь- ність у % $\gamma_3$	Місце доз $\chi$	Про- біти $\gamma$	„Ваговий коефіцієнт” В	$\chi \beta$	$\chi^2 \beta$	$\gamma \beta$	$\chi \gamma \beta$
24	0,0	1	3,27	1,6	1,6	1,6	5,232	5,232
26	16,66	2	4,05	3,7	7,4	14,8	14,985	29,97
28	33,33	3	4,56	4,6	13,8	41,4	20,976	62,928
30	66,66	4	5,44	4,6	18,4	73,6	25,024	100,096
32	100	5	6,73	1,6	8,0	40	10,768	53,84
Сума ( $\Sigma$ )				16,1	49,2	171,4	76,985	252,066

У нашому досліді, підставляючи відповідні значення у рівняння 11, знаходимо:  $49,2 : 16,1 (76,985 - 49,2A_1) + 171,4A_1 = 252,066$

після продовження розрахунків:

$$3,0559006 (76,985 - 49,2A_1) + 171,4A_1 = 252,066;$$

$$235,2585 + 21,0$$

отримали  $21,0497A_1 = 16,8075$ , звідси:

$$A_1 = \frac{16,8075}{21,0497} = 0,7984674$$

Підставляючи значення  $A_1$  у рівняння (10), знайшли  $A_0$ :

$$A_0 = \frac{76,985 - 49,2 \cdot 0,7984674}{16,1} = \frac{37,700404}{16,1} = 2,34164.$$

Враховуючи, що летальність ( $\gamma_5$ ), яка дорівнює 50 %, відповідає пробіту 5 ( $\gamma = 5$ ) підставляємо значення  $A_0$  і  $A_1$  у рівняння (7) та знаходимо місце даної дози ( $\chi$ ) для  $DL_{50}$ :  $5 = 2,34164 + 0,7984674\chi$ ,

$$\text{звідси } \chi (DL_{50}) = \frac{5 - 2,34164}{0,7984674} = \frac{2,65836}{0,7984674} = 3,3293281.$$

Знаючи, що четверте місце дози ( $\chi$ ) дорівнює 30,0 мл/кг, враховували  $DL_{50}$ . Однак перед тим бачимо, що місце для дози  $DL_{50}$  менше четвертого на 0,6706719 одиниць ( $4 - 3,3293281 = 0,6706719$ ). Ми врахували чому дорівнює дане число, якщо 1 одиниця (інтервал між дозами) = 2,0 мл/кг.

$$\chi = (2,0 \cdot 0,6706719) : 1 = 1,3413438 \text{ мл/кг,}$$

Отже:

$$DL_{50} = 30,0 - 1,3413438 = 28,658657 = 28,659 \text{ мл/кг.}$$

Таким же способом знайшли величини значень  $\chi$  для  $DL_{16}$  та  $DL_{84}$ , які відповідно дорівнювали 2,0769288 та 4,5817274 одиницям.

Знаючи, що третє місце дози становить 28,0 мл/кг, а п'яте – 32,0 мл/кг, врахували вище вказаним методом  $DL_{16}$  та  $DL_{84}$ , які відповідно дорівнювали 26,154 і 31,163 мл/кг.

Межі коливань середньосмертельної дози врахували так само, як і за методом Б.М. Штабського. Внаслідок цього отримали:



$$H_g = 28,659 - 1,761 = 26,898; B_g = 28,659 + 1,761 = 30,420.$$

Отже, параметри середньосмертельної дози НДЦ препаратів на білих щурах при внутрішньом'язовому введенні при обчисленні за методом В.Б. Прозоровського становлять:

$$DL_{50} = 28,7 (26,9 \div 30,4) \text{ мл/кг},$$

а у перерахунку на основну діючу речовину – церій трьохвалентний ( $Ce^{3+}$ ):

$$DL_{50} = 2436,0 (2286,3 \div 2585,7) \text{ мг/кг}.$$

При перерахунку препаратів, з врахуванням питомої ваги,  $DL_{50}$  НДЦ за методом В.Б. Прозоровського буде становити 28659 ( $26898 \div 30420$ ) мг/кг.

Більш повну й об'єктивну інформацію про величину фармакологічної активності досліджуваних сполук дає застосування методу Ж. Літчфільда і Ф. Уілкоксона. Однак, процес обробки експериментальних даних при цьому методі складається із ряду обширних етапів з номограмами, тому ми подаємо лише таблиці підрахунків, остаточні результати та графік смертельних доз при визначенні параметрів гострої токсичності досліджуваних нами препаратів за внутрішньом'язового введення білим щурам. У таблиці 3.28 подані розрахунки для визначення  $DL_{50}$  за даним методом при визначенні токсичності НДЦ.

Таблиця 3.28

**Середньосмертельні дози препаратів НДЦ для білих щурів у разі внутрішньом'язового введення за методом Ж. Літчфільда і Ф. Уілкоксона**

Дози, мл/кг	Ефект, що спостерігався	Ефект, що спостерігався у %	„Очікуваний” % ефекту	Різниця між „очікуваним” і що спостерігався % ефекту	Доданки для $\chi^2$
24,0	0/6	1,2	3,7	2,5	0,0163
26,0	1/6	16,66	16,5	0,16	0,0015
28,0	2/6	33,33	39,0	5,67	0,0128
30,0	4/6	66,66	67,0	0,34	0,0015
32,0	6/6	95,5	85,5	10,0	0,08
					0,1121

Показники летальних доз знаходили із побудованого графіка (рис. 3.24) і вони дорівнювали:  $DL_{50} = 28,75$  мл/кг,  $DL_{16} = 26,2$  мл/кг,  $DL_{84} = 31,5$  мл/кг.

На рис. 3.24 показані смертельні дози для білих щурів, за умов визначення  $DL_{50}$  НДЦ у досліді під час проведення гострої токсичності, вираховані шляхом пробіт–аналізу за методом Ж.Т. Літчфільда та Ф. Уїлкоксона.

Згідно з розрахунками та номограмами отримали:

$$N_g = 28,75 : 1,057 = 27,200; B_g = 28,75 \cdot 1,057 = 30,389.$$

Отже, параметри середньосмертельної дози даних препаратів на білих щурах при внутрішньом'язовому введенні при обчисленні за методом Ж. Літчфільда і Ф. Уїлкоксона:

$$DL_{50} = 28,8 (27,2 \div 30,4) \text{ мл/кг},$$

а у перерахунку на основну діючу речовину – церій трьохвалентний ( $Se^{3+}$ ):

$$DL_{50} = 2443,8 (2312,0 \div 2583,0) \text{ мг/кг}.$$

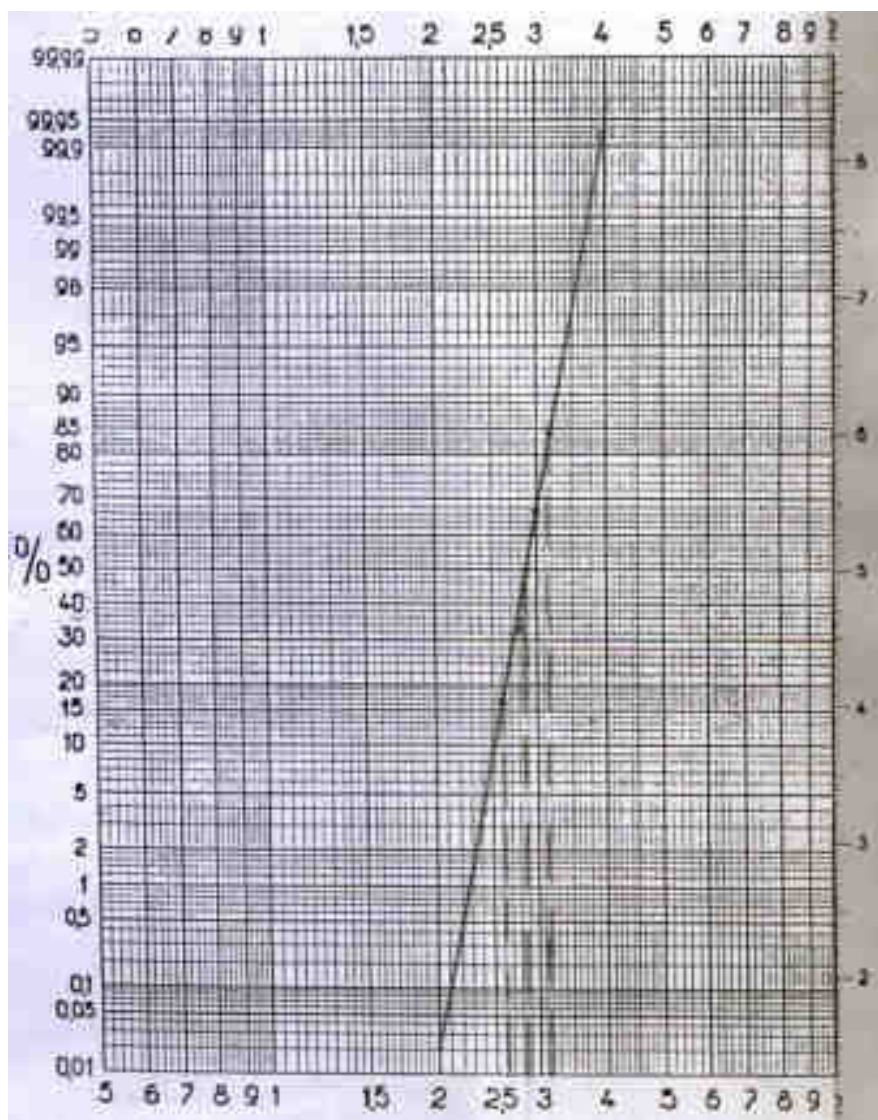
При перерахунку препаратів, з врахуванням питомої ваги,  $DL_{50}$  наноцерію за методом Ж. Літчфільда і Ф. Уїлкоксона становить 28750 ( $27200 \div 30389$ ) мг/кг.

За нахилом прямої лінії смертельних доз можна судити про ступінь процесу кумуляції [66]. Вважають, що, чим крутіша пряма, тим слабші адаптаційно-компенсаторні процеси організму та навпаки. Величина нахилу прямої лінії смертельних доз у білих щурів вказує, у даному досліді, про незначну кумулятивну дію досліджуваних препаратів (рис. 3.24).

У підсумковій таблиці 3.29, за вивчення гострої токсичності, подані визначені та вираховані на розгорнутому етапі середньосмертельні дози ( $DL_{50}$ ) НДЦ для лабораторних тварин у перерахунку на готову лікарську форму та діючу речовину – церій трьохвалентний ( $Se^{3+}$ ).

Зазначимо, якщо під час дослідження токсичності новостворених препаратів середньосмертельні дози, що вираховувались різними методами, збігаються, тоді дослід проведено правильно, а препарат належить до відповідного класу токсичності. Величини середньосмертельних доз досліджуваних препаратів для білих щурів за внутрішньом'язового введення, незалежно від методів підрахунків,

в основному співпадали і становили більше 4500 мг/кг маси тіла. Показники  $DL_{50}$  діючої речовини знаходились у межах від 2286 до 2618 мг/кг, що не виходить за параметри V класу, тобто від 1501 до 4500 мг/кг.



————— Дози – смертельні дози для щурів

Рис. 3.24. Смертельні дози НДЦ при встановленні гострої токсичності (за методом Ж. Лічфільда та Ф. Уілкоксона)

Отже, в проведених дослідженнях встановлено, що дані НДЦ згідно з класифікацією токсичності речовин при внутрішньом'язовому введенні за ступенем небезпечності [46] належать до VI класу токсичності (відносно нешкідливих речовин), а у перерахунку на основну діючу речовину церій трьохвалентний ( $Se^{3+}$ ), який знаходиться у даній лікарській формі – до V класу токсичності (практично нетоксичних речовин) [34].

Таблиця 3.29

**Величини середньосмертельних доз НДЦ для білих щурів за  
внутрішньом'язового введення**

Методи підрахунків за:	Середньосмертельна доза (DL <sub>50</sub> )	
	НДЦ препарат (мл/кг)	
Г. Кербером	28,7	
Г. Першиним	28,7	
Ж. Літчфільдом і Ф. Уїлкоксоном	28,8 (27,2 ÷ 30,4)	
В.Б. Прозоровським	28,7 (26,9 ÷ 30,4)	
Б.М. Штабським	28,9 (27,0 ÷ 30,8)	
	На препарат	На діючу речовину
	препарат НДЦ (мг/кг)	
Г. Кербером	28667	2436,695
Г. Першиним	28670	2436,950
Ж. Літчфільдом і Ф. Уїлкоксоном	28750 (27200 ÷ 30389)	2444 (2312 ÷ 2583)
В.Б. Прозоровським	28659 (26898 ÷ 30420)	2436 (2286 ÷ 2586)
Б.М. Штабським	28889 (26975 ÷ 30803)	2456 (2293 ÷ 2618)
	Препарат НДЦ-цитрат (мг/кг)	
Г. Кербером	29240	2436,695
Г. Першиним	29243	2436,950
Ж. Літчфільдом і Ф. Уїлкоксоном	29325 (27744 ÷ 30997)	2444 (2312 ÷ 2583)
В.Б. Прозоровським	29232 (27436 ÷ 31028)	2436 (2286 ÷ 2586)
Б.М. Штабським	29467 (27515 ÷ 31419)	2456 (2293 ÷ 2618)

Узагальнюючи результати проведених досліджень, можна зробити висновки, що за токсичністю досліджуваний препарат при внутрішньом'язовому введенні належить для білих щурів до VI класу токсичності (відносно нешкідливих речовин), а їх діюча речовина церій трьохвалентний (Ce<sup>3+</sup>), який знаходиться у даній формі – до V класу токсичності (практично нетоксичних речовин). Середньосмертельна доза препарату НДЦ для білих щурів у разі внутрішньом'язового введення становить 28889 (26975 ÷ 30803) мг/кг.

### 3.3.4. Вивчення хронічної токсичності препарату НДЦ

Доречність вивчення хронічної токсичності визначається двома моментами: по-перше, дослідження токсичних ефектів за проведення тривалих випробувань, по-друге, виявлення рівнів доз, при яких не спостерігається токсична дія за визначених умов експерименту.

За умов внутрішньом'язового введення білим щурам препарату НДЦ під час дослідження хронічної токсичності загибелі лабораторних тварин не виявлено.

У щурів дослідних груп, яким тривалий час вводили препарат НДЦ, виявлено, відповідно, зі зменшенням маси тіла, тенденцію, порівняно з контрольною групою, зменшення загального та середньодобового приростів, які характеризувалися навіть мінусовими показниками у порівнянні з масою тварин на початку дослідження, особливо у III групі тварин, яким вводили препарат у найвищій дозі (табл. 3.30).

Таблиця 3.30

#### Динаміка маси тіла та приросту білих щурів у тривалому досліді за вивчення токсичності препарату НДЦ, г, $M \pm m$ , $n=6$

Група тварин	Маса тіла				Приріст маси тіла		
	на початку дослідження		на 10-ту добу введення		Загальний за місяць по групі	середньодобовий у перерахунку на:	
	загальна по групі	середня однієї тварини	загальна по групі	середня однієї тварини		всіх щурів групи	одного щура з групи
1	835	139,2±5,23	930	155,3±9,04	95	9,5	1,6
2	831	138,5±4,86	799	133,2±4,87	-32	-3,2	-0,5
3	835	139,2±7,79	765	127,5±11,31	-70	-7,0	-1,2

За умов тривалого щодобового введення щурам препарату НДЦ у дозах, що досліджувались, для визначення токсичної дії лікарської форми на організм, на 10-ту добу, порівняно з контролем, виявлено вірогідне збільшення вагових коефіцієнтів маси печінки на 36 та на 80 % ( $p < 0,001$ ) при введенні препарату

відповідно у терапевтичній і 5-разово більшій від терапевтичної дозах та селезінки на 33 % ( $p < 0,05$ ) за введення його в 5-разово більшій дозі від терапевтичної (табл. 3.31).

Отже, на нашу думку, за тривалого введення препарату НДЦ, проявлявся його токсичний вплив, особливо за найвищій дозі, що і обумовило зниження маси тіла лабораторних тварин з одночасним збільшенням маси печінки та селезінки.

За даними досліджень крові визначають важкість перебігу, виявляють ускладнення організму від токсичного впливу введеного препарату. У кров виділяються продукти життєдіяльності різних органів. За кількістю виділень продуктів життєдіяльності можна вести мову про функціональний стан внутрішніх органів, а також про систему імунного захисту.

Таблиця 3.31

**Вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 10-ту добу за вивчення хронічної токсичності препарату НДЦ, %,  $M \pm m$ ,  $n=6$**

Досліджувані органи	Група тварин		
	1	2	3
Серце	3,9±0,13	4,0±0,24	4,8±0,23
Селезінка	5,2±0,25	5,7±0,44	6,9±0,64*
Нирки (обидві)	8,4±0,47	8,1±0,37	9,4±0,45
Нирка права	4,3±0,22	4,1±0,24	4,8±0,34
Нирка ліва	4,1±0,25	4,0±0,24	4,6±0,33
Печінка	38,7±1,73	52,6±2,34***	69,7±4,13***
Легені	11,1±1,14	11,9±1,32	11,7±0,91

Аналіз даних морфологічної картини крові щурів, на 10-ту добу введення НДЦ, показав, що препарат суттєво впливав на кровотворні процеси в організмі щурів. Нами виявлено, за тривалого введення препарату у дозах терапевтичній та в 5-разово більшій від терапевтичної, вірогідне зменшення кількості еритроцитів, відповідно, на 48 % ( $p < 0,001$ ) і на 40 % ( $p < 0,01$ ) та лейкоцитів – на 43 і 50 % ( $p < 0,01$ ) (табл. 3.32).

Гематокритну величину використовують для визначення середнього

об'єму одного еритроцита та для характеристики окремих видів анемії. У нашому досліді виявлено за тривалого введення препарату у дозах терапевтичній та в 5-разово більшій від терапевтичної вірогідне збільшення середнього об'єму еритроцита, відповідно, на 80 і 100 % ( $p < 0,01$ ).

Гемоглобін – це дихальний ферумвмісний білок крові, який міститься в еритроцитах і забезпечує транспорт кисню з легень до тканин та вуглекислоти до легень. У досліді виявлено, за тривалого введення двох досліджуваних доз, загальну тенденцію до підвищення гематокритної величини та до пониження рівня гемоглобіну. Вірогідне зменшення кількості еритроцитів, як вже вказувалося, сприяло вірогідному збільшенню рівнів індексів червоної крові, а саме: кольорового показника – на 71 % ( $p < 0,01$ ) і на 80 % ( $p < 0,001$ ) та середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті – на 82,3 % ( $p < 0,01$ ) і на 84,0 % ( $p < 0,001$ ) за введення НДЦ, відповідно, у дозах терапевтичній та  $1/3 DL_{50}$ . Слід зазначити, що еритроцитопенія виходила за межі фізіологічної норми.

Таблиця 3.32

**Морфологічні показники крові білих щурів на 10-ту добу тривалого досліді за вивчення токсичних властивостей препарату НДЦ,  $M \pm m$ ,  $n=6$**

Показники	Група тварин		
	1	2	3
Гемоглобін, г/л	101,3±5,74	96,0±8,93	97,2±7,73
Еритроцити, Т/л	9,0±0,44	4,7±0,33***	5,4±1,03**
Гематокритна величина, л/л	0,36±0,02	0,38±0,02	0,38±0,02
Кольоровий показник	0,35±0,02	0,60±0,06**	0,63±0,02***
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	11,3±0,64	20,6±2,23**	20,8±0,92**
Середній об'єм еритроцита, $\mu\text{м}^3$	40,9±2,93	73,6±8,42**	81,9±5,03**
Лейкоцити, Г/л	16,6±2,03	9,5±0,72**	8,3±0,74**

Гематологічні показники за довготривалого введення щурам препарату вказують на інтоксикаційну дію НДЦ не залежно від дози, що і призвело до

анемії, а це, в свою чергу, підтверджується вираженою гіперхромією. Визначені еритроцитопенія та лейкопенія свідчать про інгібуючу дію препарату на кровотворні органи, про пригнічення органів еритро- та лейкопоетичної функції (кісткового мозку, селезінки, лімфатичних вузлів), тобто про вплив НДЦ на еритро- і лейкопоез, про їх виснаження та про пониження реактивності організму, крім цього і про ураження селезінки, що призвело до збільшення вагового коефіцієнту маси даного органу. Крім цього, зменшення кількості еритроцитів і збільшення індексів червоної крові свідчить про макроцитарну анемію. Вищий середній об'єм еритроцита, в свою чергу, може свідчити про ураження печінки [38], а лейкопенія – про зниження реактивності організму [50]. Визначення загальної кількості лейкоцитів не дає уявлення про кількість окремих видів лейкоцитів. Такі дані можна одержати при виведенні лейкограми – процентного співвідношення між окремими видами лейкоцитів.

Аналіз морфологічної картини крові щурів показав (табл. 33), що за тривалого введення НДЦ не залежно від дози у лейкограмі відзначалося вірогідне збільшення, порівняно з контролем, у 2,3 ( $p < 0,001$ ) і 2,7 ( $p < 0,01$ ) разів сегментоядерних нейтрофілів та зменшення на 13,6 і 22,0 % ( $p < 0,01$ ) лімфоцитів за введення препарату, відповідно у дозах терапевтичній і  $1/3$  ЛД<sub>50</sub>.

Таблиця 3.33

**Лейкограма крові білих щурів на 10-ту добу тривалого дослідження за вивчення токсичних властивостей препарату НДЦ, %,  $M \pm m$ ,  $n=6$**

Група	Еозинофіли	Нейтрофіли		Лімфоцити	Моноцити
		паличко-ядерні	сегментоядерні		
1	2,8±0,75	0,0±0,00	9,5±2,23	86,5±2,53	1,2±0,43
2	2,2±0,81	0,0±0,00	21,8±1,24***	74,7±2,13**	1,3±0,74
3	3,0±1,02	0,00±0,00	27,2±3,74**	67,5±3,63**	2,0±0,74

Виявлено тенденцію до збільшення рівня моноцитів на 8 і 67 % за введення препарату, відповідно, у дозах терапевтичній та 5-ти разово більшій від терапевтичної. Що стосується кількості еозинофілів, то за введення НДЦ



тривало у терапевтичній дозі, встановлено тенденцію до зменшення їх рівня, порівняно з контролем, на 21,4 %, а за дози 1/3 ЛД<sub>50</sub> – їх збільшенні на 7,1 %.

Встановлене значне збільшення кількості сегментоядерних нейтрофілів у поєднанні з вираженою лейкопенією вказує на хронічні процеси і є показником виснаження кісткового мозку, в той же час виявлена лімфоцитопенія на тлі нейтрофілії свідчить про гострі септичні процеси. Лімфоцитопенія у поєднанні з лейкопенією свідчить також про виснаження захисних сил організму. Про хронічний процес може свідчити і збільшена кількість моноцитів за введення препарату у дозі 5-разово більшої від терапевтичної [50].

Виявлений вплив препарату на білковий та ліпідний обмін, а також на активність внутрішньоклітинних ензимів (табл. 3.34).

Таблиця 3.34

**Біохімічні показники крові білих щурів на 10-ту добу тривалого дослідження за вивчення токсичних властивостей препарату НДЦ,  $M \pm m$ , n=6**

Показники	Група тварин	
	контрольна	терапевтична
АЛТ, мккат/л	0,36±0,011	0,77±0,061***
АСТ, мккат/л	0,67±0,039	0,94±0,031***
ЛФ, мккат/л	1,4±0,06	1,3±0,04
Білок загальний, г/л	87,9±3,03	88,3±3,23
Ліпіди загальні, г/л	2,4±0,24	2,3±0,12
Триацилгліцероли, ммоль/л	0,34±0,033	0,63±0,034***
Холестерол загальний, моль/л	4,5±0,09	4,2±0,22
Холестерол вільний, моль/л	1,5±0,04	1,6±0,13
Холестерол зв'язаний, моль/л	3,0±0,09	2,6±0,34
Глюкоза, ммоль/л	4,1±0,35	3,5±0,25

В організмі тварин концентрація загального білка в сироватці крові знаходиться в постійних межах і змінюється при значній патології обміну речовин, захворюванні печінки та інших органів. У наших дослідженнях не

виявлено суттєвих змін за вмістом білка при тривалому введенні НДЦ у терапевтичній дозі.

Що стосується обміну ліпідів, який залежить від функцій кишечника, підшлункової і щитоподібної залоз, печінки та інших органів, то виявлено вірогідне збільшення у сироватці крові досліджуваних щурів, порівняно з контрольними, яким вводили тривало НДЦ у терапевтичній дозі, вірогідне збільшення на 85 % ( $p < 0,001$ ) вмісту триацилгліцеролів та тенденцію до зменшення на 13 % холестеролу зв'язаного.

Вміст глюкози в крові є відносно постійною величиною. Глюкоза крові постійно оновлюється внаслідок надходження з тканин, печінки та кишок. У наших дослідженнях не виявлено суттєвих змін за рівнем глюкози при тривалому введенні НДЦ у терапевтичній дозі, встановлена лише тенденція до зменшення її концентрації на 15 %, порівняно з контролем.

Дослідження активності ферментів у сироватці крові при діагностиці захворювань печінки набуває все більшого значення. Ензимодіагностика допомагає розпізнавати хворобу на ранній стадії, виявляти незначні зміни функцій і структури печінки. В наших дослідах виявлено вірогідне збільшення у 2 рази активності АЛАТ і на 40 % АсАТ ( $p < 0,001$ ), порівняно до контролю, при тривалому введенні НДЦ у терапевтичній дозі (табл. 3.34).

Отже, біохімічні показники крові показали, що препарат за 10-добового щоденного введення впливав на функціональний стан печінки, внаслідок порушення гепатоцитів, про що свідчить вірогідне підвищення активності трансаміназ та вагового коефіцієнту маси даного органу. Про порушення функції печінки вказує і гіпертриацилгліцеролемія, яка відмічається при ураженнях органу [50].

Отже, у результаті вивчення токсичної дії НДЦ, за умов щодобового введення його білим щурам впродовж 10 діб встановлено, що препарат не залежно від дози пригнічував еритро- та лейкопоетичну функції кровотворних органів (кісткового мозку, селезінки, лімфатичних вузлів), спричиняв їх виснаженню, особливо кісткового мозку та понижував реактивність організму,

впливав на функціональний стан печінки і селезінки. Під дією препарату проходили запальні процеси як гострого, так і хронічного характеру.

Отже, в результаті вивчення токсичної дії НДЦ, за умов щодобового введення його білим щурам впродовж 10-и діб встановлено, що препарат впливав незалежно від дози на кровотворні органи та імунну систему (вірогідне пониження кількості еритроцитів, лейкоцитів і лімфоцитів та збільшення сегментоядерних нейтрофілів, індексів червоної крові, середнього об'єму еритроцита і вагового коефіцієнту маси селезінки) і це, на нашу думку, свідчить про перехід гострого процесу в хронічний і виснаження кісткового мозку. Крім того даний препарат впливав на деякі сторони обміну ліпідів (вірогідне підвищення вмісту триацилгліцеролів) та на функціональний стан печінки (вірогідне підвищення вагового коефіцієнту маси даного органу та активності АлАТ і АсАТ).

Проте, слід зазначити, що за введення НДЦ у дозах, що досліджувались, не виявлено у сироватці крові щурів пониження відношення активності АсАТ до АлАТ менше 1 або суттєвого збільшення від 1,33 (коефіцієнт Де Рітіса), що вказує на незначне ураження печінки [50]. Не виявлено суттєвих змін за вмістом загального білка та загальних ліпідів, і холестеролу, а також за рівнем глюкози. Крім того, підвищення рівня у дослідних тварин, порівняно з контрольними, морфологічних і біохімічних показників крові може вказувати на компенсаторні процеси, які відбуваються в організмі у відповідь на дію препарату.

Узагальнюючи результати проведених досліджень, можна зробити висновок, що за тривалого внутрішньом'язового введення НДЦ, особливо при дозі 5-разово більшій за терапевтичну, проявлялася токсична дія на масу лабораторних тварин. Препарат при тривалому щодобовому введенні білим щурам впливав на функціональний стан печінки і селезінки та на обмін ліпідів. Введення НДЦ білим щурам впродовж 10 діб пригнічувало еритро- та лейкопоетичної функції кровотворних органів та понижувало захисні функції організму.

Результати досліджень опубліковані у працях [6; 8; 14; 15; 26; 97; 99; 620; 625; 630].

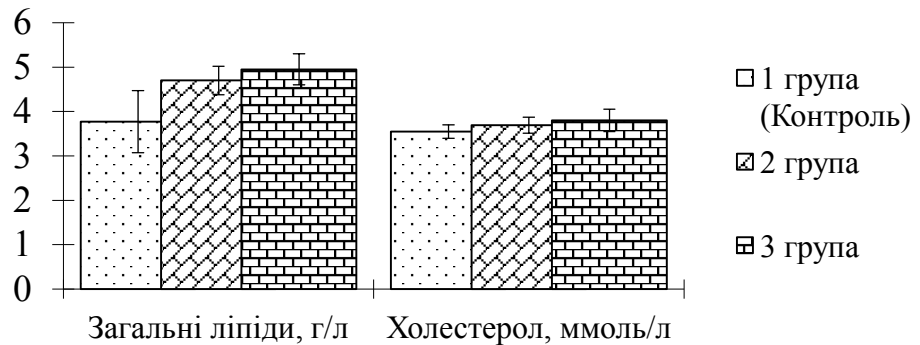
### 3.4. Дослідження впливу наночастинок церію на організм курчат-бройлерів

#### 3.4.1. Вплив наночастинок діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів

Дослідження позитивної дії та токсичного ефекту наночастинок металів неоднозначне й багатогранне, потребує комплексного підходу [24; 131; 557]. Особливо це стосується наночастинок, які застосовуються в сільському господарстві, що сприяє їхньому безпосередньому надходженню до організму людини [180]. До переліку десяти пріоритетних наноматеріалів експерти міжвідомчої програми з коректного управління хімічними препаратами і організації економічної кооперації та розвитку включили нанодисперсний діоксид церію [176; 634]. Унікальна біологічна активність нанодисперсного діоксиду церію обумовлена низькою токсичністю і високою кисневою нестехіометрією. Низька токсичність забезпечує відносну безпеку застосування наночастинок діоксиду церію *in vivo* [514]. Киснева нестехіометрія обумовлює активність нанодисперсного  $\text{CeO}_2$  в окисно-відновних процесах у живих клітинах, особливо у разі інактивації активних форм Оксигену [527]. Специфічною властивістю наночастинок церію є здатність після участі в окисно-відновному процесі за порівняно невеликий проміжок часу повертатися до вихідного стану, що забезпечує можливість їх багаторазового використання [278; 557].

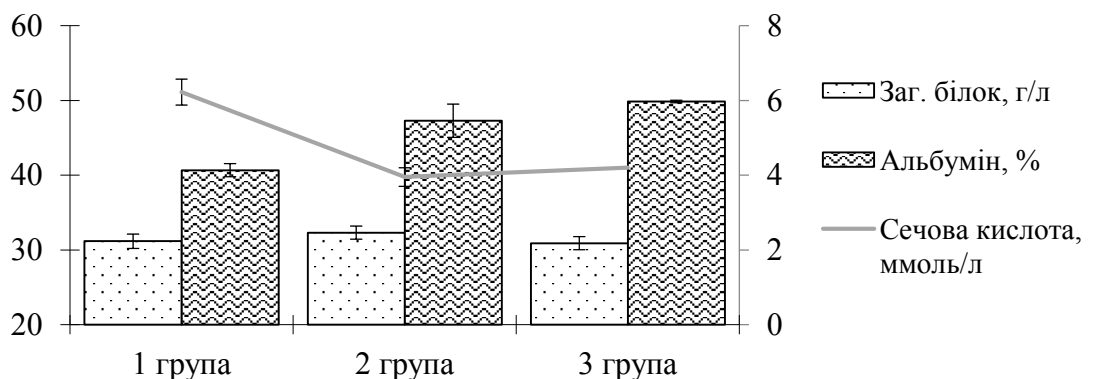
Отже, показники крові бройлерів, які характеризують основні види обміну (білковий, ліпідний, мінеральний) у період проведення дослідження знаходилися у межах фізіологічної норми. Морфо-функціональний розвиток тварин і птиці та адаптаційні можливості їх організму в ранньому віці значно залежать від інтенсивності синтезу і ступеня використання структурних ліпідів (фосфоліпідів, холестеролу) та резервних ліпідів (триацилгліцеролів) в енергетичних тканинних процесах [350]. Тому, тенденція до більш високого рівню цих показників ліпідного обміну у сироватці крові курчат за впливу досліджуваної добавки характеризує інтенсивний ріст молодняку бройлерів. За

дослідження показників вірогідних відмінностей між групами не виявлено, але впродовж усього дослідження спостерігалася тенденція до збільшення вмісту загальних ліпідів та холестеролу у дослідних групах курей (рис. 3.25). Так, у разі введення наночастинок діоксиду церію впродовж 14-ти днів із семиденною перервою вміст загальних ліпідів збільшився на 24,6 %, а у разі 14-денної перерви – на 31,3 %.



**Рис. 3.25. Вміст загальних ліпідів та холестеролу у сироватці крові курчат-бройлерів кросу ROSS 308 за додавання наночастинок діоксиду церію**

Під час дослідження вмісту загального білка вірогідних відмінностей між групами не виявлено, проте спостерігалось достовірне підвищення вмісту альбумінів у крові бройлерів дослідних груп – у першій групі на 16 %, у другій – на 22 %. Щодо вмісту сечової кислоти, то у дослідних групах цей вміст був менший і становив відповідно 63 та 67 % від контролю (рис. 3.26).

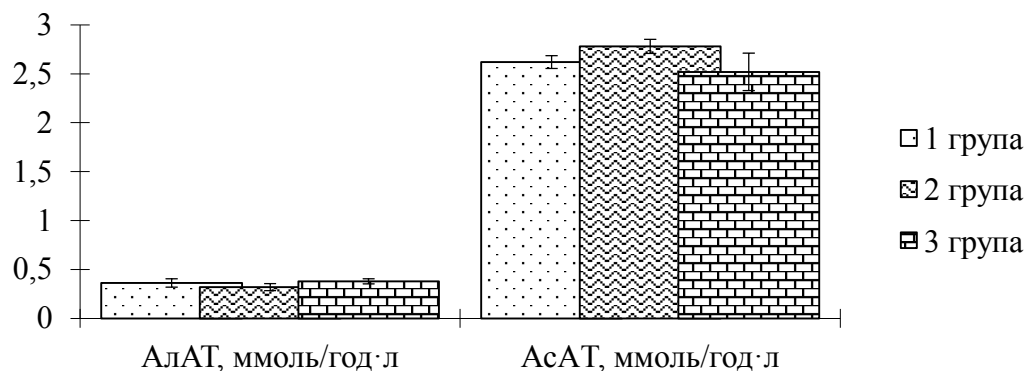


**Рис. 3.26. Вміст загальних білків, альбуміну та сечової кислоти у сироватці крові курчат-бройлерів кросу ROSS 308 за додавання наночастинок діоксиду церію**

Можна констатувати, що у разі введення до організму птиці наночастинок

діоксиду церію спостерігалось активація білкового обміну, що сприяло асиміляційним процесам та зменшенням кількості продуктів катаболізму.

У клінічних дослідженнях, у якості маркерних ензимів визначають активність трансаміназ, зокрема, аланін- та аспартатамінотрансфераз, які характеризують ступінь пошкодження печінки. Виявлено, що у птиці 2-ї дослідної групи спостерігалася тенденція до зниження активності АсАТ у сироватці крові (рис. 3.27). Така зміна активності амінотрансфераз обумовлена певною гепатопротекторною дією наночастинок діоксиду церію, що встановлено в інших дослідженнях [533].



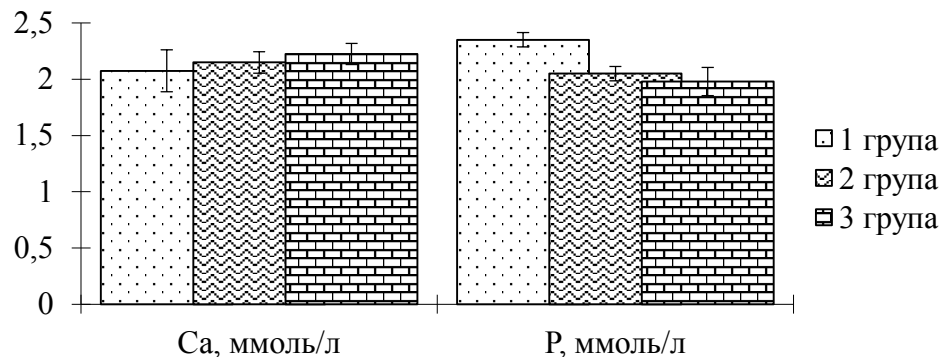
**Рис. 3.27. Активність трансаміназ сироватки крові курчат-бройлерів кросу ROSS 308 за додавання наночастинок діоксиду церію**

Доведено, що специфічною властивістю наноцерію є здатність після участі в окисно-відновному процесі за порівняно невеликий проміжок часу повертатися до вихідного стану, що забезпечує можливість його багаторазового використання [233; 278; 475; 557]. Ймовірно, така унікальна властивість наноцерію обумовила певні зміни і у обміні протеїнів та ліпідів.

У результаті проведених досліджень встановлено збільшення співвідношення Кальцію до Фосфору, що дає можливість стверджувати про позитивний вплив наночастинок діоксиду церію на мінеральний обмін в організмі птиці (рис. 3.28).

Введення препарату до раціону бройлерів з добового до 58-денного віку з різними інтервалами забезпечує тенденцію до стабільного збільшення інтенсивності їх росту, тоді як введення добавки з інтервалом 14 діб вірогідно

( $p < 0,05$ ) вплинуло на приріст маси тіла.



**Рис. 3.28. Вміст Кальцію та Фосфору у сироватці крові курчат-бройлерів кросу ROSS 308 за додавання наночастинок діоксиду церію**

Біохімічні показники крові відображають метаболічні процеси, а також характеризують вплив на організм кормових добавок, антиоксидантів та інших біологічно активних речовин [557]. У подальших дослідженнях доцільно вивчити вплив добавки наночастинок діоксиду церію на якість продукції птахівництва.

### **3.4.2. Якість м'яса курчат-бройлерів за додавання наночастинок діоксиду церію**

Кінцевим етапом перевірки використання будь-якої добавки у тваринництві та птахівництві є перевірка якості продукції. Основною продукцією курчат-бройлерів є м'ясо. Були проведенні дослідження по визначенню токсичності та біологічної цінності м'яса курчат-бройлерів різних дослідних груп. У якості контролю було використано 0,56 %-ий розчин морської солі та глюкозо-пептонне середовище.

Морська сіль – натуральна сіль з морської води, що видобувається, як правило, методом звичайного випарювання. За хімічним складом морська сіль – суміш різних хлоридів: натрію, калію, магнію, мангану та інших металів, основна частка представлена NaCl. У морській солі значно менше йоду ніж у йодованій кухонній солі. Відповідно вона також і за смаком відрізняється від звичайної кухонної або харчової.

Сіль використовується в медицині: при лікуванні шкірних захворювань, зокрема псоріаз. Як лікувальна речовина, в аптечній та звичайній торговельній мережі, поширеним продуктом є сіль з Мертвого моря. В більш очищеному вигляді цей вид солі також пропонується у продуктивій торговельній мережі – як натуральна та багата на йод харчова добавка.

Глюкозо-пептонне середовище являє собою рідке поживне середовище для накопичення ентеробактерій. Якісний склад середовища створює поживну базу для росту бактерій, забезпечуючи їх всіма необхідними речовинами. В якості джерела вуглецю включено глюкозу, що дає змогу накопичувати широкий спектр мікроорганізмів. Їх розвиток, окрім помутніння, також легко виявити за зміною середовища із зеленого на жовте, а, застосувавши скляний "поплавок", виявити утворення газу.

Оцінку токсичності проводили експрес-методом, шляхом виявлення загиблих чи змінених форм, за рухливістю та пригніченням росту інфузорій *Tetrahymena Piriformis* (табл. 3.35).

Таблиця 3.35

**Результати експрес-методу на тест-культурі інфузорія  
*Tetrahymena Piriformis* на токсичність м'яса курчат-бройлерів**

Стан поведінки інфузорій під час дослідження	0,56 %-ий розчин морської солі	Глюкозо-пептонне середовище	Група курчат-бройлерів		
			1	2	3
активно рухливі	+	+	+	+	+
неприродні рухи	-	-	-	-	-
пригнічення росту	+	-	-	-	-
патологічні форми	-	-	-	-	-
неживі інфузорій	-	-	-	-	-

Інфузорії *Tetrahymena Piriformis* у 1-й контрольній групі, яка містила 0,56 %-ий розчин морської солі, були активні, проте ріст їх був пригнічений, що пояснюється нейтральністю середовища. У 2-й контрольній групі відмічена здатність інфузорії до активного руху та розмноження.



У всіх дослідних групах інфузорія *Tetrahymena Piriformis* була рухливою, добре розмножувалась, патологічні та неживі інфузорії були відсутні. Отримані результати свідчать про нетоксичність м'яса курчат-бройлерів за умов впливу наночастинок діоксиду церію.

Критерієм відносної біологічної цінності слугувала кількість клітин інфузорій, виражена у відсотках, що виростили за три доби на досліджуваному об'єкті по відношенню до клітин у контрольному продукті (табл. 3.36).

Таблиця 3.36

**Результати експрес-методу на тест-культурі інфузорія *Tetrahymena Piriformis* на відносну біологічну цінність м'яса курчат-бройлерів, %;  $M \pm m$ ;  $n=10$**

М'ясо курчат-бройлерів	Кількість клітин, $\times 10^6$ у 1 см <sup>3</sup> середовища	Відносна біологічна цінність, % від контролю
1-а група (контроль)	2,83 $\pm$ 0,18	100
2-а група	2,78 $\pm$ 0,13	98,2
3-я група	2,75 $\pm$ 0,21	97,2

Відносна біологічна цінність м'яса курчат-бройлерів дослідних груп була на рівні показників інтактної птиці. Відмічене зниження біологічної цінності незначне (1,8–2,8 %) і не є вірогідним.

Результати досліджень опубліковані у працях [6; 8;14;83;105;161;86;300; 619].

### **3.5. Дія нанодисперсного діоксиду церію на курей-несучок**

#### **3.5.1. Вплив нанодисперсного діоксиду церію на морфометричні показники кишкового тракту курей-несучок**

У розведенні курей найважливішими показниками є якість м'яса та яєць. Метою промислового птахівництва є збільшення продуктивності з одночасним зменшенням витрат на розведення птиці [60; 192]. Досягти бажаних результатів можна внаслідок регульованого впливу на окремі ланки метаболічних шляхів, а також на розвиток системи органів, які у першу чергу відповідають за вирощування птиці. Тонкий та товстий відділи кишкового тракту є важливою

частиною шлунково-кишкової системи тварин та птиці, розвиток якого пов'язаний з правильною дією ензимів, перетравлюванням та всмоктуванням компонентів кормів, та, відповідно, зі станом здоров'я.

Проведений експеримент показав, що додавання діоксиду церію до раціону курей не спричиняло значного впливу на дванадцятипалу кишку (рис. 3.29). Встановлено, що абсолютна вага даного відділу кишечника за різних схем введення нанодисперсного діоксиду церію більшою на 1,4–5,8 %. Відносна вага дванадцятипалої кишки у разі введення НДЦ з семиденною перервою (група 2) була більшою на 4,6 %, а з 14-денною (група 3) – на 9,2 % ( $p < 0,05$ ).

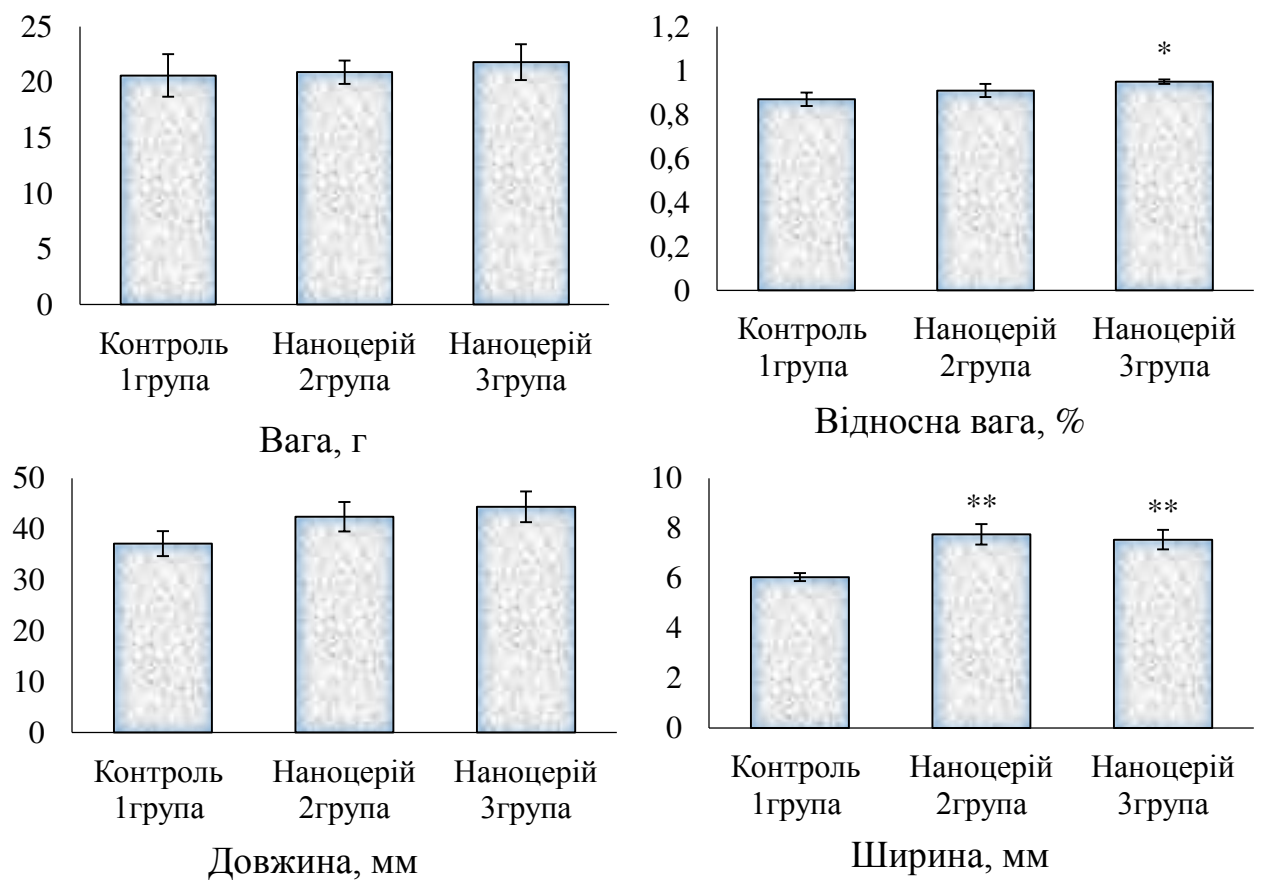


Рис. 3.29. Морфометрична характеристика 12-палої кишки курей-несучок,  $M \pm m$ ;  $n=5$

Подібні результати були отримані для довжини та ширини 12-палої кишки. Застосування препаратів наноцерію обумовило зростання довжини органу понад контрольний рівень на 14,3–19,5 %, з найбільшим абсолютним значенням у 3-й дослідній групі. Ширина кишки у дослідних групах достовірно ( $p < 0,01$ ) переважала контрольний показник на 28,3–24,8 %.

Зміна довжини та ширини тонкої кишки безпосередньо впливає на засвоєння поживних речовин, адже зростання їх подовжує ферментативний вплив на кормові маси та збільшує час всмоктування поживних речовин (рис. 3.30). За результатами дослідження встановлено, що довжина тонкого кишечника зростає, порівняно із птицею контрольної групи на 17,0–24,5 % (найбільше у групі 3), та ширина – на 22,3 % ( $p < 0,05$ ) у групі 2 та на 18,6 % ( $p < 0,05$ ) у групі 3.

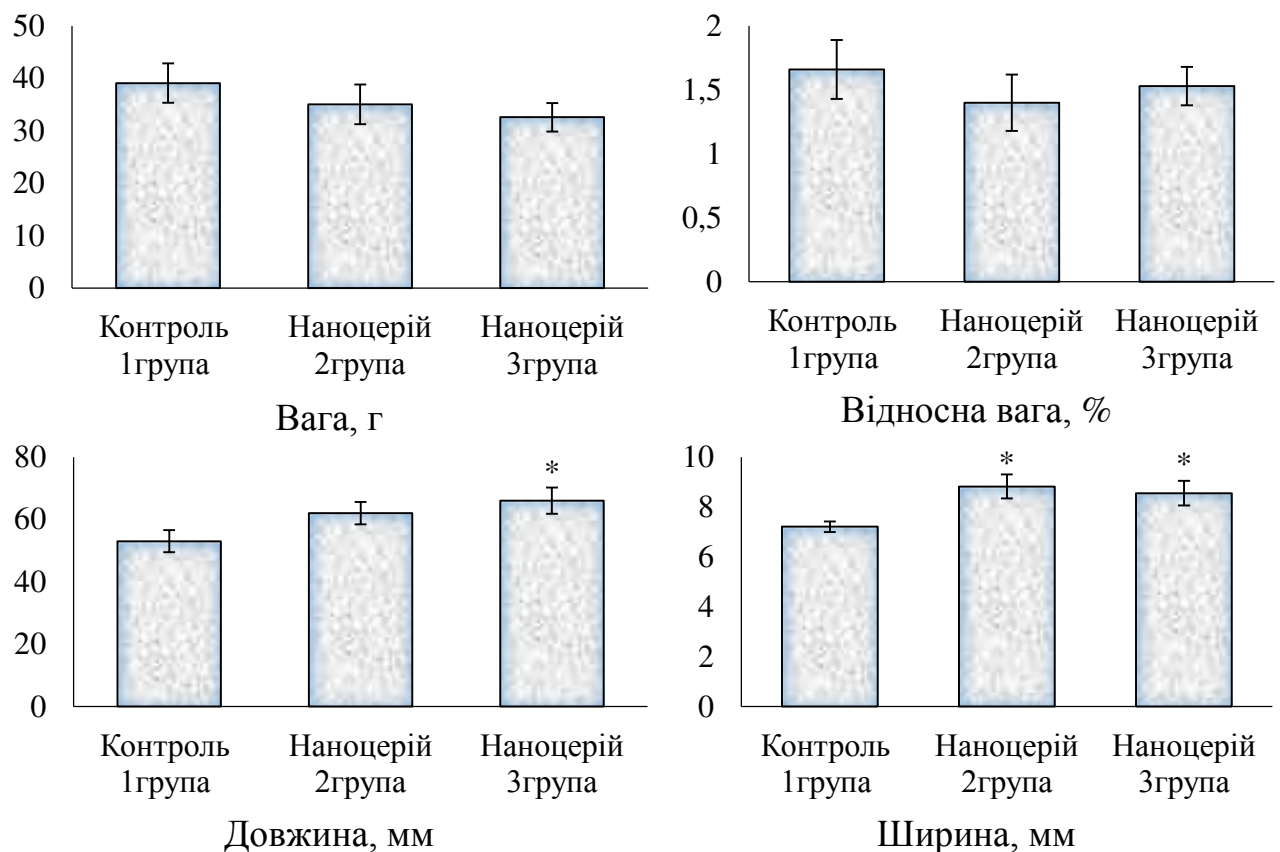


Рис. 3.30. Морфометрична характеристика тонкої кишки курей-несучок,  $M \pm m$ ;  $n=5$

Застосування різних режимів введення НДЦ сприяло зменшенню абсолютної (на 10,4 та 16,7 %) та відносної (на 15,7 та 7,8 %) ваги тонкого кишечника.

Шлунково-кишковий гомеостаз – одна з умов нормального виробництва курей м'ясного та яєчного напрямків продуктивності. Встановлено, що у разі запалення слизової оболонки кишечника птиці [388], спостерігається дегрануляцію тучних клітин товстої кишки зі змінами її слизової оболонки при

вакуолізації та грануляції епітеліальних клітин [652]. Оптимальні рівні наноцерію у раціоні птиці зменшують негативні наслідки некротичного ентериту, синдрому мальабсорбції та інфекцій товстого кишківника [684]. Ці фактори суттєво впливають на продуктивність та економічну ефективність розведення сільськогосподарської птиці. Некротичний ентерит є однією з основних проблем, що зумовлює збільшення відходу птиці.

У результаті дослідження було встановлено, що використання наноцерію (група 2) у складі раціону утримує абсолютну вагу клубової кишки курей на рівні контрольного поголів'я, а у групі 3 цей показник мав тенденцію до зменшення, та становив 91,6 % від контролю (рис. 3.31).

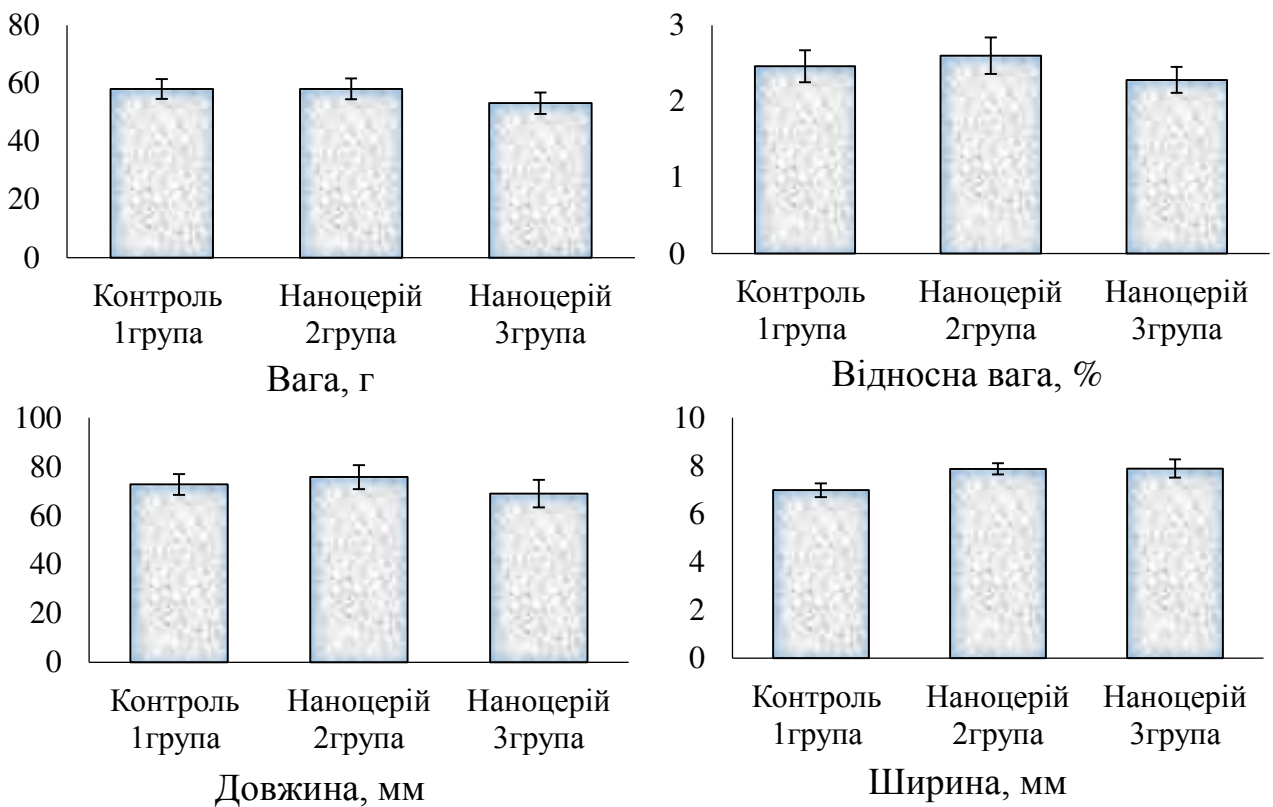


Рис. 3.31. Морфометрична характеристика клубової кишки курей-несучок,  $M \pm m$ ;  $n=5$

Не виявлено достовірних змін у абсолютній та відносній вазі клубової кишки. У 2-й дослідній групі птиці виявлено незначне збільшення довжини клубової кишки (на 4,1 %) та зменшення її довжини у третій групі на 5,08 %. Щодо ширини клубової кишки, дослідні групи за даним показником переважали контрольну групу курей на 12,7–12,8 %.

Застосування препаратів наноцерію обумовило зменшення абсолютної ваги товстого кишечника дослідних груп птиці (на 14,4–20,3 %), як і його відносну вагу (на 10,4–18,7 %) відносно контрольної групи (рис. 3.32). Найбільш виражено вага товстого кишечника змінилась у третій дослідній групі.

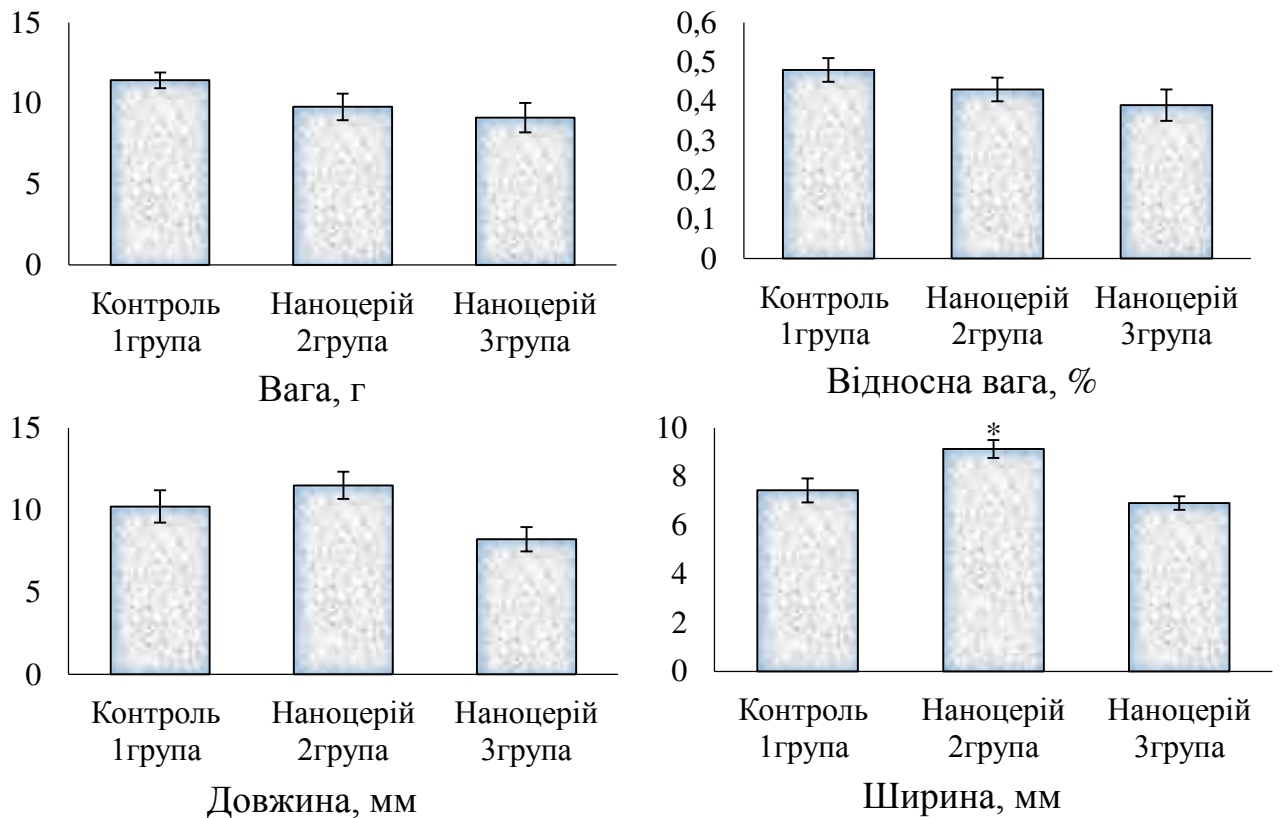


Рис. 3.32. Морфометрична характеристика товстої кишки курей-несучок,

$M \pm m$ ;  $n=5$

Аналогічно впливало на вагу органу використання наноцерію з 14-денною перервою, що обумовило зменшення довжини та ширини товстого кишечника птиці 3-ї групи нижче рівня контрольної групи. Застосування наноцерію з 14-денною перервою сприяло зменшенню довжини (на 19,4 %) та ширини (на 7,0 %) товстого відділу відносно інтактної птиці, а застосування наноцерію з 7-денною перервою, навпаки, збільшило ці показники на 12,6 та 22,9 % відповідно. Проте ці результати не мали вірогідної різниці.

Отже встановлено, що наноцерій відіграє важливу роль у вирощуванні курей-несучок. В експерименті було доведено вплив препаратів нанодисперсного діоксиду церію здатні змінювати морфометричні показники органів травлення.

### 3.5.2. Морфометрична характеристика репродуктивних органів курей-несучок за впливу нанодисперсного діоксиду церію

Яйценосність птиці залежить від розвитку її репродуктивної системи. Репродуктивна система самок птахів складається з яєчника і яйцепроводу. Як правило, розвиненим є тільки лівий яєчник і яйцепровід, а правий – редукований. У період яйцекладки в яєчнику формується велика кількість яйцеклітин, які перебувають на різних стадіях розвитку та, за дозрівання, мають значні розміри і жовте забарвлення. Яйцепровід птахів поділяється на лійку, білкову частину, перешийок, шкаралупову (пташину матку) і вивідну (піхву) частини.

У роботі досліджувалася репродуктивна система курей-несучок кросу «Lohmann Brown» за показники: довжина яйцепроводу та індекси довжини яйцепроводу, преовуляторного фолікула, яєчників та яйцепроводу.

У результаті дослідження було встановлено, що додавання курей-несучок наноцерію різними режимами, не спричинили достовірних змін у довжині яйцепроводу дослідних груп, порівняно із контрольною групою птиці, що отримувала стандартний комбікорм (рис. 3.33).

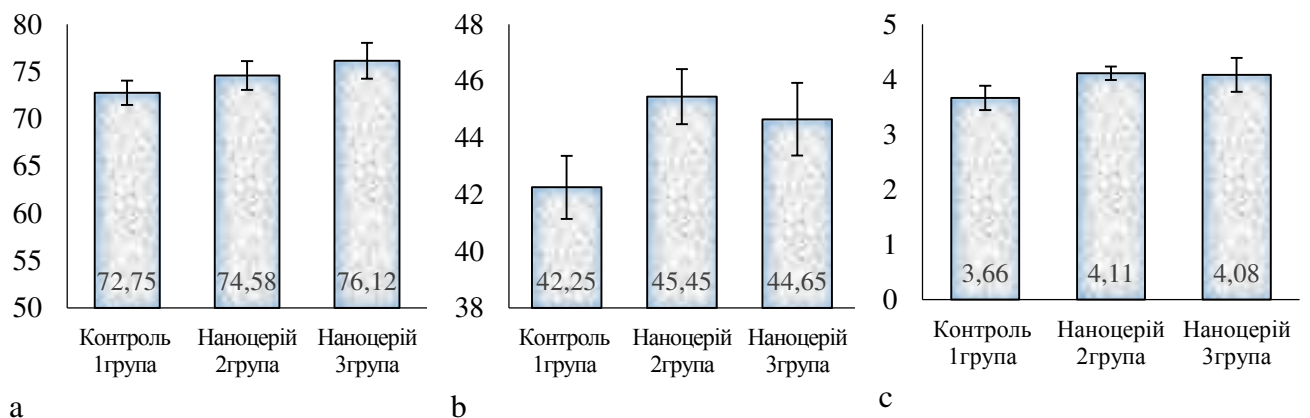


Рис. 3.33. Розвиток яйцепроводу курей-несучок: а – довжина яйцепроводу, см; б – індекс довжини яйцепроводу, см/кг; с – індекс яйцепроводу, %  $M \pm m$ ,  $n=5$

При цьому додавання наноцерію спричиняла збільшення довжини органу, порівняно із контрольними показниками на 2,5 % (група 2) та 4,6 % (група 3) відносно інтактної птиці. Такі зміни можна пояснити легшим засвоєнням

харчового наноцерію та особливостями безпосередньо нанорозмірних препаратів, що дає змогу їм інтенсивніше впливати на метаболізм, прискорювати формування яйця та, таким чином, вкорочувати довжину яйцепроводу. Аналогічні зміни відбулися при визначенні індексу довжини яйцепроводу у дослідних групах (рис. 3.34). Введення наноцерію підвищувало співвідношення довжини яйцепроводу до маси тіла на 7,6 % (група 2) та 5,7 % (група 3) відповідно відносно інтактної птиці.

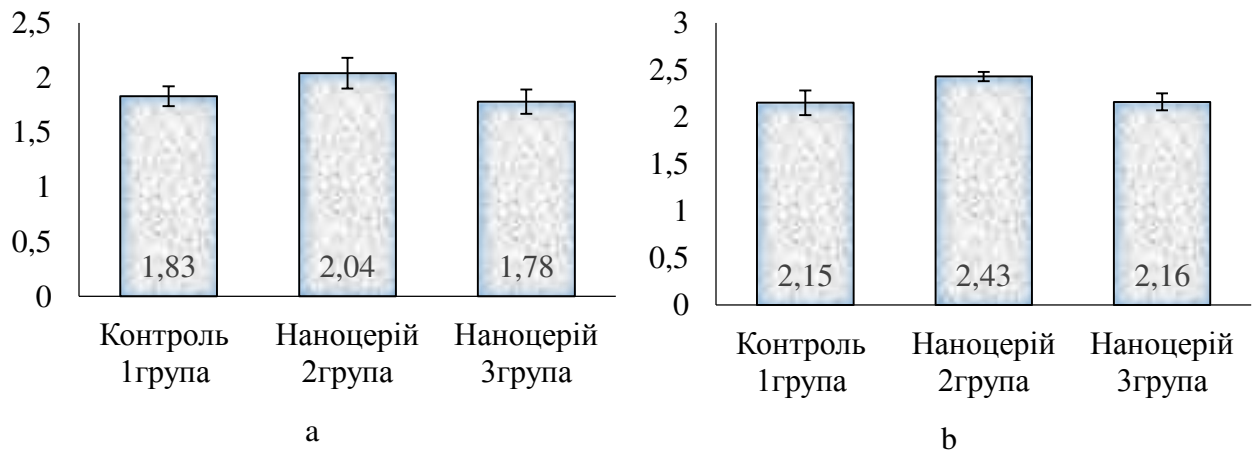


Рис. 3.34. Розвиток репродуктивних органів курей-несучок а – індекс преовуляторного фолікула, %; b – індекс яєчників, %  $M \pm m$ ,  $n=5$

Окрім довжини яйцепроводу та індексу довжини яйцепроводу у дослідженні визначали індекс преовуляторного фолікула. Фолікул – структурний компонент яєчника, що включає яйцеклітину, оточену шаром епітеліальних клітин та двома шарами сполучної тканини. Фолікул містить ооцит першого порядку, ядро якого називають «зародковий пухирець». Ооцит оточений шаром глікопротеїдів (zona pellucida чи zona striata) та шаром гранульозних клітин. Наступним шаром позаклітинного матриксу є базальна мембрана та тека-клітини [31].

Відповідно до стадії розвитку розрізняють примордіальні, преантральні (первинні), астральні (вторинні) та преовуляторні (третинні) фолікули. Примордіальні фолікули, розміром 50 мкм, утворюються в процесі мітотичної проліферації первинних зародкових клітин (оогоній). Преантральні фолікули починають розвиватися із примордіальних під час періоду статевого

дозрівання, коли гіпофіз починає виробляти фолікулостимулюючий гормон (ФСГ). Преантральні фолікули мають більший розмір (150–200 мкм).

Під час дозрівання фолікула клітини внутрішнього шару теки виробляють андрогени, які крізь базальну мембрану проникають у гранульозні клітини фолікулярної оболонки і там трансформуються в естрогени, таким чином вторинний фолікул стає тимчасовим органом ендокринної системи [164]. Утворення фолікулярної порожнини провокує швидкий ріст, адже діаметр фолікула збільшується з менш ніж 1 мм до 16–20 мм [512].

У дослідженні було встановлено, що індекс преовуляторного фолікула у курей контрольної групи становив 1,83 %. Застосування наноцерію з 7-денною перервою зменшило індекс на 2,7 % відносно інтактної птиці, а з 14-денною перервою підвищило цей індекс на 11,5 %.

Аналогічні зміни відбувалися за визначення індексу яєчників у птиці контрольної та дослідних груп. Використання препаратів наноцерію (2 група) обумовило тенденцію до зростання індексу яєчників на 13,0 %, у той час як у третій групі показник залишався на рівні контролю.

Визначення індексу яйцепроводу показало, що застосування наноцерію за різними схемами підвищило показник понад контрольний рівень на 12,3 % (2 група) та на 11,5 % (3 група).

### **3.5.3. Дослідження дії нанодисперсного діоксиду церію на якість яєць курей-несучок**

Сучасне птахівництво потребує постійного відтворення поголів'я, висока результативність якого шляхом інкубації залежить від якості яєць [80]. Якість інкубаційних яєць впливає не тільки на сам процес інкубації, а і на виведення молодняку, життєздатність та продуктивність птиці [61]. Чинником, що обумовлює успішну інкубацію, є біологічні особливості інкубаційних яєць, що пов'язані з породою, кросом та віком птиці [32; 75], а також із біологічною особливістю самих яєць [75; 77].

За додавання препаратів церію та пробіотику до складу раціону курей у



роботі досліджувались наступні показники: відносна маса, міцність та товщина яєчної шкаралупи, відносна маса жовтка та білка, висота білка, індекс форми яйця та одиниці Хау (табл. 3.37).

Таблиця 3.37

**Якість яєць курей-несучок за додавання нанодисперсного діоксиду церію**

$M \pm m, n=10$

Показники	1 група	2 група	3 група
Відносна маса яєчної шкаралупи, %	10,45±0,18	10,69±0,21	9,66±0,34
Відносна маса жовтка, %	23,32±0,28	22,71±0,19	22,52±0,25
Відносна маса білка, %	66,23±2,02	66,60±1,89	67,82±1,62
Міцність шкаралупи яєць, кг/см <sup>2</sup>	4,27±0,12	4,28±0,17	4,31±0,14
Індекс форми яйця	0,76±0,01	0,75±0,02	0,76±0,02
Товщина яєчної шкаралупи, мм	0,43±0,02	0,44±0,02	0,45±0,01
Висота білка, мм	6,13±0,22	5,99±0,29	6,02±0,31
Одиниця Хау	77,12±1,21	76,66±1,07	76,77±1,33

Шкаралупа – захисна вапнякова оболонка яйця, що вберігає його вміст від несприятливих умов і є джерелом мінеральних речовин для ембріона [111]. Результати дослідження показали, що товщина шкаралупи яєць, одержаних від курей, що отримувала наноцерій з інтервалом 14 днів була на 4,7 % більшою, порівняно з контролем, проте не була достовірною. Відносна маса яєчної шкаралупи курей групи на 7,6 % була нижчою за контрольні показники. Міцність шкаралупи яєць за додавання наноцерію практично не змінювалася. Якість шкаралупи – одна із необхідних передумов виводимості яєць, що впливає на газообмін вмістимого яйця та навколишнього середовища. Попри те, що потоншення шкаралупи є властивістю, притаманною молодим птахам [81], значне зниження фізичних параметрів шкаралупи негативно впливає на виводимість та розвиток ембріонів птахів через гірші механічні захисні якості шкаралупи та меншу кількість мінералів, що отримує ембріон.

Застосування птиці наноцерію з інтервалом 7 днів (група 2) обумовило

лише незначні зміни показників шкаралупи яєць порівняно з рівнем контролю. Зокрема відносна маса шкаралупи зросла на 2,3 %, а товщина та міцність шкаралупи збільшилися на 2,3 та 0,23 % відповідно.

Такий вплив досліджуваних препаратів можна пояснити їх загальним впливом на організм: нанорозмірний церій засвоюється легко, та інтенсивно впливає на тканинний метаболізм шляхом легшого «вмонтовування» у ферментативну та гормональну регуляційну систему. При цьому інтенсифікується мінеральний обмін пташиного організму, що впливає на формування яєчної шкаралупи зокрема.

Застосування наноцерію обумовило зниження відносної маси жовтка на 0,61–0,80 % відносно контролю за одночасного зростання відносної маси білка на 0,37–1,59 % понад контроль. Висота білка у третій групі при цьому перебувала на рівні 98,2 % відносно інтактної птиці. Організація внутрішньої структури яйця обумовлена масою жовтка, білка та їх співвідношенням. Вважається, що з віком птиці маса яєць зростає за рахунок білка, та знижується за зростання абсолютної маси жовтка. Індекс жовтка загалом характеризує свіжість яєць, а співвідношення білка і жовтка відображає поживну цінність яєць [367].

Одиниці Хау (Haugh Unit) – показник якості білка, що вираховується за висотою білка і масою яєць. Коефіцієнт кореляції між виводимістю яєць та одиницями Хау – 0,6–0,7. Кількість одиниць Хау менша у молодих та старих несучок, зменшується за зберігання яєць, що обумовлено порушенням структури щільного білка. Кількість одиниць Хау в інкубаційних яйцях курей має бути не менше 78, а перепелів – 87. За зростання маси яєць змінюються склад та властивості яєць курей яєчного напряму продуктивності загалом внаслідок збільшення маси білка (збільшення одиниць Хау на 8–12 %). Як результат прискореного формування яєць високопродуктивними несучками щільному білку не вистачає часу на розрідження, тож виводимість курчат із яєць, що мають понад 85 одиниць Хау знижується на 8–10 %. У результаті дослідження було встановлено, що застосування наноцерію зменшило індекс Хау на 0,6 та 0,45 % у 2-й та 3-й групах відповідно.

Індекс форми яєць є змінним показником та індивідуальною особливістю несучок, їх лінійною або породною належністю.

У результаті дослідження було встановлено, що застосування наноцерію за різними схемами не мало суттєвого впливу на індекс форми яйця.

Результати наукових досліджень висвітлені у працях [6; 8; 9; 83; 91; 104; 161].

### **3.6. Економічна ефективність використання наночастинок**

#### **3.6.1. Вплив різних форм Селену на продуктивність перепелів**

Використання різних кормів та/або кормових добавок неоднаково впливає на економічні показники промислового птахівництва, створюючи економічно вигідні або, навпаки, збиткові та нерентабельні умови для господарювання. З огляду на це вивчення економічних показників є важливим та обґрунтованим. У роботі були проведені розрахунки ефективності використання селеніту натрію, селеніту натрію та наноселену у комбінації із пробіотиком *L. plantarum* у виробництві м'яса перепелів породи фараон. Апробацію отриманих результатів, що характеризують економічну ефективність використання препаратів Селену та пробіотику у комбікормах перепелів породи фараон проводили в умовах птахоферми ПП «Вілія» с. Блощинці Білоцерківського району Київської області. Науково-господарські досліді, проведені упродовж 2017–2019 років довели переваги застосування наноселену над селенітом натрію, у запропонованому варіанті комбікорму рівень Селену балансували уведенням селеніту натрію та наноселену, самостійно та у комбінації із пробіотиком, в оптимальній дозі. Розрахунки показників економічної ефективності використання комбікормів із різними добавками зроблено за цінами 4-го кварталу 2019 р.

Проведені дослідження свідчать (табл. 3.38), що використання комбікормів із селенітом натрію, селенітом натрію та наноселеном у комбінації із пробіотиком *L. plantarum* не однаково позначилось на виробничих показниках.

Так, згодовування комбікормів з досліджуваними добавками за вирощування перепелів сприяло зростанню збереженості поголів'я птиці на 3,3,

5 та 6,6 % у 2-й, 3-й та 4-й групах відповідно та аналогічно передзабійної маси 1-ї голови на 4,14, 7,59 та 11,83 % порівняно із контрольною групою, що отримувала стандартний раціон.

Таблиця 3.38

**Економічна ефективність виробництва м'яса перепелів породи фараон за використання препаратів Селену та пробіотику**

Показник	Група			
	1	2	3	4
Посаджено перепелят на вирощування, голів	1000	1000	1000	1000
Здано на забій, голів	900	933	950	966
Збереженість поголів'я, %	90	93,3	95	96,6
Перед забійна маса 1 голови, г	202,9	211,3	218,3	226,9
Забійний вихід, %	78,97	79,91	79,36	79,71
Маса тушки, г	160,23	168,84	173,25	180,87
Затрати корму на 1 кг приросту, кг	3,88	3,79	3,71	3,67
Загальні витрати комбікорму, кг	637,12	647,82	647,72	666,18
Вартість 1 т комбікорму, грн.	10000	10000	10000	10000
Вартість використаних добавок Селену та пробіотику, грн.		0,35	1,35	1,36
Вартість добового молодняку, грн	8000	8000	8000	8000
Загальні витрати на вирощування перепелів, грн.	8637,12	8648,14	8649,05	8667,53
Загальна маса патраних тушок, кг	144,217	157,53	164,59	174,72
Вартість реалізації 1 кг патраної тушки, грн.	90	90	90	90
Всього одержано коштів від реалізації патраних тушок, грн	12978,63	14177,49	14812,88	15724,84
Собівартість 1 кг патраної тушки, грн.	9,6	9,27	9,1	8,97
Прибуток, грн.	4341,51	5529,36	6163,83	7057,31
Рівень рентабельності, %	33,45	39,0	41,61	44,88
Прибуток на 1 голову вирощеного молодняку, грн.	4,82	5,93	6,49	7,31

Унаслідок збільшення середньодобових приростів та обсягів валового виробництва продукції затрати комбікорму на 1 кг приросту живої маси у дослідних групах на 2,32, 4,38 та 1,08 % були меншими за контрольні показники. Додавання препаратів Селену та пробіотику дещо підвищили вартість комбікорму та загальні витрати на виробництво м'яса перепелів, однак внаслідок збільшення маси реалізованих тушок отримано коштів на 9,24, 14,13 та 21,2 % більше.

Здійснені розрахунки показали, що собівартість 1 кг патраної тушки перепелів була нижчою у дослідних групах на 3,42 %, 5,13 % та 6,5 % порівняно із контролем. Використання комбікормів із препаратами Селену та пробіотиком дало змогу збільшити прибуток від реалізації м'яса перепелів на 27,36, 41,97 та 62,55 %, а рентабельність виробництва м'яса птиці – від 33,45 до 39,0 %, 41,61 та 44,88 % відповідно. При цьому прибуток на одну голову зріс на 22,86, 34,05 та 51,45 %. Проведена виробнича перевірка встановила, що за однакової реалізаційної ціни на продукцію, використання різних форм Селену позитивно впливає на збереженість поголів'я, підвищує передзабійну масу і масу тушки, знижує витрати корму на приріст, внаслідок чого зростає прибуток та рівень рентабельності виробництва.

Використання різних форм Селену та пробіотику у годівлі молодняку перепелів позитивно впливає на їх продуктивність та збереження. Згодовування комбікорму перепелам із введенням біогенного наноселену та пробіотику є найбільш ефективним з огляду на ріст та продуктивність молодняку перепелів породи фараон у період вирощування 1–35 діб (підвищення передзабійної маси тіла перепелів на 11,8 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з контрольною групою, збільшення показника збереженості поголів'я до 96,6 % та зменшення витрат корму на 1 кг приросту маси тіла на 5,4 %).

### **3.6.2. Економічна ефективність використання наночастинок діоксиду церію у виробництві яєць та м'яса курей**

У роботі були проведені розрахунки ефективності використання наночастинок діоксиду церію впродовж 52 днів із семиденною (група 2) та 14-

денною (група 3) перервою у виробництві м'яса курей-бройлерів кросу ROSS 308. Апробацію отриманих результатів, що характеризують економічну ефективність використання препарату за вирощування птиці проводили в умовах ННДЦ Білоцерківського НАУ. Науково-господарські досліді, проведені упродовж 2017–2019 років. Розрахунки показників економічної ефективності використання наноцерію зроблено за цінами 4-го кварталу 2019 р. Проведені дослідження свідчать (табл. 3.39), що використання наноцерію поліпшує господарські показники виробництва м'яса курчат.

Так, використання наноцерію за вирощування курчат-бройлерів сприяло зростанню збереженості поголів'я птиці на 1,0–2,5 %. При цьому передзабійна маса курчат збільшилася на 3,45 % (2 група) та 6,49 % (3 група) порівняно із контрольною групою, яка отримувала стандартний раціон. Додавання наноцерію внаслідок впливу на метаболічні процеси в організмі птиці, сприяло зниженню конверсії корму на 4,2–8,3 %. Унаслідок збільшення середньодобових приростів та обсягів валового виробництва продукції затрати комбікорму на 1 кг приросту живої маси у дослідних групах на 4,19 та 8,38 % були меншими за контрольні показники. Здійснені розрахунки показали, що собівартість 1 кг патраної тушки курчат була нижчою у дослідних групах на 1,74 та 2,14 % порівняно із контролем. Використання наноцерію дало змогу збільшити прибуток від реалізації м'яса курчат на 7,59 та 14,97 %, а рентабельність виробництва м'яса птиці зросла на 1,14–2,15 %. Прибуток на одну голову зріс на 6,44 та 11,97 %. Проведена виробнича перевірка встановила, що за однакової реалізаційної ціни на продукцію, використання комбікормів з додаванням наноцерію позитивно впливає на збереженість поголів'я, підвищує передзабійну масу і масу тушки, знижує витрати корму, внаслідок чого зростає прибуток та рівень рентабельності виробництва м'яса.

Аналізуючи вплив нанодисперсного діоксиду церію на яєчну продуктивність курей встановлено, що яєчна продуктивність курей-несучок дослідної групи збільшилась на 11,4 %, кількість яєчної маси, одержаної від однієї несучки збільшилася на 9,6 %, собівартість яєць знизилась на 16,2 %.

При цьому збереженість поголів'я птиці зросла на 4 %, що сприяло підвищенню рентабельності виробництва на 11,6 %.

Таблиця 3.39

**Економічна ефективність виробництва м'яса курчат-бройлерів за використання наночастинок діоксиду церію впродовж 14-ти днів із семиденною (група 2) та 14-денною (група 3) перервою**

Показник	Група		
	1	2	3
Посаджено курчат на вирощування, голів	1000	1000	1000
Здано на забій, голів	933	943	958
Збереженість поголів'я, %	93,3	94,3	95,8
Перед забійна маса 1 голови, г	3058,3	3163,8	3256,7
Забійний вихід, %	71,21	72,23	72,89
Маса тушки, г	2177,8	2285,2	2373,8
Затрати корму на 1 кг приросту, кг	2,15	2,06	1,97
Загальні витрати комбікорму, кг	4368,56	4439,18	4479,98
Вартість 1 т комбікорму, грн.	11100	11100	11100
Вартість використаних добавок, грн.	–	4,39	4,39
Вартість добового молодняка, грн	17000	17000	17000
Загальні витрати на вирощування курчат, грн.	21397,37	21467,06	21500,94
Загальна маса патраних тушок, кг	2031,89	2154,94	2274,1
Вартість реалізації 1 кг патраної тушки, грн	50	50	50
Всього одержано коштів від реалізації патраних тушок, грн.	101594	107747	113705
Собівартість 1 кг патраної тушки, грн.	22,93	22,76	22,44
Прибуток, грн.	80197	86280	92204
Рівень рентабельності, %	78,94	80,08	81,09

Отже, доведено, що використання нанодисперсного діоксиду церію у годівлі курчат-бройлерів та курей-несучок позитивно впливає на їх продуктивність та сприяє підвищенню економічної ефективності виробництва.

## ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

З фізіологічної точки зору відхилення від оптимальних внутрішніх та зовнішніх умов призводить до стресу. В умовах легкого стресу гомеостаз можна відновити за допомогою скоординованої дії гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, вегетативної нервової системи та імунної системи. Окрім того, складний каскад регуляторних механізмів беруть участь у реакції на стрес, що призводить до підвищеної мобілізації енергії та змін метаболізму, а також спричиняють зниження продуктивності птиці [596]. У сучасному комерційному птахівництві, заснованому на збалансованій годівлі та добре контрольованих санітарно-гігієнічних параметрах утримання птиці, пов'язані зі стресом кормові метаболічні захворювання, зокрема, енцефаломаліяція, ексудативний діатез, м'язова дистрофія є рідкісними [599]. Проте пов'язане зі стресом зниження продуктивних та репродуктивних показників птиці все ще спричиняє значні економічні втрати. Генетичний відбір, спрямований на швидке зростання, покращення конверсії кормів та високі показники несучості зробили домашню птицю, включаючи бройлерів, несучок та перепелів, особливо сприйнятливими до оксидативного стресу [576]. У птахівництві існує чотири основних типи стресу: технологічний, екологічний, харчовий та внутрішній, що призводить до шкідливих змін на молекулярному / клітинному та фізіологічному рівнях і, нарешті, знижує продуктивність та репродуктивність товарної птиці [599]. До таких стресових факторів відносять збільшення щільності посадки поголів'я [432], зважування та формування груп [251], порушення температурного режиму [293; 576], погіршення вентиляції та підвищення запиленості [251], недостатня освітленість [251; 297], наявність харчових стресових факторів, зокрема мікотоксинів [604; 660], окисненого жиру [209], токсичних металів [279; 325; 432], дисбаланс мінералів (Se, Zn, Mn, Cu та ін.) та інших поживних речовин [250; 251; 599], а також низька якість води [250; 251; 408]. Зумовлює стрес використання низки ветеринарних препаратів з кормом чи водою [184; 251, 702], вакцинації [317; 450], мікробні або вірусні захворювання [201; 504], дисбактеріоз кишечника [201; 221; 369; 480].



Дослідженнями останніх двох десятиліть переконливо доведено, що більшість стресів птиці, незалежно від джерела стресу, пов'язані з дисбалансом утворення та детоксикації вільних радикалів. На молекулярному рівні окиснювальний стрес розглядається як ключова ланка негативних наслідків кормових, середовищних, технологічних і біологічних / внутрішніх стресів у сучасному птахівництві [595]. Доведено, що адаптація до стресів здійснюється на рівні генів, які отримали назву вітагени. До них належать білки теплового шоку (HSP); СОД; система тіоредоксинів та система глутатіону, сіртуїни [22].

Нині концепція вітагенів успішно перенесена з медицини у птахівництво і доведена її практична ефективність [595; 596]. Активація вітагенів розглядається як один з найважливіших підходів до підвищення стійкості сільськогосподарської птиці до стресових ситуацій. Це стосується вирощування бройлерів, де стреси починаються від виведення молодняка і його посадки в приміщення для вирощування та тривають до передзабійного стресу [22]. Щодо птиці у період яйценосності, то стресові ситуації пов'язані, передусім, з високою продуктивністю, коли печінка працює на межі своїх можливостей, щоб забезпечити ефективний синтез складових компонентів яйця [76].

У сучасному птахівництві однією з актуальних проблем є активація адаптаційних можливостей птиці з метою підвищення рівня їх продуктивності та збереження. В умовах промислового утримання змінюються природні умови існування птахів, порушується гомеостаз, що призводить до посилення перебігу процесів пероксидації, зниження активності системи антиоксидантного захисту (АОЗ) організму птиці та гальмування процесів росту, погіршення якості продукції. В організмі птиці на початку та в період становлення яйцекладки зростає інтенсивність метаболічних процесів та відбувається активація системи АОЗ, яка бере участь у знешкодженні активних форм Оксигену, що утворюються внаслідок інтенсивного функціонування дихального ланцюга мітохондрій.

В умовах оксидативного стресу, коли утворення активних форм Оксигену (АФО) значно зростає, дуже важко запобігти пошкодженню органів і систем тільки внаслідок природнього резерву АОЗ організму. Сучасна стратегія

боротьби із стресом передбачає введення екзогенних антиоксидантних препаратів зі здатністю до рециклізації, тобто регенерації антиоксидантних властивостей та пролонгації їх дії. Існує багато антиоксидантних препаратів, передумовою створення яких слугувало встановлення важливості їх застосування для регуляції прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

На початку XXI століття усе більшу увагу вчених привертають розробки, пов'язані з виробництвом матеріалів, отриманих за допомогою нанотехнологій. Наразі обсяги світового виробництва наноматеріалів стрімко зростають.

Наноматеріали внаслідок явища розмірної дії мають унікальні нові властивості, що відрізняють їх від макро- та мікрочастинок [444; 483]. Значне збільшення співвідношення поверхні до об'єму призводить до збільшення функції та реактивності атомів, які знаходяться на поверхні наночастинок. Серед наночастинок металеві та неметалеві наночастинки привертають велику увагу завдяки своїм каталітичним, абсорбуючим, оптичним властивостям та особливо біологічним та медичним методам нанесення [161; 444].

Широкі перспективи для одержання адаптогенних та антиоксидантних препаратів з унікальними властивостями відкриває нанофармацевтика. Відомо, що використання у годівлі тварин та птиці природних сполук лантаноїдів, зокрема церію, позитивно впливає на їх продуктивність. Перехід у нанокристалічний стан діоксиду церію посилює його біологічну активність та дає змогу оптимізувати характер внутрішньоклітинних реакцій завдяки інактивації активних форм Оксигену у клітині.

Впродовж останніх десятиліть дослідження щодо розвитку екологічно чистих процесів виробництва біогенних наночастинок металів, оксидів металів та металоїдів, включаючи окисно-відновний металоїд Селен у нано-формі, отримали велику увагу як альтернатива трудомістким фізико-хімічним методам, дорогим і неприйнятним для навколишнього середовища через вплив органічних розчинників, які використовуються для синтезу наноструктур [483].

Традиційні добавки Селену зазвичай є високотоксичними та мають низький рівень абсорбції, тому розробка систем, що використовують сполуки

Селену як переносники для підвищення біодоступності елемента та контролюють його вивільнення в організмі, є надзвичайно важливими. Нанорозмірний Селен зумовлює значний інтерес як кормова добавка, особливо за селенодефіцитних станів, а також як терапевтичний засіб без значної побічної дії, що примушує дослідників акцентувати увагу на включенні нанотехнологічних застосувань, вивченні ефективного шляху введення та узагальнені знання про наночастинки Селену, їх біологічних впливах та перевагах, механізмах абсорбції.

Системи наночастинок розглядають як альтернативу пероральному надходженню ліків та препаратів [162; 397] та кормових добавок. Ефективність застосування біологічно активних добавок (омега-3 та омега-6 жирних кислот, про- та пребіотиків, вітамінів та мінералів) у препаратах наночастинок розглядалась у численних публікаціях [318; 413; 518], деякі наразі клінічно використовуються [411; 658], інші тільки починають розвиватися [647]. Стимулом для використання нанотехнологій у живленні та харчуванні є такі переваги, як смак і запах, введення і розчинність, захист від окиснення та ферментативної деградації, подовження часу перебування та ефективно проходження через шлунково-кишковий тракт, що підвищує біодоступність застосованих речовин [391]. Більшість пероральних добавок мають недоліки (недостатній час перебування, невисока проникність і розчинність, нестабільність під час виробництва (температура, присутність кисню, світло) чи в середовищі шлунково-кишкового тракту (рН, ферменти, наявність інших поживних речовин), які знижують активність та потенційну користь від їх використання. Отже розробка нових препаратів та методів їх створення є доречними для досягнення фізіологічного та терапевтичного ефекту [446].

Використання наночастинок має ряд переваг [413; 694], до яких відносять різні шляхи їх адміністрування, нижчу токсичність у порівнянні із іншими сполуками, вищу стабільність таких нутрієнтів в умовах шлунково-кишкового тракту та підвищену здатність до транспортування. НЧ є біодоступнішими, легше проникають через клітинні стінки, порівняно із мікропрепаратами, є

контрольованими та триваліше використовуються цільовими сайтами. Їх фізико-хімічними властивостями можна маніпулювати для досягнення оптимальної спрямованості препаратів та для надання здатності протистояти дії згубної рН, обробці та навколишньому середовищу. Також наночастинки довше зберігаються за створення при їх синтезі слизових захисних покриттів.

Наночастинки Селену (SeNPs) є біодоступнішими та менш токсичними, порівняно з його неорганічними та органічними формами [518], а неорганічні сполуки Se токсичніші за органічні. Біологічні властивості SeNPs залежать від їх розміру: дрібніші є активнішими та *in vitro* поглинаються швидше (частинки розміром 0,1 мкм в 2,5 та 6 разів більше, порівняно з частинками розміром 1 та 10 мкм відповідно). Важливими є розмір, морфологія частинок та матеріал для інкапсуляції [132]. Використання кормових добавок, інкапсульованих у НЧ, є потенційно значимим для поліпшення їх біодоступності з можливістю зміни властивостей, зокрема стійкості до несприятливих значень рН, перетравлення та ферментативного розщеплення [694].

Перевагою нано-селену (Nano-Se) є можливість використання елемента в нульовому ступені окиснення ( $\text{Se}^0$ ), що проявляє низьку токсичність та високу біодоступність порівняно із  $\text{Se}^{+4}$  та  $\text{Se}^{+6}$  [198; 581].  $\text{Se}^0$  є дуже нестабільним і легко перетворюється у неактивну форму, стабілізації його можна досягти шляхом інкапсуляції у нано-транспортні засоби, наприклад, хітозан [710].

Nano-Se широко використовується з біомедичною метою завдяки здатності знижувати окиснювальний стрес [436; 580], антиоксидантним властивостям порожнистих сферичних SeNPs [495], що знижують ризик токсичності елемента, хіміопротективній здатності [694]. Описано використання Nano-Se у якості протиракового препарату [582; 658], носія протиракової доставки ліків [235], антимікробного [196; 481; 528], протигрибкового [368], імуностимулюючого засобу [518], препарату для лікування металевого отруєння [138; 139; 485] та засобу корекції фізіологічних функцій [162; 697]. Описаний антипротозойний ефект Nano-Se, а біогенні SeNPs у дослідженнях *in vitro* та *in vivo* проявляли терапевтичний ефект при

лікуванні локалізованих уражень, зумовлених *Leishmania major* та *Leishmania babyum* [552].

Основні ефекти SeNPs розглядалися в багатьох дослідженнях [318; 411; 532; 636]. До таких ефектів відносять антиоксидантну здатність, зменшення ризиків від надлишкового надходження заліза та хрому, участь в імунomodуляції та протимікробному, протипаразитарному захисті. Нано-селен діє як протионкотичний агент, стимулює стресостійкість, позитивно впливає на утворення шлункових ферментів та перетравлення, збільшує вміст Селену у м'ясі, прискорює швидкість росту, росту шерсті та волосся, приймає участь у репродукції, поліпшує пам'ять, захищає від жирового переродження печінки.

SeNPs можуть бути синтезовані хімічно [398], з використанням фізичних процедур, чи біологічним шляхом – з використанням мікроорганізмів чи рослинних екстрактів, так званого “зеленого синтезу” [162; 560].

SeNPs зазвичай отримують відновленням розчину селенітної кислоти аскорбіною кислотою за присутності полісахаридів (глюкоманани, камеді, карбоксиметилцелюлоза) [398], оптимальних для перорального введення з біомедициною та кормовою метою через біосумісність, неімуногенність, не токсичність, чутливість до рН, біорозкладанність, потенціал у розробці систем доставки ліків [519]. Полісахариди містять реакційноздатні аміно-, гідроксильні чи карбоксильні групи, що суттєво впливають на утворення, стабілізацію та ріст SeNPs [398]. Отримані монодисперсні сферичні частинки Селену дуже стабільні в розчині та можуть бути використані у якості дієтичної добавки [573], а за інкапсуляції у полісахариди [121] Селен ефективно постачається в клітини, утримується в них, знижуючи ризик пошкодження ДНК та полегшуючи експресію селенопротеїнів.

SeNPs отримують також індукованим іонною рідиною синтезом із селеносульфатом натрію у якості попередника Селену за присутності полівінілового спирту як стабілізатора. В даному випадку утворюються сферичні SeNPs розміром 76–150 нм [330].

Висока вартість виробництва SeNPs хімічними методами та наявність

токсичних побічних продуктів призвели до розробки нових методів синтезу NPs [314]. Рослини, гриби та бактерії здатні перетворювати іони токсичних металів у менш токсичні форми металевих осаджувачів чи NPs [360], завдяки чому сформувався екологічно чистий підхід синтезу [352; 499]. SeNPs були синтезовані з використанням водного екстракту *Allium sativum* [238], екстрактів чаю [716], екстрактів листя *Clausena dentata* [583], розчину полісахариду *Undaria pinnatifida* [259] та екстракту листя *Terminalia arjuna* [485]. Біосинтез наноматеріалів з використанням рослинних екстрактів має ряд переваг порівняно з іншими біологічними методами через невисоку вартість і відсутність особливих умов проведення [560], а бактеріальний синтез NPs ефективніший за хімічний завдяки високій чистоті селенових сфер (відносно регулярних і однорідних, розмір залежить від бактерій), дешевшому і швидшому процесу виробництва та здатності контролювати параметри [371].

Мікроорганізми здатні синтезувати металеві НЧ [560; 658], відновлювати  $\text{Se}^{+4}$  (селеніт) та/чи  $\text{Se}^{+6}$  (селенат) до менш токсичного  $\text{Se}^0$  з утворенням SeNP. Біогенні SeNPs показали значний потенціал застосування в галузі медицини, біосенсорів та відновлення навколишнього середовища (рис. 1.1) [603]. Зокрема штами *Bacillus megaterium* (BSB6 і BSB12) із середовища засолених мангрових лісів без забруднення Селеном здатні перетворювати  $\text{Se}^{+4}$  на  $\text{Se}^0$  навіть за присутності високих концентрацій солі [371].

Синтез SeNPs макро- та мікроорганізмами через різноманітність відновлюючих ферментів включає морфологічні зміни та зміни форми частинок [632], змінюючи редокс-статус, відновлюючи ферменти, що перетворюють іони металів ( $\text{Se}^{-2}$ ) у SeNP без заряду ( $\text{Se}^0$ ), а біологічна активність SeNPs включає їх захисну роль проти окиснення ДНК [560]. Деякі анаеробні бактерії дихають токсичними оксианіонами Селену і зумовлюють позаклітинне накопичення елементарного Селену  $\text{Se}^0$ . Спектральні властивості аморфного  $\text{Se}^0$ , утвореного хімічним окисненням селеніду гідрогену ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) значно відрізняються від чорного, скловидного  $\text{Se}^0$ , утвореного хімічно при відновленні селеніду аскорбатом. Мікробіальний синтез наносфер  $\text{Se}^0$  призводить до унікального,

складного, компактно наноструктурно розташування атомів Селену, що, вірогідно, відображає різноманіття ферментів дисиміляційного відновлення, відмінних у різних бактерій. Дані умови не досягаються методами хімічного синтезу [499].

Для біосинтезу SeNPs використовувались різні види бактерій: види *Proteobacteria* (*Escherichia coli* ATCC 35218 [353], рекомбінант *E. coli* [340], *Ralstonia eutropha* [584], *Enterobacter cloacae* Z0206 [579], *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 [354], *Klebsiella pneumoniae* [534], *Pantoea agglomerans* [132], *Zooglea ramigera* [534], штам *Rhodopseudomonas palustris* N [374], *Shewanella* sp. HN-41 [375], *Azoarcus* sp. CIB [246], *Burkholderia fungorum* [337], *Stenotrophomonas maltophilia* [196], *Firmicutes Lactobacillus casei* [181; 371; 534], *Lactobacillus acidophilus* LA-5 [371], *Lactobacillus helveticus* LH-B02 [371], *Enterococcus faecalis* [560], *Streptococcus thermophilus* [371], *Staphylococcus carnosus* [232], *Bacillus* sp. MSh-1 [252], *Bacillus subtilis* [352], *Bacillus mycoides* SelTE01 [481], *Bacillus licheniformis* JS2 [581], *Actinobacteria Streptomyces* sp. ES2-5 [603], *Bifidobacterium* BB-1272 та *Cyanobacteria Arthrospira (Spirulina) platensis* [723].

Для *in vivo* синтезу Nano-Se використовувались одноклітинні еукаріотичні організми *Tetrahymena thermophila* SB210 [198], дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* [198], генетично модифіковані *Pichia pastoris* [226], та навіть багатоклітинні організми *Ascomycota Aspergillus terreus* [714].

У наших дослідженнях ми використовували пробіотичний штам *L. casei* ІМВ В-7280, що був виділений із асоційованої культури під час лабораторних досліджень ферментованого біологічного матеріалу. Цей штам є непатогенним, нетоксичним, генетично однорідним; не піддавався мутагенним впливам та генетичним трансформаціям. Є нерухливим, має паличкоподібну форму, не утворює спор, позитивно фарбується за Грамом; факультативний анаероб, каталазонегативний.

Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості штаму відповідають тим, які наведені у визначнику бактерій Bergey для *L. casei*. Ідентифікація монокультури *L. casei* ІМВ В-7280 за допомогою визначення

нуклеотидної послідовності гена 16S рДНК методом секвенування також підтвердила його належність до даного виду.

Штам вирощували за  $38,0 \pm 1,0$  °C впродовж 18–24 год на середовищі MRC. Він зберігає життєздатність на середовищах з широким діапазоном рН від 1,0 до 8,5; а також за наявності жовчі, холестеролу, шлункового соку, ферментів травлення, фенолу [685]. Зброджує широкий спектр вуглеводів і спиртів: целобіозу, фруктозу, галактозу, глюкозу, глюконат натрію, лактозу, мальтозу, манозу, манітол, рамнозу, рибозу, цукрозу, трегалозу, саліцин [346]. Не зброджує: арабінозу, мелібіозу, рафінозу, крохмаль, ксилозу. Довготривало зберігається (до 2 років) у ліофілізованому стані в запаяних ампулах.

Корисні властивості штаму обумовлені структурними компонентами клітинної стінки, а також його високою здатністю до синтезу лактатної кислоти, перексиду гідрогену та антибіотикоподібних речовин [430]. Має високу адгезивність до епітеліоцитів та антагоністичну активність стосовно музейних та клінічних штамів патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів: стафілококів, стрептококів, кандид, псевдомонад, кишкової палички тощо.

Штам *L. casei* IMB B-7280 рекомендовано використовувати для створення лікувальних, лікувально-профілактичних та профілактичних медичних і ветеринарних пробіотичних препаратів з антибактеріальною та імуномодулювальною дією, а також для отримання дієтичних добавок [276].

Лактобактерії можна розглядати, як важливу частину технологій продукції наночасток. Здатність лактобактерій до трансформації селеніту натрію з утворенням наноселену та інших сполук органічного Se придатних для харчування людини та тварин дає можливість розглядати їх як дешеве джерело органічного Se та наноселену.

Вибір бактерій роду *Lactobacillus* у якості продуцентів біогенного Nano-Se обумовлений здатністю лактобактерій перешкоджати розмноженню патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, підвищувати імунорезистентність макроорганізму та належністю їх до категорії безпечних мікроорганізмів



(GRAS).

Антагоністична активність лактобактерій обумовлена дією неспецифічних (утворення органічних кислот, створення низького окисно-відновного потенціалу внаслідок утилізації кисню, конкурування за поживні речовини) та специфічних (продукція антибіотиків, бактеріоцинів, жирних кислот з коротким ланцюгом) речовин. Було виявлено, що штами лактобактерій мають здатність накопичувати пізній органічний селен та елементарний Nano-Se у внутрішніх компартаментах клітин при культивуванні з неорганічними формами Se. Здатність до утворення Nano-Se є дуже цінною характеристикою лактобактерій. Оскільки це може бути дешевим джерелом органічного Se для людини та годівлі тварин та птиці [574].

Для синтезу наноселену ми використовували культуру *L. plantarum* IMB V-7679, особливістю якої є наявність значної кількості поліфосфатних гранул, що добре нами виявлялися за допомогою TEM. Поліфосфат (полі-P) – це неорганічний фосфатний полімер із сотень фосфатів, який може синтезуватися у лактобактеріях за дією ензиму полі-P-кінази (PPK). Фізіологічна роль полі-P у лактобактеріях повністю не визначена, проте є повідомлення, що їх накопичення пов'язане із стійкістю до кількох стресів, зокрема до окисного [137]. Особливістю бактерій виду *L. plantarum* є висока антиоксидантна здатність за відсутності ферменту супероксиддисмутази та наявність високих концентрацій (20–30 мМ) внутрішньоклітинних іонів  $Mn^{2+}$  [136; 425]. Для *L. plantarum* встановлена наявність унікальної Mn-кофакторної каталази, а також неферментативного комплексу мілімолярного Mn(II), який виконує функцію мікромолярної супероксиддисмутази, що міститься у більшості інших аеротолерантних клітин. Наявність Mn(II) забезпечує кисневу толерантність [136], а у комплексі з поліфосфатом залучаються до механізмів захисту від оксидативного стресу [135]. Слід зазначити, що в геномі *L. plantarum* присутні гени, що кодують білки, які беруть участь у реакціях на окиснювальний стрес, а саме: NADH-оксидази, GSH-редуктази, GSH-пероксидази, NADH-пероксидази та тіоредоксини [348]. Різноманітні позитивні ефекти надає на організм людини

систематичне споживання продуктів, що містять *L. plantarum* [212]. Хороші технологічні характеристики мікроорганізмів виду *L. plantarum*, а саме, надзвичайна стійкість до дії високих температур, екстремальних значень рН, висушування та впливу етанолу забезпечують можливість його широкого застосування у виробництві [207]. Культура *L. plantarum* ІМВ В-7679 зберігає життєздатність на середовищах за наявності жовчі, холестеролу, шлункового соку, ферментів травлення, фенолу [548; 641]. Глюкозу зброджує без утворення вуглекислого газу, на бульйоні з 2 % глюкози накопичує молочну кислоту.

Корисні властивості штаму *L. plantarum* ІМВ В-7679 обумовлені продуктами метаболізму та структурою пептидоглікану клітинної стінки, під впливом яких змінюються показники імунореактивності, а також його антагоністичною дією відносно патогенних штамів мікроорганізмів, у т.ч. золотистих стафілококів, що пов'язано із синтезом молочної кислоти, пероксиду гідрогену, антибіотикоподібних речовин, а також з їх здатністю адгезуватися до клітин організму людини [372; 674]. Штам *L. plantarum* ІМВ В-7679 використовується для отримання біомаси, яка є вихідною сировиною для одержання препаратів із імуномодулювальними властивостями [486].

Для дослідження впливу селеніт-іонів на ріст лактобактерій та визначення їх здатності до трансформації селеніту натрію з утворенням біогенного наноселену (Nano-Se) було проведено серію дослідів. Перша серія досліджень проведена на культурах *L. casei* ІМВ В-7280 та *L. plantarum* ІМВ В-7679 при їх вирощуванні на рідкому поживному середовищі MRS за наявності 1, 5, 10 ppm Se у вигляді  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . Ріст дослідних пробіотичних культур за наявності селеніту натрію супроводжувався зміною кольору середовища культивування. Підвищення концентрації до 10 ppm Se у вигляді  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  призводило до зниження життєздатності культури *L. casei* ІМВ В-7280. Так, пробіотична культура *L. plantarum* ІМВ В-7679 виявила здатність до росту за наявності (10 ppm Se у вигляді  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) на рідкому MRS. Властивість *L. plantarum* ІМВ В-7679 до росту за наявності селеніту натрію (10 ppm за Se) підтверджували шляхом висіву аліквот на поживне середовище MRSA. Колонії

цього штаму мали білий колір, були дрібними та округлими.

Отримані нами дані свідчать, що штами *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 виявили дозозалежну здатність до росту за наявності від 1 до 10 ppm Se у вигляді  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . Найбільшу стійкість до високих концентрацій селеніту натрію виявила культура *L. plantarum* IMB B-7679.

Результатами досліджень доведено, що внесення 30 ppm Se у вигляді  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  у культуральне середовище *L. plantarum* IMB B-7679 супроводжувалось зміною кольору культурального середовища до темно коричневого та утворенням наноселену. Суспензію *L. plantarum* IMB B-7679 об'ємом 1,5 мл осаджували в мікроцентрифузі. Осад ресуспендували в 0,15 М NaCl. Осадження клітин центрифугуванням, під впливом селеніту натрію призводило до утворення червоного осаду бактеріальних клітин та супроводжувалось фарбуванням фізіологічного розчину у червоний колір.

Колонії *L. plantarum* IMB B-7679 мали типовий напівпрозорий білий колір при вирощуванні у рідкому поживному середовищі MRS, тоді як за наявності селеніту за рівнем Se починаючи від 3 ppm до 10 ppm виявляли появу червоного кольору. Внесення 30 ppm супроводжувалось виникненням червоно-коричневого кольору.

Отже, культури *L. plantarum* IMB B-7679 та *L. casei* IMB B-7280 виявили здатність до росту за наявності від 1 до 10 ppm Se у вигляді  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . При осадженні суспензії бактеріальних клітин встановлено забарвлення бактеріальних клітин у різні відтінки червоного кольору, що свідчить про утворення біогенного Nano-Se [675]. Такий колір може бути зумовлений продуктами окисно-відновних процесів, що призводять до виділення наночасточок елементного  $\text{Se}^0$  з/або утворенням Se-білкових сполук.

У процесі виконання досліджень встановлена здатність *L. plantarum* IMB B-7679 відновлювати селеніту до нерозчинного елементарного селену, електронно щільних гранул  $\text{Se}^0$ . Наявність сферичних електронно щільних гранул  $\text{Se}^0$  відмічали як у цитоплазмі, так і у позаклітинному просторі *L. plantarum* IMB B-7679. Встановлено, що штам *L. plantarum* IMB B-7679

здатний до редукції селеніту до елементарного селену і депонування його, як дискретної гранули у цитоплазмі з подальшим вивільненням Nano-Se. За даними TEM виявлено, що електронно щільні гранули селену у разі культивування *L. plantarum* IMB B-7679 у середовищі, збагаченому 5 ppm Se (IV), перебували у стаціонарній фазі росту культури. Наночастки Se, що синтезовані *L. plantarum* IMB B-7679 візуалізувалися за допомогою TEM, вони мали сферичну форму та їх розмір становив 150–180 нм. Дослідні пробіотичні культури виявили суттєві відмінності у синтезі Nano-Se. Встановлено здатність *L. plantarum* IMB B-7679 до синтезу більш однорідних часточок біогенного Nano-Se. Пробіотична культура *L. plantarum* IMB B-7679 виявила здатність швидко редукувати  $\text{Se}^{4+}$  з утворенням Nano-Se у внутрішніх компартаментах клітини. Отже, була показана здатність цього штаму лактобактерій до відновлення селеніт-іонів з утворенням Nano-Se.

Культура *L. plantarum* IMB B-7679 виявилась толерантною до селеніт-іонів ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ), оскільки вона під впливом 5 ppm Se у формі селеніту натрію зберігала життєздатність та не руйнувалась. Здатність до синтезу однорідних наночасток та збереження життєздатності *L. plantarum* IMB B-7679 під впливом селеніту натрію, як найбільш стійкого штаму до дії селеніту, обумовило вибір цієї культури як найперспективнішої для створення кормових добавок на їх основі.

Нашими дослідженнями та дослідженнями інших авторів [442] доведено, що біодоступність різних форм Селену різниться. Це стосується і методів їх одержання. Нанопреципітовані наночастинки були сферичними та сильно мінливими щодо розміру [170], а НЧ, отримані методом емульсійного випаровування – сферичні, нерегулярні по формі, однорідні по розміру в межах від 30 до 200 нм.

Більший розмір часточок, дзета-потенціал та індекс полідисперсності виявлені для часточок, отриманих методом нанопреципітації з використанням етанолу як розчинника полімерів. Вивільнення Селену із NPs контролювалось *in vitro* при різних значеннях рН і було вище у сильно кислому середовищі (рН менше 4), що є обов'язковою умовою для забезпечення кращої доступності

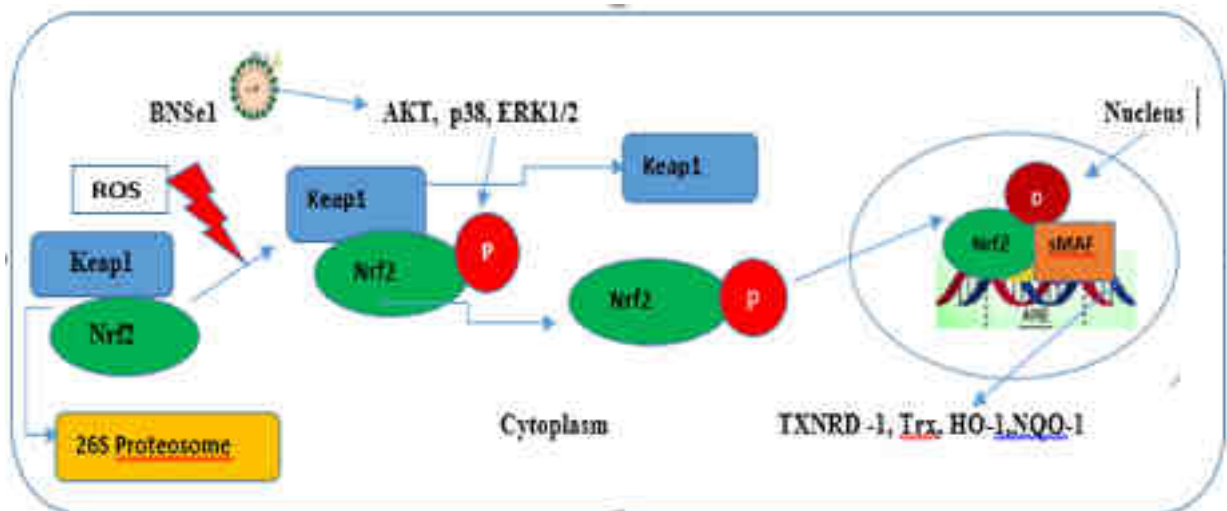
елементу. При значеннях рН нижче 4 засвоєння Селену зростає до 62 % [170], у порівнянні з рН 6. Засвоєння наноселену залежить від виду тварин [170; 442]. SeNPs демонструють окрім кращої доступності Селену набагато меншу його токсичність [580].

Біогенний наноселен, синтезований за допомогою *L. casei* захищає кишковий епітеліальний бар'єр від наслідків оксидативних ушкоджень, нормалізує функції мітохондрій, за участю сигнального шляху Nrf2/ARE [489].

На основі результатів власних досліджень та даних літератури підтверджується припущення щодо впливу наноселену на активацію шляху Nrf2-ARE та фізіологічну функцію кишкових епітеліальних клітин. Обробка клітин IPEC-J2 частинками біогенного наноселену значно збільшило вміст фосфорильованого Nrf2 без помітного впливу на рівні білка Keap1 [679], що свідчить про активацію Nrf2 Keap1-незалежним шляхом, без участі його сенсорних цистеїнів. Показано, що частинки BNSe активували шлях Nrf2-ARE через p38, ERK 1/2 і АКТ-опосередковане фосфорилування Nrf2 з подальшим поліпшенням антиоксидантної функції кишкових епітеліальних клітин. При цьому відбувається ініціація транскрипції антиоксидантних і ферментів детоксикації, таких як NAD(P) H: хінон-оксидоредуктаза 1 (NQO1), гем-оксигенази-1 (HO-1), цитопротекторний фермент, який регулює антиоксидантні і запальні реакції, тіоредоксинредуктаза (TXNRD) та тіоредоксин. Підсумовуючи аналітичні дані світових науковців [578; 679] нами [159] був запропонований адаптований механізм активації шляху Nrf2/ARE наночастинками біогенного наноселену (BNSe), синтезованими за участю бактерій (рис. 4.1).

Важливим результуючим фактором активації Nrf2 біогенним наноселеном є транскрипція і синтез компонентів тіоредоксинової системи, що складається з тіоредоксину (Trx) і тіоредоксинредуктази (TXNRD). TXNRD – селенофермент і NADPH-залежний флавопротеїн, який відновлює окиснений Trx до його дітіольної форми для підтримання окисно-відновного гомеостазу клітин і захищає ДНК від ушкоджень, пов'язаних з окисним стресом [370].

Існують різні Keap1-незалежні шляхи активації Nrf2, такі як активація сигнальних каскадів протеїнкіназ молекулами, які модифікують клітинний окисно-відновний статус [558]. Показано, що фосфорилування за певним амінокислотним залишком Nrf2 (Ser-40) може збільшити його стабільність і трансактивуючу активність [451]. Типові сигнальні шляхи протеїнкіназ включають фосфатидилінозитол 3-кіназу (PI3K), мітогенактивовану мітогенкіназу (MAPK), протеїнкіназу С (PKC) і глікоген синтетазкіназу-3 (GSK3). Фосфорилування Nrf2 за допомогою PI3K, PKC, c-Jun N-терміналкиназою (JNK) і позаклітинною сигналрегульованою кіназою (ERK) забезпечує позитивну регуляцію, тоді як p38 MAPK (MAP кіназа мітогенактивована протеїнкіназа) регулює шлях Nrf2 як позитивно, так і негативно [349; 616].



**Рис. 4.1. Механізми активації шляху Nrf2/ARE наночастинками біогенного наноселену (BNSe), синтезованими за участю бактерій у кишкових епітеліальних клітинах (ІРЕС-Ј2) [Адаптовано з 578; 679]**

В умовах гомеостазу Nrf2 утворює комплекс з Keap1 у цитозолі, що сприяє поліубіквітуванню і деградації Nrf2 26S протеасомою. При оксидативному стресі обробка клітин частинками BNSe1 активує Nrf2, використовуючи Keap1-незалежний шлях активації, через p38, ERK1/2 і АКТ-опосередковане фосфорилування Nrf2. Nrf2 відщеплюється від репресора Keap1, транслокується в ядро клітини, зв'язується з ARE і sMAF, що зумовлює

експресію антиоксидантів і цитопротекторних генів: тіоредоксин редуктази-1 (TXNRD-1), NADPH-квінон оксидоредуктази-1 (NQO), гемоксигенази-1 (HO -1) і тіоредоксину (Trx).

У дослідженнях Xu et al. [681] встановлено, що біогенні наночастинки Селену (SeNPs), синтезовані за допомогою бактерій *Lactobacillus casei* ATCC 393, мали розміри 50–80 нм, концентрувалися у внутрішньоклітинному просторі, були стабілізовані білково-полісахаридною оболонкою. SeNP у концентрації менше 25 мкг Se/мл не мали цитотоксичності щодо нормальних епітеліальних клітин людини (NCM460). Показано, що токсичність різних форм Селену спадала в наступному порядку: селеніт натрію > метіонат селену > SeNPs. Встановлено, що SeNP після ендоцитозу індукували апоптоз клітин HepG2 за участю каспаз, зменшували оксидативний стрес в епітеліальних клітинах кишечника, індукований прооксидантами (дикватом, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), зменшували концентрацію кінцевого продукту пероксидного окиснення ліпідів (малонового діальдегіду), підвищували активність селензалежної глутатіонпероксидази. На моделі окисного пошкодження епітеліальних клітин слизової оболонки товстої кишки людини (NCM 460), індукованого пероксидом гідрогену продемонстровано, що SeNP, синтезовані за допомогою *L. casei* ATCC 393, знижують рівень АФО, MMP і зберігають проникність клітин [488].

За додавання до раціону птиці наноселену ми спостерігали активацію білкового обміну в їх організмі, що виражалось зміною вмісту загального протеїну, альбумінів та основних метаболітів. При цьому виявлений вплив наночастинок на процеси пероксидного окиснення ліпідів. Це дає змогу припустити, що окрім того, що BNSe2 підвищували рівні білка Nrf2, HO-1, NQO-1 і нейтралізували пошкодження ультраструктури мітохондрій, зумовлені окиснювальним стресом (рис. 4.2). Додавання низькомолекулярного інгібітора Nrf2 (ML385), який зв'язується з Neh1, доменом Nrf2 і перешкоджає утворенню білкового комплексу MAF-Nrf2 з регуляторними зв'язуючими послідовностями ДНК, не відбувається транскрипція генів антиоксидантних ферментів і усувається захисна дія біогенного наноселену.

Отже продемонстровано, що біогенні BNSe2, синтезовані за допомогою *L. casei* ATCC 393, захищають кишкову епітеліальну бар'єрну функцію від наслідків оксидативних ушкоджень, нормалізують функції мітохондрій за участю сигнального шляху Nrf2/ARE.

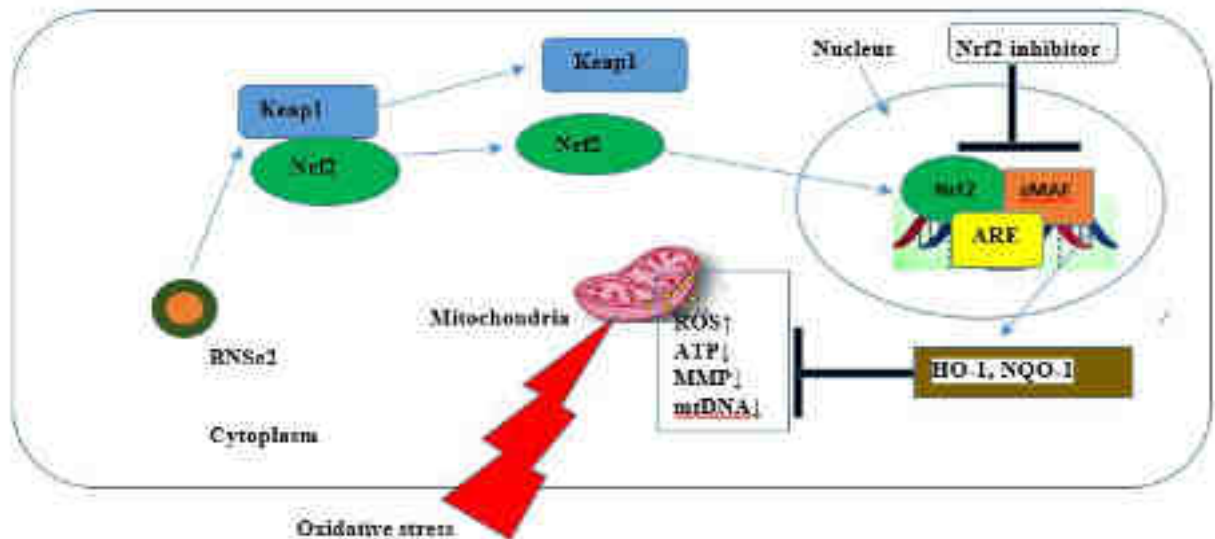


Рис. 4.2. Механізм протекторної дії біогенних SeNP, синтезованих *Lactobacillus casei* ATCC 393 на кишковий епітеліальний бар'єр, що нейтралізує окиснювальні пошкодження [Адаптовано із 488; 681]

Інгібітор Nrf2 усуває антиоксидантну дію BNSe2, перешкоджаючи утворенню комплексу sMAF-Nrf2 і зв'язуванню його з ARE. BNSe2, біогенні наночастинки Селену; ARE, антиоксидантний елемент відповіді; MMP, мітохондріальний мембранний потенціал.

Дуалізм мітохондрій виявляється в тому, що вони є основним джерелом активних форм кисню (АФО) і в той же час високочутливою мішенню оксидативного стресу. Пошкодження мітохондрій призводить до біоенергетичної дисфункції і клітинної смерті як шляхом некрозу, так і апоптозу. Показано, що активація Nrf2 індуктором сульфорафаном активізує мітохондріальні антиоксиданти і захищає мітохондрії від дисфункції, а також нервові клітини від ушкодження і смерті [269].

Цікаво, що залежно від виду бактерій, що приймають участь у біогенному синтезі наночастинок, розміру часток і стабілізуючої оболонки, активація



сигнального шляху проходить по Keap1-незалежному шляху активації Nrf2, що включає фосфорилування Nrf2 різними протеїнкіназами [679] і Keap1 залежному шляху. Частинки наноселену, отримані хімічними методами, приймають участь в антиоксидантному захисті шляхом включення в структуру селенопротеїнів [578].

Аналізуючи спосіб введення, то пероральне введення NPs – економічно найефективніший метод прийому добавок, однак абсорбція NPs може бути утруднена абсорбційними бар'єрами травного тракту (слиз та слизова оболонка кишечника), основна функція яких полягає у захисті слизової оболонки від потенційних патогенних мікроорганізмів чи хімічних речовин та підтримці різного рівня рН між просвітом та слизовою оболонкою кишечника [397].

NPs можуть проходити через кишковий епітелій двома шляхами: параклітинним (між сусідніми клітинами) чи трансклітинним (через клітини) [397]. У фізіологічних умовах перший шлях обмежений вузьким діапазоном міжклітинних просторів та щільністю сполучень між епітеліальними клітинами (діаметр пор складає 0,3–1 нм) [535]. Трансклітинний транспорт NPs відбувається через трансцитоз, що починається з ендоцитозу в апікальній мембрані клітин. У подальшому NPs транспортуються через клітини і вивільняються на базолатеральному полюсі [478].

Епітеліальні клітини кишечника здатні переносити NPs з мінеральними елементами, проте ємність їх обмежена. Ендоцитоз (піноцитоз чи макропіноцитоз) потребує енергії для інтерналізації NPs. Макропіноцитоз залежить від актину, але не від рецепторів, що призводить до інтерналізації великої кількості рідини з частинками розміром менше 5 мкм [133]. На поглинання NPs впливають електричний заряд, гідрофобність поверхні та розмір [284]. Епітеліальна клітинна мембрана травного тракту складається із ліпідів, тому гідрофобні NPs більш абсорбційно ефективні, аніж гідрофільні частинки. Поглинання наночастинок розміром 100 нм у ШКТ у 15-250 разів вище, аніж у крупніших NPs [424].

Nano-Se має кращу антиоксидантну здатність, аніж інші форми Селену,

зокрема селенометіонін (SeMet) при меншій токсичності [694]. Nano-Se спричинив значно вищу активність глутатіонпероксидази (GPx) у печінці поросят-сисунів за концентрації 1,0 мг Se/кг у раціоні, ніж  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  [127].

Окиснювальний стрес впливає на фертильність сперматозоїдів шляхом перекисного окиснення ліпідів, що може призвести до дисфункції сперматозоїдів [158]. Дефіцит Селену призводить до виникнення аномальних мітохондрій сперматозоїдів. Додавання Nano-Se збільшує концентрацію Селену в тестікулах та активність GPx тестікулів та сперми, захищає цілісність мембрани та ущільнює утворення середньої частини мітохондрій [292].

Встановлено важливість материнського введення Nano-Se для поліпшення розвитку волосяного фолікулу та стимулювання росту плоду [518], що було пов'язано із впливом на антиоксидантний статус шкіри плоду (збільшення антиоксидантного захисту та зменшення генерації активних форм кисню). У кашемірових кіз SeNPs позитивно впливали на кількість шерсті, підвищували активність GPx, супероксиддисмутази (SOD), вміст Селену у шкірі та сироватці крові та експресію генів, що контролюють стан шкіри [689]. Крім того, спостерігалось зниження продукції малонового діальдегіду (MDA) у шкірі та сироватці, що впливало на антиоксидантний статус шкіри плодів та значно збільшувало кількість їх вторинних волосяних фолікулів. Низький рівень АФО, вірогідно, активує IGF-1 та IGF-1R, що сприятливо впливає на розвиток волосяних фолікулів плоду. Крім того, надходження SeNPs підвищувало вагу плоду і плаценти [518].

SeNPs відомі своєю антимікробною активністю [188; 498; 588; 723]. Селен – важливий мікроелемент, що регулюється клітинним окисно-відновним гомеостазом [143] і є компонентом селенопротеїнів, які контролюють елімінацію АФО та специфічну ферментну модуляцію [382], дефіцит Селену призводить до сприйнятливості до вірусних інфекцій. За інфікування мишей вірусом грипу H1N1 смертність у групі з дефіцитом Селену була в 3 рази вища, ніж у мишей, що отримували  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  у дозі 0,5 мг Se/кг, а у мишей з низькими концентраціями Селену у сироватці крові відмічалось помітне зниження ваги

тіла та нижчі рівні імуноглобулінів [689].

Синтезовані SeNPs, поверхнево-модифіковані осельтамівіром (OTV) [381], володіли антивірусними властивостями та обмеженням лікарської стійкості. OTV-модифіковані SeNPs, вірогідно, інгібували вірулентність грипу H1N1 та показали меншу токсичність. OTV-SeNPs перешкоджали проникненню H1N1 у клітини хазяїна, інгібуючи активність глікопротеїдів вірусу грипу – гемаглютиніну та нейрамінідази. Модифіковані NP були здатні попереджувати зараження H1N1 клітинами нирок собак і блокувати конденсацію хроматину та фрагментацію ДНК, інгібували генерацію АФО та активацію фосфорилування клітинного пухлинного антигену p53 та Akt, що свідчить про ефективний протівірусний вплив щодо респіраторних захворювань [381; 689].

SeNPs проявляють антибактеріальну активність. SeNPs, синтезовані *R. eutropha*, інгібували ріст *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* та *Streptococcus pyogenes*, а у концентрації 500 мкг/мл SeNPs інгібують ріст патогенних грибів *Aspergillus clavatus*, при чому антимікробна ефективність SeNP може бути співставна з антибіотиком ампіциліном [584]. SeNPs, синтезовані *E. faecalis*, можуть використовуватися як антистафілококові елементи для профілактики та лікування інфекцій *S. aureus* [723]. SeNPs із застосуванням каркасів біоактивного скла (45S5Bioglass) та полі(молочно-со-гліколевої кислоти) (PLGA) (45S5Bioglass / SeNPs та 45S5Bioglass/ PLGA /SeNPs) показав значну антибактеріальну активність по відношенню до грам-позитивних бактерій, *S. aureus* та *Staphylococcus epidermidis* [588]. У дослідженні [692] представлено антибактеріальну дію наночастинок Qe/CdSe/ZnS (кверцетин/селенід кадмію/сульфід цинку) (QCZNP) на лікарську резистентність кишкової палички та *B. subtilis in vitro*. QCZNPs показали помітно ефективнішу антибактеріальну активність, аніж Qe чи CdSe NPs. Дослідження *in vitro* [528] показало, що селенові покриття на полікарбонатних медичних пристроях значно інгібували ріст *S. aureus* до 27 % у порівнянні з непокритою поверхнею.

Антимікробна активність SeNP залежить від шляху їх синтезу. У праці [481] оцінено антимікробну ефективність сферичних біогенних селенових

наноструктур, вбудованих у органічний матеріал, що виробляється *B. mycooides* SelTE01, у порівнянні з двома різними класами хімічних SeNP, отриманих з використанням L-цистеїну чи аскорбінової кислоти. Біогенні SeNP показали однаково ефективну антибіоплівкову активність відносно штамів *P. aeruginosa* та *S. aureus*. Хімічно синтезовані SeNPs у самій високій протестованій концентрації (2,5 мг/мл) показали тільки помірну антимікробну активність. Повідомлено про значно сильніший антимікробний ефект SeNP, синтезованих грам-негативними *S. Maltophilia* та грам-позитивними *B. Mycooides* [196] у порівнянні із синтетично приготованими. Обидва біогенних типи NPs були активні при низьких мінімальних інгібувальних концентраціях відносно ряду клінічних ізолятів *P. Aeruginosa*. Після впливу на дендритні клітини та фібробласти людини всіх трьох SeNP не спостерігалось втрати життєздатності клітин, підвищеного вивільнення АФО та значного збільшення секреції прозапальних та імуностимулюючих цитокінів, що свідчить про надійність застосування SeNPs у медицині, самостійно чи у комбінації із традиційними антибіотиками для інгібування росту клінічних ізолятів *P. aeruginosa*.

SeNPs показали протипухлинну активність [310; 384], мають високий потенціал у хіміотерапії раку [692; 693] та у якості носіїв лікарських засобів [149; 150; 182]. Протипухлинні ефекти SeNP опосередковані їх здатністю інгібувати ріст ракових клітин через індукцію зупинки клітинного циклу в S-фазі [121; 580; 582]. Індукція зупинки клітинного циклу на S-фазі опосередкована дерегуляцією білкового комплексу eIF3 [402]. Клітинна мембрана відіграє важливу роль у спричиненій SeNP токсичності у ракових клітинах. Лікування SeNPs змінює біомеханічні властивості ракових клітин, зокрема знижує силу адгезії та модуль Юнга [402]. Доведено, що SeNPs забезпечують кращу селективність між нормальними та раковими клітинами, ніж  $Se^{+4}$  за аналогічних концентрацій [259]. SeNPs можуть селективно інтерналізуватися раковими клітинами шляхом ендоцитозу та індукувати апоптоз клітин шляхом запуску шляхів апоптичної трансдукції сигналу [339; 405]. Nano-Se має вищу протиракову ефективність, порівняно з іншими

сполуками Селену [382], ключовим механізмом якої є індукція глутатіон-S-трансферази (GST) Селеном [694]. Активність GST у випадку введення Nano-Se збільшилась набагато раніше і помітніше, ніж у випадку SeMet та селеніту.

Нові селензаміщені гідроксиапатитні NPs (SeHAN) можуть стати новим протираковим засобом, що забезпечує перевагу виживання та нижчу токсичність для моделі гепатоцелюлярної карциноми у голих мишей [693], а збагачені SeNP *Lactobacillus brevis* значно збільшують цитотоксичність природніх клітин-кіллерів, впливають на реакції гіперчутливості уповільненого типу, збільшує тривалість життя та зменшує метастазування пухлини [318].

Окрім прямих протиракових ефектів, SeNPs були призначені у якості потенційних носіїв протиракової доставки ліків [121; 580; 582]. Ключовим фактором, що сприяє цитотоксичності ліків на основі наноматеріалів, є клітинне поглинання [235]. Нанорозмір цих матеріалів дає змогу ефективно поглинати клітини різних типів та вибірково накопичувати ліки в місцях призначення. Як і інші хіміотерапевтичні засоби, ефективна цитотоксичність наноматеріалу на основі лікарських засобів потребує високого рівня накопичення всередині ракових клітин [231]. Наноматеріали мають тенденцію накопичуватися у ракових клітинах у процесі пасивного націлювання і часто служать «наноносіями» для хіміотерапії [496]. Крім того, використання різних декораторів поверхні збільшує клітинне поглинання та протиракову ефективність наноматеріалів [339]

Вплив Nano-Se на параметри окисного стресу порівнювали з ефектом органічно зв'язаного селену. Виявлено, що Nano-Se має порівняну ефективність у збільшенні активності GPx у плазмі мишей, як SeMet, але демонструє значно нижчу токсичність. Результати дослідження свідчать, що Nano-Se можна вводити у якості антиоксиданту з пониженим ризиком токсичності Селену [580]. Підвищена регуляція селеноферментів елементним Nano-Se також порівняна з ефектом селеніту та Se-MetSeCys, знову ж таки зі значним зниженням гострої токсичності [174].

Досліджено вплив SeNP на експресію білків теплового шоку (HSP) та

гену HSP90 у якості додаткових параметрів окисного стресу [396]. Посилення кисневого обміну зумовлює утворення АФО [140]. Інтенсивне тренування рясаків може привести до окисного стресу, утворенню АФО та, як результат, до пошкодження ліпідів, білків та ДНК [667]. У доповнення до адаптивних змін у захисних ферментах (SOD, каталаза [667], GPx [497]), окиснювальний стрес у клітинах, як відомо, зумовлює збільшення виробництва стресу чи HSP [667]. Експресія HSP є адаптивним механізмом проти порушення клітинного гомеостазу [140] та цілісності [200; 216] під час фізичних вправ.

SeNPs є перспективним засобом перевірки хронічної токсичності, зумовленої впливом важких металів. SeNPs, синтезовані з використанням екстракту листа *T. arjuna* [353], виявили захисний ефект SeNPs для лімфоцитів людини, оброблених арсенітом ( $As^{+3}$ ), що в майбутньому може використовуватись для мінімізації зумовленого арсеном синтезу АФО, пов'язаною із токсичною небезпекою в районах із забрудненими арсеном ґрунтовими водами.

Виявлена захисна здатність SeNPs щодо спричиненої шестивалентним хромом тиреотоксичності [318]. Токсичний ефект у результаті кисневого пошкодження, зумовленого внутрішньочеревним введенням щурам однократної дози дихромату калію ( $K_2Cr_2O_7$ , 60 мкг/кг), проявлявся значним зниженням рівнів вільного  $T_3$  (трийодтироніну),  $T_4$  (тироксину) та глутатіону, а також значним підвищенням рівнів активності CAT, SOD та вмісту MDA. Введення SeNPs призвело до корекції гормональних рівнів та біомаркерів окисного стресу.

Селен проявляє захисну дію щодо зумовленої кадмієм нефротоксичності [138]. Двотижневе пероральне введення  $Na_2SeO_3$  на тлі введення Cd у сублетальній дозі знижує перекисне окиснення ліпідів та відновлює активність GPx та SOD у нирках. Добавки Селену сприяли накопиченню ниркового Cd у вигляді NPs CdSe та/чи сульфїду кадмію (CdS) (розміром близько 62 нм), що свідчить про здатність Cd індукувати біосинтез червоних флуоресцентних NPs CdSe та CdS у нирках. Зниження Cd-індукованої ниркової токсичності шляхом

введення Селену, вірогідно, пов'язано з його здатністю зв'язувати Cd у нанорозмірних нерозчинних та флуоресцентних комплексах, що свідчить про зниження зумовленого кадмієм окисного стресу комплексоутворенням Cd з Se чи S на нанорозмірному рівні.

Хронічний окисний стрес знижує реакцію нейтрофілів на респіраторний вибух [154]. Nano-Se, що має імуностимулюючий потенціал [318], сильніший та ефективніший у підтримці системи антиоксидантного захисту, порівняно із  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , що ґрунтується на збільшеній хемотоксичній активності та активності нейтрофілів дихального вибуху [518].

Нанорозмірний Селен позитивно впливає на ферментацію рубця та збільшує конверсію поживних речовин [573]. Синтезовані *Lactobacillus spp.* (*Lactobacillus plantarum* та *Lactobacillus johnsonii*) SeNPs знижують життєздатність *C. albicans*, що може бути використано у пробіотичних препаратах [368].

Наноструктуровані ліпідні носії з покриттям із Селену (SeNLC) підвищують пероральну біодоступність та посилюють гіпоглікемічну дію берберину та антидіабетичну дію фітопрепаратів [498]. Nano-Se ефективний у лікуванні ожиріння печінки (FLD), що є ознакою метаболічного порушення молочних корів одразу після отелення [337] і призводить до смертності без належного лікування у 25 % випадків. Також повідомлено [239] про вплив Nano-Se на терапію FLD у самців щурів лінії Wistar.

Попри зростаючу зацікавленість у SeNP та широкий спектр позитивних ефектів, існують сумніви щодо їх токсичності та пересторог щодо їх використання у клініці. Введення Селену може попередити рак та знизити його захворюваність самостійно [390] та у комбінації з хіміотерапевтичними та гормональними препаратами [668], нанотехнології поліпшують профіль розподілу протиракових препаратів у тканинах і клітинах [235], зменшують побічні ефекти [706] та посилюють апоптоз ракових клітин [668]. Селен проявляє вузьку межу між корисними та токсичними ефектами, ефективна його доза як протиракового засобу наближається до межі токсичності. Проте вплив

Селену на здоров'я залежить не тільки від його концентрації, але й від його хімічної форми [337]. Елементарний Nano-Se є менш токсичним, порівняно з SeMet та Se-MetSeCys [580] зі співставною ефективністю у регуляції рівнів селеноферментів та Селену у тканинах.

SeNPs ефективніше за органічні та неорганічні селеносполуки видаляють вільні радикали *in vitro* [174], а їх токсичність *in vivo* у 4-6 разів нижче, ніж у SeMet та Se-MetSeCys [174]. Вища токсичність селеніту, SeCys<sub>2</sub> та SeO<sub>2</sub> пов'язана з їх здатністю ініціювати окиснення толових груп білків [155], що може призвести до зміни активності ферментів із сульфгідрильною групою у складі [556]. Селеніт інтенсивніше за Nano-Se знижує рівень GPx у печінці, збільшує вироблення MDA, знижує активність SOD та CAT у печінці [174]. Nano-Se корегує гострі важкі ураження печінки, проявляючи меншу власну токсичність [580]. Крім того, мікросфери SeNP є ефективнішими та безпечнішими, порівняно з іншими формами [143], як і біметалеві (Ag-Se) NP [436]. Nano-Se також є менш токсичним, аніж білок з високим вмістом Селену [436]. Відповідно, SeNPs мають ширший діапазон між корисними та токсичними ефектами і може слугувати потенційним хіміопрофілактичним засобом з пониженим ризиком токсичності [252].

У дослідженні на моделях ссавців [282] більш вираженою токсичність була за використання неорганічного селену (Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, NaHSeO<sub>3</sub>), ніж після під гострого застосування Sel-Plex (природного джерела органічного селену, що складається переважно із амінокислот (SeCys, SeMet), що виробляється *S. cerevisiae*), Nano-Se (синтезується штамами йогурта *L. acidophilus*, *S. thermophilus* та *L. casei*) чи LactoMicroSe (збагачений Селеном порошок йогурту *L. acidophilus*, *S. thermophilus* та *L. casei*). Токсичність видів Селену знижувалась у порядку: селенат > селеніт > нано-Se > Sel-Plex > лакто-MicroSe [492].

У дослідженнях щодо токсичності Nano-Se для водних організмів показані протирічні результати [151], що пов'язано із багатостороннім (дієтичним та водним) впливами. Однак у дослідженнях [151] використовувались хімічно приготовані NPs, біогенний нано-Se [416] є менш



токсичним, як і SeNP [582], виділені новим способом із грам-позитивних бактерій *B. licheniformis* JS2.

Отже, технічно модифікуючи наночастинки, отримані різними методами, можна застосовувати SeNPs як кормову добавку та контролювати ефекти, що вони здійснюють на організм. Досліджуючи проблеми традиційних форм кормового Селену та переваги SeNPs, механізми проходження наночастинок через слизову оболонку кишечника та особливості їх перорального застосування, результати доводять, що важливістю Селену є регуляція у складі селенопротеїнів фізіологічних процесів, вплив на продуктивні та репродуктивні властивості. Корекція його вмісту у раціоні попереджує ряд селенодефіцитних захворювань, а Селен у наноформі є найдоцільнішим для застосування через високу біодоступність та низьку токсичність, що є особливо актуальним.

Мікроорганізми за наявності високих концентрацій металів розробили специфічні механізми адаптації для зниження їх токсичності, що включало зміну хімічної природи металу [322]. Це призводить до утворення наночастинок відповідного металу, які є "побічним продуктом" механізму адаптивного захисту. Такий "зелений" синтез може бути використаний як альтернатива фізичним та хімічним методам їх отримання [471].

Впродовж останніх десятиліть лактобацили широко застосовуються в якості пробіотиків у продуктах та кормах для здорового харчування та годівлі тварин і птиці. Створення пробіотиків, збагачених Селеном, бактерій, обумовило неабиякий інтерес через властивості Селену (Se), що входить до складу щонайменше 30 селенопротеїнів, що забезпечували активність імунної системи та впливали на тривалість життя. Селен входить до складу глутатіонпероксидази [177], тиреоредуктази [427] та селеноцистеїну 21-ї амінокислоти, яка бере участь у біосинтезі цистеїну (Cys) та реакціях, що знижують процеси окиснення у людини та бактерій.

Однак між концентрацією Se є вузький діапазон, в якому він важливий, і надає токсичну дію. Добова норма для Se у складі селеноцистеїну становить 60 мкг/добу для жінок і 70 мкг/добу для чоловіків [427]. У високих концентраціях

(900 мкг/добу) Селен стає надзвичайно токсичним [165]. Препарати Se у вигляді L-селенометіоніну швидко і повністю засвоюються організмами і зумовлюють мінімальні побічні ефекти. Селенометіонін (Se-Met) включений у сайт метіоніну у різних білках і забезпечує регуляцію ендокринної системи, але Se-Met не синтезується в організмі [538]. Саме тому зараз велика увага приділяється біодоступним формам Se, в тому числі біоселену, які можна отримати за допомогою пробіотичних мікроорганізмів.

Нині широко застосовуються для екологічного «зеленого» синтезу бактерії, зокрема *L. plantarum* та *B. subtilis*. *B. subtilis* привертають багато уваги в біомедичній галузі і використовуються як підхід до детоксикації селенатів у селеніті та відновлення селену та утворення елементарного Селену ( $Se^0$ ) та/або наночастинок Селену (SeNPs) [260; 261; 701]. *B. subtilis* здатна здійснювати реакції окиснення/відновлення завдяки специфічному селеноензиму – метилтрансферазі селену та редуктазі оксиду селену, які мають певну гомологію з арсенатом зі скороченнями *B. subtilis* 168 [590; 591].

Крім того, було показано, що бактерії видів *B. subtilis* мають гомологи NifS (азотфіксація) системи *Azotobacter vinelandii* [593]. Гомологи NifS відіграють загальну роль у мобілізації сірки для синтезу «азотфіксуючої» системи кластерів Fe-S, які підтримують внутрішньоклітинний окисно-відновний гомеостаз. Скупчення генів nifS у прокаріотів та еукаріотів мають високий ступінь секвенування, хоча гени мають різноманітні функції. Наявність гена, подібного до nifS, виявлена для бактерій виду *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*. Отже, продукт гена, схожого на nifS, як *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, згідно з послідовностями, був на 33 % гомологічним продукту гена nifS *B. subtilis*. Наявність гена, подібного до nifS, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* представляє інтерес, оскільки білок NitFS *Azotobacter vinelandii* разом із селеноцистеїном є частиною системи генерування  $Se(0)$ , здатної замінити селенід для біосинтезу селенофосфату *in vitro* [585]. Отже, показано, що *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* LB-12 виявив здатність концентрувати Se внутрішньоклітинно у вигляді наночастинок [467]. Наявність генів, схожих на

nifS, в *Azotobacter vinelandii*, що фіксує азот, а також у *B. subtilis*, *L. bulgaricus* та *S. cerevisiae*, які не фіксують азот, говорить про те, що продукти гена NifS зберігалися під час еволюції. Показано, що деякі гомологи NifS каталізують однотипні реакції, тобто видалення атома сірки або селену з L-цистеїну або L-селеноцистеїну з отриманням L-аланіну. Тобто, білки NifS діють як на L-цистеїн, так і на L-селеноцистеїн [365].

Водночас, кілька ферментів, що беруть участь у метаболізмі сірки, також діють на аналоги Селену субстратів [106]. Отже, серед білків NifS, до складу яких входить селеноцистеїнелаза (SCL) 1 (EC 4.4.1.16) та цистеїну десульфураса, а саме SCL, вважають фермент, що розкладає виключно L-селеноцистеїн. Показано роль селеноцистеїну (Se-Cys) у синтезі специфічних ферментів селену [165]. Отже, селенопротеїни, такі як формаатдегідрогеназа *Escherichia coli*, містять залишки селеноцистеїну. Селеноцистеїл-tRNA<sup>Sec</sup> необхідний для біосинтезу цих селенопротеїнів.

Селенофосфат є високореакційною сполукою, що містить селен, і служить донором селену для отримання селеноцистеїл-tRNA<sup>Sec</sup>. Селенофосфат синтезується з селеніду та АТФ, каталізатором реакції є селенофосфатесинтетаза. Lascourciere і Stadtman [365] виявили, що заміна селеніду NifS та L-селеноцистеїном в аналізі селенофосфатесинтетази *in vitro* призвела до збільшення швидкості утворення селенофосфату, що вказує на те, що Селен отримується з L-селеноцистеїну під дією NifS кращий субстрат, ніж селенід для селенофосфатесинтетази. Тобто для *E. coli* донором селену, необхідного для перетворення серину в селеноцистеїн -tRNA<sup>Sec</sup>, був селенофосфат. Селенофосфат – багате джерело енергії, де мікроелемент Селену безпосередньо пов'язаний з атомом фосфору.

Було встановлено, що кишкова паличка здатна продукувати специфічні білкові типи (*AdhP*, *Idh*, *OmpC* and *AceA*), які пов'язані з синтезом SeNP і відповідають за генерування однорідних SeNP [218]. Окрім того, ці численні групи мікроорганізмів здатні зводити токсичні розчинні форми Se(VI)/Se (IV) до менш токсичних нерозчинних Se<sup>0</sup>, видимих як червоні наночастинки – SeNP.

Виявилося, що SeNP, отримані мікроорганізмами, мають негативний дзета-потенціал, що спричиняє невелику тенденцію до агломерації, які виявляють більшу стійкість до підтримки ступеня дисперсності [559].

Серед бактерій, здатних знижувати вміст Se (IV), було проведено розподіл альфа-, бета-, гамма-, дельта-протеобактерій та фімікутетів [366; 559; 603]. Метаболізм Селену відбувається за допомогою селенофосфатної синтетази [644] і селеноцистеїн синтази (SecS). Селенофосфатна синтетаза генерує донор селену для біосинтезу Se-Cys еубактерій [703]. Se-Cys може метаболізуватися білками, залежними від піридоксального фосфату, селеноцистеїнелазою, щоб вивільнити елементарний Селен [365].

SeNP утворюються не тільки в аеробних та анаеробних умовах, але й з'являються в цитоплазмі, периплазмі та/або зовнішніх клітинах різних бактерій [445], передбачаючи різні механізми відновлення Se(IV). Утворені мікроорганізмами, Se<sup>0</sup> або SeNP можуть вивільнятися клітинами, лізисом клітин або везикулами.

У біологічному аспекті значну увагу привертають бактерії виду *B. subtilis*, які при аеробному вирощуванні за наявності селеніту здатні утворювати сферичні SeNP [237]. Для опису механізму мікробного синтезу SeNP були запропоновані різні гіпотези. Це, перш за все, двоступеневий процес відновлення від (SeO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) до (SeO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) з подальшим накопиченням нерозчинного елементарного Селену (Se<sup>0</sup>) за допомогою каталізаторів – редуктази селену та селену [648].

Отже, грам-позитивні бактерії та грам-негативні мікроорганізми можуть мати різні механізми зниження вмісту селеніту [331].

Однак передумовою високої толерантності до селеніту може бути високий рівень цитоплазматичних молекул, що несуть дисульфід, які діють як каталізатори відновлення дисульфідів та функціональна система захисту від окисного стресу. Окиснення ряду органічних субстратів (наприклад, ацетат, лактат, піруват, гліцероланд-етанол) або водню може бути пов'язане з відновленням арсенату та селенату, але фактичний використовуваний донор

відрізняється від видів до видів. Відомо, що периплазматичний SER (селенатредуктаза) та пов'язані з мембраною арсенати мікроорганізмів містять молібден [590].

Система детоксикації селенових бактерій виду *B. subtilis* не залежить від акцепторів електронів нітриту чи сульфату, а залежить від субстрату. Для *B. subtilis* характерне скупчення гранул  $\text{Se}^0$  у клітині або між клітинною стінкою та плазматичною мембраною [261].

Однак присутність гранул селену спостерігалось тимчасово, при збалансованому зростанні клітин *B. subtilis*, які були адаптовані до селенітовмісного середовища; наявність джерел Селену не була очевидною. Для утворення відкладень SeNP з 1 мМ розчину селеніту в культивованому середовищі *B. subtilis* не потрібно створювати збалансований ріст клітин. Поява та утворення SeNP можуть спричинити лікування лізоцимом *B. subtilis* [260]. Відсутність накопичення SeNP у внутрішніх відділеннях *B. subtilis*, може сприяти накопиченню селенензимів. Властивість культур *B. subtilis* накопичувати  $\text{Se}^0$  у вигляді SeNP у внутрішньоклітинному середовищі, відновлювати дисиміляцію селеніту можна використовувати не тільки для біологічного очищення, але і для продуктів SeNP.

Слід зазначити, що мікробне відновлення сполук Селену відбувається як у периплазматичному просторі (внутрішньоклітинному), так і позаклітинному [457] з утворенням біогенних елементарних наночастинок Селену (BioSeNP), які є стійкими і залишаються в колоїдній суспензії впродовж тижнів [236].

Природно, мікроорганізми здатні засвоювати елементарний Селен ( $\text{Se}^0$ ) [467] до утворення органічних сполук селену (Se-Cys, Se-Met) [467; 591]. Ось чому слід виділити вплив наночастинок Селену на біологічні властивості *B. subtilis* IMV B-7392, що генетично пов'язано з *B. subtilis* 168 для створення нових біологічних BioSeNP як харчових добавок, кормових добавок або харчових рослин.

Селен, відомий антиоксидантною активністю та участю в оптимізації редокс-потенціалу, репродуктивних процесах, метаболізмі гормонів

щитовидної залози, розвитку м'язів та антиканцерогенезі [418; 545]. У формі Nano-Se призводить до вищого утримання Se внаслідок менших розмірів та більшої біодоступності [143]. Nano-Se показав кращі результати щодо збільшення маси тіла в порівнянні з селенітом натрію у раціонах бройлерів [545]. Подібні результати спостерігалися також при додаванні до основного раціону 0,3 мг/кг Se у вигляді наноелементарного Se, натрію селеніту або селеновмісних дріжджів [168]. Доповнення нано-Se (0,2, 0,3, 0,4 та 0,5 мг/кг) у раціоні бройлерів покращувало показники росту, імунні функції та післязабійні показники птиці, не впливаючи на внутрішні органи. Поєднання пробіотиків та наночастинок Se також показало поліпшення росту, жирнокислотного профілю скелетних м'язів та вмісту  $\alpha$ -токоферолу в сироватці крові бройлерів [522]. Окрім того, нано-Se оптимізував антиоксидантний статус через вплив на активність антиоксидантних ензимів та підвищив рівень IgG та IgM порівняно з органічними та неорганічними сполуками Se в умовах окисного стресу [11] у курей та термічного стресу [410] у бройлерів за одночасного покращення показників росту та імунітету, активізуючи експресію генів цитокінів.

Аналізуючи дані літератури та на основі власних досліджень встановлено вплив різних форм Селену на метаболічні процеси в організмі курей та перепелів, що, ймовірно, обумовлено дією елемента на фактори транскрипції [407]. Насправді, вважається, що окисний стрес активує цілий ряд факторів транскрипції / шляхів, включаючи Nrf2, NF- $\kappa$ B, AP1, TP53, HIF-1 $\alpha$ , HSF1, PPAR- $\gamma$ , MAPK, FoxO, NOTCH, CREB, SCREB1, SP [631; 661]. Активація цих факторів транскрипції пов'язана з експресією понад 500 різних генів [631]. Вони модулюють антиоксидантну захисну мережу, впливають на генерацію АФО та антиоксидантні ензими, які є критично важливими для адаптації організмів до різних стресів. Зокрема Nrf2 є чутливим головним регулятором сигналів, пов'язаних з окисним стресом, відповідальним за адаптивні реакції на стрес [303]. Очевидно, що Nrf2 відіграє життєво важливу роль у адаптації до окисного стресу внаслідок індукції експресії різних захисних молекул [332]. Активація Nrf2 відповідає за регуляцію низки процесів, шляхом прямої

інактивації окисників, підвищення рівня синтезу GSH, Trx та NADPH, посилення експорту токсинів через транспортери мультиреакцій, інгібування опосередкованого цитокінами запалення, посилення розпізнавання, відновлення та видалення пошкоджених білків, збільшення шаперонів та регулювання посттрансляційних модифікацій білка [470].

Нашими дослідженнями встановлено, що біонаноселен ефективно впливає на активність основних антиоксидантних ензимів першої лінії антиоксидантного захисту, а саме, СОД, каталазу та глутатіонзалежні ферменти. Їх активація відбувається за рахунок Nrf2. Ці ензими знешкоджують вільні радикали на місці їх утворення. Оскільки супероксидний радикал є основним радикалом у біологічній системі, його ефективно видалення є головним завданням першого рівня антиоксидантного захисту [598]. Однак у результаті дії СОД утворюється  $H_2O_2$ , який в основному знешкоджується GPx [597; 601]. Глутатіон (GSH) – найпоширеніший небілковий тіол клітин, який контролює окисно-відновний баланс та сигналізацію, регулює фактори транскрипції та експресію генів та багато інших важливих клітинних шляхів / процесів, включаючи епігенетичні механізми [262].

Для синтезу глутатіонзалежних ензимів необхідний GSH, який є трипептидом, утвореним із L-глутамату, L-цистеїну та гліцину. GSH каталізує утворення глутатіону глутаматцистеїнлігаза (GCL), яка є обмежуючим фактором щодо біогенезу GSH [195]. Регульований Nrf2 синтез GCL має велике значення для ефективності антиоксидантної захисної системи. Дійсно, GSH синтезується виключно в цитозолі та компартменталізується в різних органелах, включаючи ядра, ендоплазматичний ретикулум та мітохондрії. Зокрема, ядерний GSH бере участь у збереженні білків, які задіяні у відновленні ДНК та транскрипції генів. Окрім того, мітохондріальний GSH зберігає цілісність мітохондрій, контролюючи генерацію АФО мітохондрій та апоптотичну сигналізацію [508]. Отже, клітинний GSH є ключовим регулятором різних біологічних процесів, включаючи синтез ДНК та білків, впливаючи на ріст та проліферацію клітин, апоптоз, імунітет, транспорт

амінокислот, метаболізм / детоксикацію ксенобіотиків та ендогенних окиснювачів, окисно-відновну передачу сигналу тощо. З одного боку, тіолова група GSH може безпосередньо реагувати та детоксифікувати цілий ряд АФО, включаючи  $H_2O_2$ , супероксидний аніон, гідроксильні радикали, алкоксильні радикали та гідропероксидази [508]. З іншого боку, існує низка білків із GSH-залежною гідропероксидазною активністю [211]. Важливо, що в стресових умовах GSH відіграє життєво важливу роль як окисно-відновний буфер (GSH / GSSG) [211], що контролює редокс-потенціал живих клітин, запобігає втраті білкових тіолів і забезпечує оптимальне окисно-відновне середовище для сигналізації [272], або шляхом глутатіонування білка (безпосередня модифікація залишків білкового цистеїну шляхом додавання GSH), або за допомогою очищення пероксиду гідрогену [243].

У наших дослідженнях встановлено вплив різних форм Селену на морфометричні показники кишечника курчат-бройлерів. Як відомо, шлунково-кишковий тракт проявляє захисний механізм, що включає фізичні бар'єри та специфічні умови середовища [596]. Це наявність слизової оболонки, клітини якої характеризуються великою швидкістю оновлення, що запобігає колонізації патогенними мікроорганізмами. Захисні властивості муцину попереджають проникнення мікроорганізмів та їх прикріплення до ворсинок кишківника. Підтримка у залозистому шлунку та тонкому відділі кишківника кислого середовища є несприятливим фактором для розвитку патогенної мікробіоти, а наявність кисню блокує розвиток аеробних бактерій [76]. Окрім того, у кишківнику розміщено власні компоненти імунної системи, зокрема, антимікробні пептиди, лізоцим, муцин, синтез якого регулюється цитокінами, бактеріальними продуктами та факторами росту. Імуноглобуліни, що продукуються у кишківнику, сприяють успішному антимікробному захисту, а лімфоїдна тканина, яка розпізнає чужорідні антигени та здійснює відповідь з участю факторів вродженого та набутого імунітету. Ще одна група факторів, які сприяють захисним властивостям – це синергічна мікробіота, їх бактеріофаги та продукти життєдіяльності, зокрема бактеріоцини та коротколанцюгові жирні кислоти [598].



Доведено, що імунна система кишківника, як і весь організм зазнає стресу [82]. Відповідно для імуномодуляції кишківника визначальну роль виконує антиоксидантно-прооксидантний баланс, який і визначає надійність імунної системи. У підтримці антиоксидантного статусу суттєву функцію відіграють глутатіонзалежні ензими, на активність яких впливає Селен. Окрім того, пробіотик у складі добавки також виконує позитивну функцію.

Отже, у перепелів, які отримували у якості кормової добавки препарати селену, підвищувалась загальна опірність організму, збільшувалась конверсія корму, що сприяло при практично однакових затратах корму одержати більшу масу тіла та зменшити відхід.

В результаті досліджень встановлено, що додавання до раціону перепелів біогенного наноселену з пробіотиком сприяло достовірному збільшенню у тканинах печінки вмісту відновленого глутатіону та HS-групи білків. Селеніт натрію з пробіотиком та біогенний наноселен з пробіотиком сприяли достовірному підвищенню активності ГПО та ГР. Відомо, що співвідношення GSH / GSSG є основним показником клітинного редокс-потенціалу і відображає окисно-відновний баланс. В умовах окисного стресу знижений редокс-потенціал (співвідношення GSH / GSSG) спричиняє S-глутатіонування білка: змішане утворення дисульфїду між реактивними тіолами та GSH, змінюючи фізіологічні функції уражених білків. Насправді аномальне білкове S-глутатіонування пов'язане з різноманітними шкідливими клітинними змінами, включаючи агрегацію білка, деградацію білка, апоптоз та дисфункцію мітохондрій [506].

Окисно-відновна система тіолу, що складається з системи глутатіону (глутатіон / глутатіонредуктаза / глутатіонпероксидаза) та тіоредоксинна система (тіоредоксин / тіоредоксинпероксидаза (пероксиредоксини) / сульфїредоксин / тіоредоксинредуктаза, є основними компонентами системи регулювання окисно-відновного гомеостазу [563; 295; 437; 715]. Система тіоредоксинів приймає участь у окисно-відновній регуляції експресії генів, що регулюють різні клітинні функції, включаючи синтез дезоксирибонуклеотидів (синтез та

відновлення ДНК), біосинтез білка, дію гормонів та цитокінів, апоптоз тощо [404]. Регульований Nrf2 синтез основних компонентів тіоредоксинової системи є ключовим елементом антистресової стратегії в клітинах.

Тіоредоксин (Trx) птахів – білок, що містить 105 амінокислот з молекулярною масою 11700. Виявлено, що підвищена експресія Trx у фолікулах яєчників перепелів пов'язана з високими показниками несучості [690]. Показано, що Trx експресується в товстій кишці курей [678]. Харчові добавки Селену (0,4 мг/кг) підвищували активність TrxR у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки, печінки та нирок [482], у той час як дефіцит Se знижував експресію / активність TrxR у щитовидній [386] та підшлунковій залозах [719], жировій тканині [383], нирках [683] та слизовій оболонці дванадцятипалої кишки [655]. Результати наших досліджень узгоджуються з даними літератури щодо протекторної дії сполук Селену.

Нанокристалічний діоксид церію (НДЦ) – унікальний поліфункціональний матеріал, перспективність використання якого у багатьох наукових областях пов'язано з комплексом особливих фізико-хімічних властивостей, що включають нестехіометрію Оксигену, потужні антиоксидантні властивості, а також залежність отриманих ефектів від розміру часток [721]. На даний час дослідженнями переважно закордонних дослідників встановлено позитивний вплив НДЦ при станах, що супроводжуються активацією прооксидантних процесів – ретинопатіях, кардіоішемії, хвороби Альцгеймера тощо.

Проведеними дослідженнями також встановлено позитивний вплив НДЦ на репродуктивну функцію лабораторних тварин (мишей).

Державне агентство з питань науки, інновацій та інформатизації України затвердила програму Створення та застосування інноваційних біологічно активних наноматеріалів, як потенційних профілактичних та лікувальних засобів для попередження вікової інволюції репродуктивної функції людини та тварин.

По замовленню Центру інноваційних технологій разом з Інститутом мікробіології та вірусології ім. Заболотного та БНАУ проведені дослідження у

навчальному науково-дослідному центрі Білоцерківського національного аграрного університету по вивченню впливу одержаних НДЦ з розміром частинок 2–3 нм та цитратною оболонкою на антиоксидантний статус та показники яєчної продуктивності курей-несучок.

Основні показники якості інкубаційних яєць – маса, індекс форми, якісні показники шкаралупи – внаслідок їх значного впливу на інкубаційні якості яєць мають бути під постійним контролем. Форма яєць у значної мірі впливає на стан ембріону у процесі розвитку, що в кінцевому визначає його вилуплення або загибель. Яйця курей з індексом форми 71–75 % дають виводимість на 4–6 % нижче, а з індексом більше 82 % – на 7–12 % нижче, ніж яйця стандартної форми (76–80 %). У курей-несучок контрольної групи індекс форми яєць були у середньому 74,8 %, що потенційно може негативно впливати на виводимість. У дослідних курей індекс форма яйця була в межах стандартних розмірів, які визначають максимальну виводимість. Маса шкаралупи та товщина шкаралупи яєць у курей дослідної групи вірогідно не відрізнялася від показників контрольної групи, але мала тенденцію на збільшення. Нами відзначено підвищення товщини шкаралупи яєць, одержаних від курей дослідної групи, відповідно на 7 %, у порівнянні з контрольними, що можливо зумовлено кращим засвоєнням кальцію із комбікорму. Товщина шкаралупи яєць, одержаних від курей контрольної і дослідної груп, складала відповідно  $0,314 \pm 0,0127$  та  $0,336 \pm 0,0158$  мм.

Яйценосність курей дослідної групи за досліджуваний період склала 2246 (на 499 яєць більше, ніж у контрольної групи). Кількість яєчної маси, одержаної на несучку у курей дослідної групи була на 25,4 % більше ніж у контрольній групі. Збереженість курей у дослідної групі була 100 %, контрольної 97,8 %. Маса яєць – основний показник, який разом з несучістю визначає яєчну продуктивність птиці. Актуальним залишається і дотримання оптимальної форми інкубаційних яєць, оскільки вона значною мірою визначає ембріональний розвиток пташеняти. Встановлено криволінійний зв'язок виводу молодняку з формою яєць: з видовжених яєць (індекс форми 70 % і менше) і

круглих (індекс форми понад 80 %) вивід молодняку на 3–7 % нижче. Велике значення має також якість шкарлупи, оскільки від неї залежать бій яєць (зовнішня і внутрішня насічка, витікання), здатність до тривалого зберігання, мікробна безпека і виводимість яєць.

Отже встановлено, що застосування в годівлі курей-несучок НДЦ забезпечує вищий рівень продуктивності відносно контролю, не проявляючи при цьому негативного впливу на якість товарних яєць.

Проведені дослідження дозволили встановити позитивну дію дослідженої добавки на яєчну продуктивність курей-несучок, не виявлено негативного впливу на біохімічні показники крові, якість яєчної продукції, що сприяє підвищенню яйценосності курей-несучок та рентабельності виробництва яєць.

Отже застосування наночастинок діоксиду церію та технології їх використання у птахівництві дозволять підвищити за попередніми підрахунками яєчну продуктивність курей-несучок на 15,8 % та збереженість поголів'я на 4,3 %.

Внесення нанодисперсного діоксиду церію до раціону курчат-бройлерів також мало позитивний ефект. Під час дослідження на токсичність та відносну біологічну цінність на тест-культурі інфузорії *Tetrahymena Piriformis*, відмічено, що у пробах м'яса курчат, які отримували добавку НДЦ інфузорія була рухливою, добре розмножувалась. Відносна біологічна цінність практично не змінилась. Проби м'яса птиці відповідали контрольним величинам і були у межах ветеринарно-санітарних норм.

Наявність окисно-відновних властивостей у нанодисперсному діоксиді церію стимулювало адаптаційні можливості організму курчат-бройлерів, що сприяло підвищенню збереженості поголів'я.

Отже, застосування НДЦ у годівлі курчат-бройлерів та курей-несучок, окрім усунення наслідків оксидативного стресу та стабілізації антиоксидантного статусу, сприяє підвищенню економічної ефективності галузі внаслідок покращення якості продукції, підвищення середньодобових приростів та збереженості поголів'я.

Отже виявлені захисні властивості наночастинок металоїдів (Селену) та оксидів металів (діоксиду церію) на організм птиці (бройлери, кури-несучки, перепела) через корекцію раціону. Це є універсальним підходом у боротьбі зі стресами, які супроводжують організм на всіх етапах онтогенезу. Наночастинки Селену та діоксиду церію є вітаген-регулюючими добавками, які позитивно впливають на ріст та розвиток птиці, продуктивність, конверсію корму, сприяють підвищенню резистентності до патогенів.

Продукти експресії вітагенів активно беруть участь у розпізнаванні та контролі різних форм стресу і пошкоджень клітин. Оптимальні комбінації наноселену та біонаноселену з пробіотиком впливають на вітагени і покращують адаптивну здатність організму, причому їх захисні ефекти найбільш виражені в стресових умовах. Отримані нами результати – перші кроки від розробки концепції впливу наночастинок до створення комерційного продукту для мінімізації наслідків економічно значущих стресів у птахівництві та тваринництві в цілому. Для розуміння молекулярних механізмів регуляції експресії захисних компонентів у клітині на рівні сигнальних систем і факторів транскрипції за адекватної адаптивної відповіді потрібні подальші дослідження, що нададуть можливість вдосконалити використовувані універсальні антистресові препарати і створити більш специфічні композиції для боротьби зі стресами у птиці при промисловому виробництві м'яса і яєць.

## ВИСНОВКИ

Сучасна стратегія розвитку аграрного сектору економіки України вимагає одержання вітчизняних препаратів, спрямованих на підвищення продуктивності й покращення якості продукції тваринництва та птахівництва, які мають конкурувати на світовому і європейському ринках. У кваліфікаційній дисертаційній роботі викладено теоретичне обґрунтування та використання сучасних підходів до вирішення проблеми, яка полягає у конструюванні та синтезу нових нанопрепаратів на основі важливих металоїдів і оксидів металів. З цією метою проведено біотехнологічний синтез наночастинок Селену та діоксиду церію, що відповідає напряму інноваційної діяльності виробників кормових добавок – створення нових біологічно доступних форм, які сприятимуть підтримуванню здоров'я тварин і птиці та позитивно впливатимуть на якісні і кількісні показники їх продуктивності. Проведено доклінічні та клінічні дослідження на лабораторних тваринах, визначено токсикологічні характеристики одержаних препаратів, здійснено їх державну реєстрацію, розроблено необхідну нормативну документацію (Технічні умови, патенти, рекомендації). Науково обґрунтовано та експериментально підтверджено в умовах виробництва ефективність нанопрепаратів Селену та діоксиду церію для корекції адаптивних систем організму перепелів, курчат-бройлерів та курей-несучок.

1. Вивчено механізми та технології одержання нових препаратів біонаночастинок Селену. Здійснено аналіз можливого використання різних мікроорганізмів-пробіотиків, можливих продуцентів біонаноселену. Проведено трансмісійну електронну мікроскопію наночастинок селену, синтезованих *B. subtilis* та *Lactobacillus plantarum*. Встановлено, що частинки біонаноселену не агреговані, мають округлу форму та розмір від 4 до 8 нм. Інкубація пробіотичної культури *B. subtilis*, за наявності наноселену, супроводжувалась суттєвим підвищенням накопичення білоквмісних біологічно активних ендометаболітів, кількість яких у 18,2 рази перевищувала контрольні аналоги, вирощені без додавання Селену у середовище культивування. За інкубації

*Lactobacillus plantarum* частинки наноселену синтезувалися у вигляді екзометаболітів.

2. Доведено, що ліофільно висушені бактерії *Lactobacillus plantarum* ІМВ В-7679, які містять наночастинки Селену можна використовувати як біологічно активну добавку для тварин та птиці, проявляють імуномодулювальні властивості. Встановлено достовірне підвищення показників фагоцитарної активності й окисного потенціалу нейтрофілів за використання препарату: фагоцитарний індекс (ФІ) збільшувався до  $77,2 \pm 2,16$  %, фагоцитарний показник (ФП) – до  $6,21 \pm 0,34$ , активність спонтанного НСТ-тесту підвищилась до  $23,28 \pm 0,58$  %, а індукованого НСТ-тесту – до  $50,26 \pm 2,18$  %, порівняно з показниками контрольної групи (ФІ –  $64,6 \pm 1,45$  %, ФП –  $4,62 \pm 0,12$ , сНСТ –  $11,25 \pm 0,5$  %, іНСТ –  $44,83 \pm 2,18$  %).

3. Додавання до раціонів перепелів різних препаратів Селену сприяло активації білкового обміну, що проявлялося збільшенням вмісту у крові загального протеїну на  $8,4$ – $14,27$  % ( $p < 0,05$ ), альбуміну – на  $2,88$ – $24,45$  % ( $p < 0,05$ ), креатиніну – на  $4,41$  та  $5,57$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), за одночасного зниження вмісту сечової кислоти на  $8,57$  та  $25,71$  % ( $p < 0,001$ ). Встановлені зміни позитивно вплинули на метаболічні процеси та не мали негативного впливу на клітини печінки, про що свідчить активність трансаміназ, зокрема АсАТ та АлаТ.

4. Проведений газохроматографічний аналіз жирнокислотного складу плазми крові перепелів свідчить про зміни насиченості ліпідів сироватки крові дослідної групи птиці. Вміст ПНЖК був вірогідно більший у порівнянні з показниками птиці контрольної групи за рахунок підвищеного вмісту есенціальних ЖК (лінолевої та ліноленової). За введення препарату наноселену жирнокислотний склад ліпідів нормалізувався за рахунок зменшення вмісту пальмітинової на  $18,9$  % ( $p < 0,05$ ), миристинової – на  $21,4$  %, ( $p < 0,01$ ) та арахідонової – на  $19,6$  %, ( $p < 0,01$ ) кислот. Встановлено, що для жирнокислотної формули ліпідів сироватки крові перепелів, які отримували біонаноселен, характерне вірогідне зменшення вмісту кислот  $14:0$ ,  $16:0$  та  $18:0$ ,

при цьому істотно зростає кількість кислот складу 20:4 ( $\omega$ -3), 22:3, 22:5 ( $\omega$ -3) та 22:6 ( $\omega$ -3).

5. У мембранах еритроцитів птиці дослідної групи спостерігається зростання абсолютних рівнів фосфатидилсерину ( $p < 0,05$ ) та фосфатидилінозитулу ( $p < 0,001$ ). При цьому виявлено зменшення вмісту лізофосфатидилхоліну ( $p < 0,01$ ) та фосфатидилетаноламіну ( $p < 0,05$ ). Вміст фосфатидилхоліну та сфінгомієліну не мав достовірних відмінностей. Виявлено підвищення вмісту кислоти 22:5  $\omega$ -3 ( $p < 0,01$ ), загального холестеролу ( $p < 0,01$ ), а також зниження рівня 22:5  $\omega$ -6 ( $p < 0,05$ ).

6. Встановлено, що додавання селеніту натрію сприяло зростанню каталазної активності та СОД-активності на 2,8 % та 3,3 % відповідно, а комбіноване введення із пробіотиком підвищило ці активності на 11,6 та 10,7 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Вміст відновленого глутатіону за додавання пробіотику з наноселеном достовірно переважав контроль, як і вміст HS-груп білків – на 16,2 % ( $p < 0,01$ ). За додавання різних форм Селену виявлено підвищення супероксиддисмутазної, каталазної, глутатіонпероксидазної та глутатіонредуктазної активності.

7. Продемонстровано збільшення маси тіла, абсолютних та середньодобових приростів перепелів, що різнилося залежно від використання препарату Селену чи пробіотику. Перепела дослідних груп мали менші витрати корму на 1 кг приросту маси тіла порівняно із контрольними аналогами на 2,72–5,40 % та нижчу собівартість патраної тушки на 3,42–6,50 %. При цьому збільшилася збереженість птиці на 3,4–6,7 %, передзабійна маса – на 4,14–11,83 %, та рентабельність виробництва м'яса – на 5,55–11,43 %.

8. Під час дослідження хронічної токсичності нанодисперсного діоксиду церію (НДЦ) за умов внутрішньом'язового введення білим щурам препарату загибелі тварин не виявлено. Встановлено, що нанодисперсний діоксид церію за ступенем небезпечності належать до VI класу токсичності (відносно нешкідливих речовин), а у перерахунку на основну діючу речовину ( $\text{Ce}^{3+}$ ), що знаходиться у цій формі – до V класу токсичності (практично



нетоксичних речовин). За тривалого введення НДЦ дозах терапевтичній та в 5-разово більшій від терапевтичної дози, відзначалося вірогідне зменшення кількості еритроцитів, відповідно, на 48 % ( $p < 0,001$ ) і на 40 % ( $p < 0,01$ ) та лейкоцитів – на 43 і 50 % ( $p < 0,01$ ). Виявлено загальну тенденцію до підвищення гематокритної величини та зниження рівня гемоглобіну. Вірогідне зменшення кількості еритроцитів сприяло збільшенню індексів крові: кольорового показника – на 71 % ( $p < 0,01$ ) і 80 % ( $p < 0,001$ ) та середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті ( $p < 0,001$ ).

9. Досліджено вплив наночастинок діоксиду церію на метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів. Їх введення сприяло підвищенню у крові вмісту загальних ліпідів на 24,6–31,3 %, альбумінів – на 16–22 % та зниженню вмісту сечової кислоти до рівня 63–67 % від контролю, що свідчить про активацію білкового обміну.

10. Встановлено структурні морфофункціональні зміни репродуктивної системи курей-несучок кросу Lohmann Brown за додавання наноцерію. Ці зміни пов'язані із збільшенням довжини яйцепроводу, що має зв'язок із яйцenessністю. При цьому не виявлено впливу на індекс форми яйця та його вміст.

11. Застосування комбікормів з добавками наноцерію за вирощування курчат-бройлерів кросу Ross 308 сприяло зростанню збереженості поголів'я на 1,0–3,1 % та передзабійної маси на 3,4–7,3 %. Затрати комбікорму на 1 кг приросту, і, відповідно, собівартість 1 кг патраної тушки у дослідних групах знизилась на 4,2–13,5 %.

12. За використання нанодисперсного діоксиду церію встановлено, що яєчна продуктивність курей-несучок збільшилась на 11,4 %, кількість яєчної маси, одержаної від однієї несучки збільшилася на 9,6 %, собівартість яєць знизилась на 16,2 %. При цьому збереженість поголів'я птиці зросла на 4 %, що сприяло підвищенню рентабельності виробництва на 11,6 %.

## ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для активації метаболічних процесів в організмі перепелів до комбікорму додавати біологічно активну кормову добавку для тварин, птиці та риби на основі *Lactobacillus plantarum* ІМВ В-7679, збагачену наноселеном (ТУ У 10.9-00493712-001:2017) у кількості 0,2 кг кормової добавки/т комбікорму.

2. З метою підвищення продуктивності курчат-бройлерів та курей-несучок додавати препарат “Наноцерій” (ТУ У 10.9-2960512097-003:2017) перорально з питною водою у дозі 8,6 мг/л впродовж перших 14 діб, після 14-добової перерви курс повторювати.

3. Виробництво та використання біологічно активної кормової добавки для тварин, птиці та риби (комплексу наночастинок Селену з пробіотиком) та препарату “Наноцерій” здійснювати згідно із затвердженими ТУ У та рекомендаціями.

4. Пропозиції виробництву викладені у “Рекомендаціях по використанню кормової добавки біотехнологічного походження з метою підвищення продуктивності перепелів” та “Рекомендаціях щодо використання препарату “Наноцерій” у годівлі курчат-бройлерів та курей-несучок”.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Артюхова, С. И., & Антонюк, Ю. О. (2014). Влияние *Lactobacillus plantarum* на желудочно-кишечный тракт человека и использование их при производстве биопродукта для геродиетического питания. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 8(1), 139–140.
2. Арчаков, А. И. (1975). Микросомальное окисление. М.:Наука, 327 с.
3. Афонина, А.Б., Куюн Л.А. (2000). Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. К.: НМУ, 287 с.
4. Ахмеджанова, З. И., Жиемуратова, Г. К., Данилова, Е. А., & Каримов, Д. А. (2020). Макро- и микроэлементы в жизнедеятельности организма и их взаимосвязь с иммунной системой (обзор литературы). Журнал теоретической и клинической медицины, (1), 16–21.
5. Базарова, М.П., Геббл, З.П. (1994). Мікрометод визначення креатиніну в сироватці крові. – Клінічна лабораторна діагностика. К.: Вища школа, 63–65.
6. Бітюцький, В.С. Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.І., Харчишин, В.М. (2018). Використання різних форм церію в аграрному секторі. Аграрна освіта і наука: досягнення, роль, фактори росту: сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях. Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (27–28 верес. 2018 р. Біла Церква), 38–40.
7. Бітюцький, В.С., Мельниченко, О.М., Цехмістренко, С.І., Цехмістренко, О.С., Харчишин, В.М., Мельниченко, Ю.О., Співак, М.Я., Тимошок, Н.О. (2019). Вплив нових форм селену на продуктивність та обмінні процеси у перепелів. Міжнар. наук.-практ. конф. “Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту”. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво. (31 жовт. 2019, Біла Церква), 36–38.

8. Бітюцький, В.С., Співак, М.Я., Цехмістренко, О.С., Шадура, Ю.М. (2016). Використання сполук церію у тваринництві. Держ. наук.-практ. конф. «Аграрна наука – виробництву» (17 листоп., 2016 р. Біла Церква), 84–85.
9. Бітюцький, В.С., Співак, М.Я., Цехмістренко, О.С., Шадура, Ю.М. Спосіб годівлі курей-несучок. Патент на корисну модель № 118905, 2017, 160322.
10. Бітюцький, В.С., Харчишин, В.М., Мельниченко, О.М., Співак, М.Я., Тимошок, О.Н., Цехмістренко, О.С., Мельниченко, Ю.О., Цехмістренко, С.І., Олешко, О.А. Спосіб ефективного застосування нових форм селену у перепелівництві. Патент на корисну модель № 135635, 2019.
11. Бітюцький, В.С., Харчишин, В.М., Мельниченко, О.М., Співак, М.Я., Тимошок, О.Н., Мельниченко, Ю.О., Цехмістренко, О.С., Олешко, О.А. Поліщук, В.М. Спосіб інтенсифікації білкового обміну у перепелів. Патент на корисну модель № 135682, 2019.
12. Бітюцький, В.С., Харчишин, В.М., Мельниченко, О.М., Цехмістренко, С.І., Мельниченко, Ю.О., Цехмістренко, О.С., Веред, П.І. Спосіб підвищення продуктивності, конверсії корму та збереження перепелів. Патент на корисну модель № 132654, 2019.
13. Бітюцький, В.С., Харчишин, В.М., Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.І., Мельниченко О.М. (2019). Вплив різних джерел селену та пробіотиків на продуктивність та біохімічні показники сироватки крові перепелів. Проблеми годівлі тварин в умовах високоінтенсивних технологій виробництва і переробки продукції тваринництва: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., (1–2 лют. 2019 р. Біла Церква), 7–9.
14. Бітюцький, В.С., Цехмістренко, О.С. (2017). Методи одержання нанокристалічного діоксиду церію та використання його сполук. «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». Держ. наук.-практ. конф. молодих учених, аспірантів і докторантів, (18 трав. 2017 р. Біла Церква), 14–15.
15. Бітюцький, В.С., Цехмістренко, О.С. (2017). Шляхи взаємодії наночасточок діоксиду церію із живими клітинами та біологічними

мембранами. Міжнар. наук.-практ. конф. «Іхтіологія та морфологія – наукова та практична основа рибництва» (24 жовт. 2017 р. Біла Церква), 32–33.

16. Борисевич, В. Б., & Каплуненко, В. Г. (2012). Наноматеріали і нанотехнології в ветеринарній практиці. *Учебное и практическое пособие. К.: Авицена, 267*

17. Владимиров, Ю. А., & Арчаков, А. И. (1972). Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.:Наука, 239 с.

18. Влізло, В. В., Федорук, Р. С., & Ратич, І. Б. (2012). Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: Сполом, 761.

19. Голубев, М.І., Сичов, М.Ю., Т.А. Голубева Т.А. (2017). Продуктивність молодняку перепелів за використання різних джерел купруму у комбікормі. *Ukrainian Journal of Ecology, 7(2), 59–63.*

20. Гопаненко, О. О., & Рівіс, Й. Ф. (2015). Жирнокислотний склад фосфоліпідів і етерифікованого холестеролу плазми крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту. *The Ukrainian Biochemical Journal, 87(2), 133–140.*

21. Горячковский, О.М. (1998). Определение уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах крови. *Клиническая биохимия: Справочное пособие. Одесса: Астропринт, 370–372.*

22. Григорьева, М. А., Величко, О. А., Шабалдин, С. В., Фисинин, В. И., & Сурай, П. Ф. (2017). Регуляция активности витагенов как новая антистрессовая стратегия в птицеводстве: обоснование и производственный опыт. *Сельскохозяйственная биология, 52(4), 716–730.*

23. Гунчак, А. В.; Медвідь, С. М.; Сірко, Я. М. Інтенсивність протеїнового обміну в організмі перепілок та їх несучість за використання мікроелементних добавок до раціонів. *Таврійський науковий вісник 2018, 102, с 94–99.*

24. Данчук, В. В., Токарчук, Т. С. (2017). Вміст Цинку та Кобальту в сироватці крові поросят за використання нанопрепаратів вітаміну Е, Zn, Fe і Ge. *Зб. наук. праць: Вінницький національний аграрний університет, 4 (98), 28–34.*

25. Данчук, В.В. Микитин, Ю.В., Данчук, О.В. (2004). Оксидатійний стрес – патологічний процес чи адаптація? Тваринництво України, 4, 21–24.
26. Демченко, О.А., Співак, М.Я., Жолобак, Н.М., Щербаков, О.Б., Іванов, О.Б., Мельниченко, О.М., Бітюцький, В.С., Зоценко, В.М., Тимошок, О.Н., Величко, В.О., Цехмістренко, С.І., Мельниченко, Ю.О., Харчишин, В.М., Олешко, О.А., Цехмістренко, О.С., Веред, П.І. Добавка кормова “Наноцерій”. Технічні умови ТУ У 10.9-2960512097-003:2013.
27. Демченко, О.А., Співак, М.Я., Лазаренко, Л.М., Тимошок, О.Н., Мельниченко, О.М., Бітюцький, В.С., Цехмістренко, С.І., Зоценко, В.М., Бабенко, Л.П., Мокрозуб, В.В., Музика, В.П., Мельниченко, Ю.О., Харчишин, В.М., Цехмістренко, О.С., Олешко, О.А., Веред, П.І. Добавка кормова “Лактокас”. Технічні умови ТУ У 10.9-2960512097-001:2013.
28. Дунаєвська, О.Ф. (2016). Функції селезінки в організмі хребетних тварин. Зб. матер. міжнар. наук.-практ. конф. «Наука в епоху дисбалансів», Ч. 1, 12–17.
29. Жихарев, И. В., & Ляшенко, В. И. (2007). Нанотехнологии в мире и Украине: проблемы и перспективы. Экономический вестник Донбасса, 1 (7), 117–145.
30. Загайко, А. Л., Вороніна, Л. М., Каліман, П. А., & Стрельченко, Е. В. (2008). Вплив хронічного соціального стресу на метаболізм ліпідів у золотистих сирійських хом’ячків. Укр. біохім. журнал, 80(4), 120–129.
31. Зенкина, В. Г., & Солодкова, О. А. (2018). Молекулярно-генетические механизмы организации и развития яичника. Бюллетень сибирской медицины, 17(2). 133–142.
32. Зотов, А. А., Мелёхина, Т. А., Салеева, И. П., Данилов, Р. В., Гупало, И. М., & Рузакова, Е. В. (2018). Качество инкубационных яиц в зависимости от режима хранения. Птицеводство, (11–12), 8–11.
33. Иванов, В. К., Щербаков, А. Б., Баранчиков, А. Е., & Козик, В. В. (2013). Нанокристаллический диоксид церия: свойства, получение, применение. *Томск: Изд-во Том. ун-та*, 284 с.

34. Измеров, Н. Ф., Саноцкий, И. В., & Сидоров, К. К. (1977). Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии: (Справочник). Медицина, 240 с
35. Ібатуллін, І. І., & Отченашко, В. В. (2016). Ефективність вирощування перепелів за регулювання норм кальцієвого і фосфорного живлення. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва, 236, 64–76.
36. Камышников, В. С. (2009). Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ, 920.
37. Козик, В. В., Щербаков, А. Б., Иванова, О. С., Спивак, Н. Я., & Иванов, В. К. (2016). Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного діоксида церія. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 476.
38. Козинец, Г. И., & Макарова, В. А. (1997). Исследование системы крови в клинической практике. М.: Триада-Х, 12., 480 с.
39. Колб, В. Г., & Камышников, В. С. (1976). Клиническая биохимия: Пособие для врачей-лаборантов. Минск. Беларусь, 311.
40. Кононский, А. И. (1976). Гистохимия: Учебное пособие. Вища школа, 279 с.
41. Кононський О.І., Сенік С.В., Цехмістренко, О.С., Єсьман Д.В. (2010). Пероксидне окислення ліпідів у перепелів і вплив його на їхню продуктивність. Укр. біохім. журн, 82(4), 263–264.
42. Копылова, С. В. (2010). Возрастная морфология селезенки у цыплят-бройлеров кросса "Смена-7". Брянск: Ладомир, 60.
43. Королюк, М.А., Иванова, А.И., Майорова, И.Т. (1988). Метод определения активности каталазы. Лаб. дело, 1, 16–19.
44. Косенко, М. В., Малик, О. Г., Коцюмбас, І. Я., Патерега, І. П., & Чура, Д. О. (1997). Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин: Методичні рекомендації, 33

45. Косінов, М. В., Каплуненко, В. Г. Патент України № 37412; МПК (2006) B01J 13/00. Спосіб отримання екологічно чистих наночастинок електропровідних матеріалів "Електроімпульсна абляція". Опубл. 25.11.2008.
46. Коцюмбас, І. Я., Малик, О. Г., & Патерега, І. П. (2006). Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. Львів: Тріада плюс, 360, 8.
47. Кошевой, В. П., Онищенко, О. В., Клочков, В. К., & Малюкін, Ю. В. (2015). Дефіцит колостральних імуноглобулінів у корів з мастодистрофією: прогнозування та методи упередження. *Ветеринарна медицина України*, (3), 17–22.
48. Кошевой, В. П., Федоренко, С. Я., Науменко, С. В., Іванченко, М. М., Клочков, В. К., & Малюкін, Ю. В. (2014). Використання наночастинок  $\text{CeO}_2$  та  $\text{GdEuVO}_4$  спільно з каплаестролом для реабілітації гонад у корів. *Ветеринарна медицина України*, (7), 24–27.
49. Кушнір, І.М., Семен, І.С., Мурська, С.Д., Колодій, Г.В. (2020). Застосування кормової добавки Бафасаль у птахівництві. *Науково-технічний вісник ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок та Інституту біології тварин*, 21 (1), 126–129.
50. Левченко, В. І., Влізло, В. В., Кондрахін, І. П., Головаха, В. І., Морозенко, Д. В., Сахнюк, В. В., ... & Богатко, Л. М. (2017). Клінічна діагностика хвороб тварин., 544 с.
51. Лизогуб, В.Г., Бондарчук, О.М., Брюзгіна, Т.С. (2003). Зміни жирнокислотного спектра еритроцитів у хворих на ішемічну хворобу серця на тлі хронічного панкреатиту. *Медична хімія*, 5(30), 60–63.
52. Маргітич, В.М. (2005). Склад жирних кислот за умов патологічних станів та можливість його корекції під впливом N-ацилетаноламінів: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня док. біол. наук: спец. 03.00.04 «Біохімія». К., 42 с.
53. Медвідь, С. М.; Гунчак, А. В.; Стефанишин, О. М.; Пащенко А. Г. Стан мікробіоценозу кишечника курчат-бройлерів за дії цитратів біоелементів. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького* 2017, 19(74), с 224–228.
54. Медвідь, С.М.; Гунчак, А.В.; Стефанишин, О.М.; Пащенко, А. Г. Вплив



наноцитрату мікроелементів на інтенсивність протеїнового обміну в тканинах курчат-бройлерів та продуктивність. *Біологія тварин* 2018, 20 (2), с 58–64.

55. Меньшиков, В. В. (1987). Справочник. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 240.

56. Микитюк, М. В. (2011). Наночастинки та перспективи їх застосування в біології і медицині. *Проблеми екології і медицини*, 15(5–6), 41–49.

57. Моин, В.М. (1986). Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лаб. дело*, 12, 724–727.

58. Неттер, Ф. (2004). Атлас анатомії людини. [пер. з англ. А.А. Цегельський]. Львів: Наутілус, 529.

59. Ніщеменко, М.П., Каплуненко, В.Г., Козій, В.І., Порошинська, О.А., Стовбецька, Л.С., Ємельяненко, А.А., Омельчук, О.В. (2019). Показники мінерального обміну в курок-несучок за впливу нанохелатів селену і цинку та вітаміну Е. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, 1, 49–56.

60. Отченашко, В. В., & Боярчук, С. В. (2013). Забійні якості курчат-бройлерів за різних рівнів обмінної енергії та енергетичної цінності компонентів у комбікормах. *Сучасне птахівництво*, 6, 10–13.

61. Петрукович, Т. В., Косьяненко, С. В., & Курило, И. П. (2017). Качество инкубационных яиц кур-несушек белорусской селекции. *Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины*, 53(4), 142–145.

62. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов: ГОСТ 10444.11–89. – [Дата введения 1991-01-01]. – М.: Издательство стандартов, 1990, 15 с. (Межгосударственный стандарт).

63. Рівіс, Й.Ф., Федорук, Р.С. (2010). Кількісні хроматографічні методи визначення різних класів ліпідів та жирних кислот у біологічному матеріалі. Львів: Сполом, 109 с.

64. Розенберг, П. А., & Бялко, Н. К. (1969). Химические методы исследования биологических субстратов в профпатологии. М.: Медицина, 17 с.

65. Романова, А.П., Титова, В.В., Макаева, А.М. (2018). Особенности применения наноразмерных форм микроэлементов в сельском хозяйстве (обзор). *Животноводство и кормопроизводство*, 101(2), 237–250.

66. Саноцкий, И. В. (1975). Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. М.: Медицина, 328 с.

67. Смоляр, В. І. (2003). Аліментарні ефектори ліпідного обміну. Проблеми харчування, 1, 8–14.

68. Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1997, 392 с.

69. СОУ 85.2-37-736:2011. Препарати ветеринарні. Визначання гострої токсичності. К: Мінагрополітики, 2011, 16 с.

70. Співак, М. Я., Демченко, О. А., Жолобак, Н. М., Щербаков, О. Б., Зоценко, В. М., & Иванов, В. К. (2013). Вплив нанокристалічного діоксиду церію на яєчну продуктивність перепелів. *Сучасне птахівництво*, (3), 22–24.

71. Співак, М. Я., Оксамитний, В. М., Демченко, О. А., Жолобак, Н. М., Щербаков, О. Б., Иванов, В. К., ... & Гриневич, О. Й. (2013). Вплив наночастинок діоксиду церію на інтенсивність росту та споживання кормів молодняком перепілок. *Ветеринарна медицина*, (97), 470–472.

72. Співак, М.Я., Мельниченко, О.М., Бітюцький, В.С., Лазоренко, Л.М., Олешко, О.А., Тимошок, О.Н., Харчишин, В.М., Кривцова, Н.В., Цехмістренко, О.С., Бабенко, Л.П., Мельниченко, Ю.О., Демченко, О.А. Добавка кормова біологічно активна для сільськогосподарських тварин, птиці та риби. Технічні умови ТУ У 10.9-00493712-001:2017.

73. Спосіб ефективного вирощування перепелів за використання кормової добавки біотехнологічного походження: патент на корисну модель № 143813, МПК (2019.01) / Бітюцький, В.С., Харчишин, В.М., Мельниченко, О.М., Цехмістренко, О.С. та ін. заявл. 16.03.2020; опублік. 10.08.2020; бюл. №11. 4 с.

74. Спосіб корекції ліпідного обміну у перепелів за участю наноматеріалів: патент на корисну модель № 137453, МПК (2019.01) / Бітюцький, В.С., Харчишин, В.М., Мельниченко, О.М., Цехмістренко, О.С. та ін. заявл. 22.03.2019 ; опублік. 25.10.2019; бюл. №20. 4 с.

75. Судаков, А. Н., Андрианов, Е. А., & Андрианов, А. А. (2020). Естественная инкубация яиц высокопродуктивных мясных кроссов кур. *Аграрный вестник Урала*, 5(196), 68–79.
76. Сурай, П. Ф., Кочиш, И. И., Фисинин, В. И., Никонов, И. Н., & Романов, М. Н. (2019). Пути поддержания оптимального редокс-баланса в кишечнике птиц: проблемы и решения. In *Мат. Междунар. науч.-практ. конф. "Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных*, 42–58.
77. Ташкина, А. А. (2018). Влияние основных биофизических показателей качества яиц на синхронизацию вывода. *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*, 1 (50), 124–128.
78. Тимошок, Н.О., Співак, М.Я., Цехмістренко, О.С., Бітюцький, В.С., Цехмістренко, С.І. (2019). Процеси біологічної трансформації різних форм Селену бактеріями. Міжнар. наук.-практ. конф. "Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту". Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва. (31 жовт. 2019 р. Біла Церква), 5–7.
79. Трач, В. В., Данчук, В. В. (2018). Вміст вітамінів А і Е у печінці перепела за впливу хімічної обробки інкубаційних яєць. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин*, 1(19), 29–35.
80. Федорова, Е. С., & Станишевская, О. И. (2015). Диаметр желтка куриных яиц как селекционный критерий для повышения их пищевой и энергетической ценности. *Генетика и разведение животных*, (1), 21–25.
81. Фесенко, Н. А., & Печеніжська, Т. Б. (2008). Порівняльна оцінка різних порід та ліній яєчних курей за фізико-морфологічними якостями яєць. *Птахівництво*, 61, 1–6.
82. Фисинин, В. И., & Сурай, П. (2013). Кишечный иммунитет у птиц: факты и размышления (обзор). *Сельскохозяйственная биология*, (4). 3–25.
83. Цехмистренко, О.С. (2014). Перекисное окисление липидов в организме птицы. *Аграрная наука – сельскому хозяйству. Сб. статей, Кн. 3. Барнаул*, 220–222.

84. Цехмістренко, О.С. (2016). Онтогенетические особенности функционирования антиоксидантной системы перепелов. Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Часть 2. Горки, БГСХА, 335–339.

85. Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.И., Пономаренко, Н.В., Полищук, В.Н., Полищук, С.А. (2016). Окисление липидов в организме перепелов при введении препаратов Селена. Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции. Ставрополь, 648–653.

86. Цехмістренко О.С. Рекомендації щодо використання наноцерію у годівлі курчат-бройлерів та курей-несучок. Біла Церква, 2017, 16 с.

87. Цехмістренко, О., Бітюцький, В., Цехмістренко, С. (2020). Вплив селеновмісних пробіотичних препаратів на метаболічні процеси в організмі птиці. Animal welfare in the conditions of global climate change. The 1st International Scientific and Practical Conference. (April 21–22 Dnipro, Ukraine 2020), 36–38.

88. Цехмістренко, О., Бітюцький, В., Цехмістренко, С., Харчишин, В. (2020). Використання наночастинок селену, синтезованих з використанням «зелених» технологій, у годівлі перепелів. Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф. «Європейські виміри сталого розвитку» (26 черв. 2020 р. Київ), 62–63.

89. Цехмістренко, О., Цехмістренко, С., Бітюцький, В., Харчишин, В., Шулько, О. (2019). Використання сучасних пробіотиків як інноваційній потенціал для вирішення екологічної безпеки та викликів сталого розвитку. Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. «Європейські виміри сталого розвитку» (23–24 квіт. 2019 р. Київ), 72–73.

90. Цехмістренко, О.С. (2011). Показники ліпідного обміну в організмі перепелів. Вісник Білоцерківського держ. аграр. ун-ту, 5(82). 23–27.

91. Цехмістренко, О.С. (2013). Вплив екзогенних антиоксидантів на ліпопероксидацію в організмі птиці за антропогенного навантаження. Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. "Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища. (Мелітополь, 2013), 27–29.

92. Цехмістренко, О.С. (2016). Онтогенетичні особливості функціонування антиоксидантної системи в організмі перепелів. Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016. Конференція-конкурс молодих учених (26–27 трав., 2016. Київ), 59.

93. Цехмістренко, О.С. (2020). Біологічні методи синтезу наночастинок селену, їх характеристики та властивості. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Зб. наук. праць, 2(158), 6–20.

94. Цехмістренко, О.С. (2020). Вплив препаратів селену та пробіотика на морфологічні показники інкубаційних яєць курей. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток технологій тваринництва. Інноваційні підходи в харчових технологіях. Біла Церква, 22–23.

95. Цехмістренко, О.С. (2020). Рекомендації по використанню кормової добавки біотехнологічного походження з метою підвищення продуктивності перепелів. Біла Церква, 18 с.

96. Цехмістренко, О.С., Бітюцький, В.С., Цехмістренко, С.І. (2020). «Зелені» технології у синтезі наночастинок селену. Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах: тези доп. І міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., (28–29 трав. 2020 р. Дніпро), Т.2. 506–509.

97. Цехмістренко, О.С., Бітюцький, В.С., Цехмістренко, С.І. (2020). Нанотехнології і навколишнє середовище. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво. Біла Церква, 26–29.

98. Цехмістренко, О.С., Бітюцький, В.С., Цехмістренко, С.І., Мельниченко, О.М., Тимошок, Н.О., Співак, М.Я. (2019). Використання наночастинок металів та неметалів у птахівництві. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Зб. наук. праць, 2, 113–130.

99. Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.І., Бітюцький, В.С., Мельниченко, О.М., Олешко, О.А. (2018). Біоміметична та антиоксидантна активність наносполук діоксиду церію. Світ медицини та біології, 1(63), 196–201.

100. Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.І., Бітюцький, В.С., Харчишин, В.М., Співак, М.Я., Тимошок, Н.О. (2019). Вплив пробіотичних препаратів на біохімічні показники крові та печінки перепелів. 73-я Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні технології у тваринництві та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми». (3–4 квіт. 2019 р. Київ), 229–231.

101. Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.І., Горальський, Л.П. (2018). Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у птиці за корекції патологічних станів. Аграрна освіта і наука: досягнення, роль, фактори росту: сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях. Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (27–28 верес. 2018 р. Біла Церква), 19–22.

102. Цехмістренко, О.С., Цехмістренко, С.І., Пономаренко, Н.В., Поліщук, В.М., Селезньова, О.О., Поліщук, С.А. (2019). Вікові особливості функціонування системи антиоксидантного захисту птиці. Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми фізіології та біохімії тварин» (28 трав. 2019 р. Київ), 60–61.

103. Цехмістренко, С.І., Цехмістренко, О.С. (2012). Вплив органічного селену на обмінні процеси в організмі перепелів. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, 13(1–2), 171–175.

104. Цехмістренко, С.І., Цехмістренко, О.С. (2015). Ліпопероксидація в організмі птиці за антропогенного навантаження. Держ. наук.-практ. конф. «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва» (19 листоп., 2015 р. Біла Церква), 42–43.

105. Цехмістренко, С.І., Цехмістренко, О.С., Поліщук, В.М., Девеча, І.О., Пономаренко, Н.В. (2013). Антиоксидантний статус органів та тканин птиці різних видів. Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. "Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища. 21–22.

106. Цехмістренко, С.І., Цехмістренко, О.С., Яремчук, Т.С. (2009). Застосування Селену за вирощування перепелів. Науковий вісник ветеринарної медицини: Зб. наук. праць, 2(68), 105–110.

107. Цехмістренко, С.І., Цехмістренко, О.С., Яремчук, Т.С. Спосіб підвищення енергетичного обміну та антиоксидантного захисту в організмі перепелів. Патент на корисну модель № 49848, 2010. (2009, 12694).

108. Цехмістренко, С.І., Яремчук Т.С., Цехмістренко, О.С., Поліщук, В.М., Чубар, О.М., Пономаренко, Н.В. (2010). Енергетичний обмін та антиоксидантний статус тканин птиці. Укр. біохім. журн, 82(4), 256–257.

109. Чевари, С., Чаба, И., Секей, И. (1985). Роль СОД в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. Лаб. дело, 11, 678–781.

110. Чекман, І.С., Горчакова, Н.О., Симонов, П.В. (2017). Біологічно активні речовини як наноструктури: біохімічний аспект. *Klínická Farmacia*, 21(2), 15–22.

111. Чудак, Р., Огороднічук, Г., & Паладійчук, О. (2014). Несучість і якість яєць у перепілок. *Тваринництво України*, (2), 35–37.

112. Шаблій, В.Я., Долгов, В.А., Бойков, Ю.И. (1983). Методические рекомендации по использованию инфузории Тетрахимена пириформис для токсико-биологической оценки сельскохозяйственных продуктов. Киев, 15 с.

113. Шадура, Ю. М., Бітюцький, В. С., Співак, М. Я., Мельниченко, О.М., Щербаков, О. Б., Демченко, О. А., & Жолобак, Н. М. (2015). Доклінічні дослідження гострої токсичності нанокристалічного діоксиду церію. *Вісник Житомирського національного агроекологічного університету*, 2 (1), 358–363.

114. Шадура, Ю. М., Співак, М. Я., Бітюцький, В. С., Мельниченко, О. М., Сотніченко, І. І., Щербаков, О. Б., ... & Жолобак, Н. М. (2015). Біохімічні показники та продуктивні якості курей-несучок за використання наночастинок діоксиду церію. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, (2), 174–177.

115. Шапкин, Ю.Г. (2009). Значение селезенки в иммунном статусе организма. *Анналы хирургии*, 1, 9–12.

116. Щербаков, А. Б., Жолобак, Н. М., Иванов, В. К., Третьяков, Ю. Д., & Спивак, Н. Я. (2011). Наноматериалы на основе диоксида церия: свойства и перспективы использования в биологии и медицине. *Biotechnologia acta*, 4(1), 9–28.
117. Юсупова, Л.Б. (1990). О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов. *Лаб. дело*, 8, 19–21.
118. Abbasi, M., Dastar, B., Afzali, N., Shargh, S.M., Hashemi, S.R. (2017). Zinc requirements of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) by assessing dose-evaluating response of zinc oxide nano-particle supplementation'. *Poultry Science Journal*, 5(2), 131–143.
119. Abu-El-Zahab, H. S., Hamza, R. Z., Montaser, M. M., El-Mahdi, M. M., & Al-Harhi, W. A. (2019). Antioxidant, antiapoptotic, antigenotoxic, and hepatic ameliorative effects of L-carnitine and selenium on cadmium-induced hepatotoxicity and alterations in liver cell structure in male mice. *Ecotoxicology and environmental safety*, 173, 419–428.
120. Adu, O. A., Igbasan, F. A., & Adebisi, O. A. (2011). Effect of dietary rare earth element on performance and carcass characteristics of broiler. *Journal of Sustainable Technology*, 2, 118–126.
121. Agüero, L., Zaldivar-Silva, D., Peña, L., & Dias, M. L. (2017). Alginate microparticles as oral colon drug delivery device: A review. *Carbohydrate polymers*, 168, 32–43.
122. Ahmadi, M., Ahmadian, A., Seidavi, A.R. (2018). Effect of Different Levels of Nano-selenium on Performance, Blood Parameters, Immunity and Carcass Characteristics of Broiler Chickens. *Poultry Science Journal*, 6(1), 99–108.
123. Akçay, F. A., & Avcı, A. (2020). Effects of process conditions and yeast extract on the synthesis of selenium nanoparticles by a novel indigenous isolate *Bacillus* sp. EKT1 and characterization of nanoparticles. *Archives of Microbiology*, 1–11.
124. Aleissa, M. S., Alkahtani, S., Abd Eldaim, M. A., Ahmed, A. M., Bungău, S. G., Almutairi, B., & Abdel-Daim, M. M. (2020). Fucoidan Ameliorates Oxidative Stress, Inflammation, DNA Damage, and Hepatorenal Injuries in Diabetic Rats Intoxicated with Aflatoxin B1. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.
125. Ali, I., Peng, C., Khan, Z. M., Naz, I., Sultan, M., Ali, M., Abbasi, I. A., Islam, T.



& Ye, T. (2019). Overview of microbes based fabricated biogenic nanoparticles for water and wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 230, 128–150.

126. Ali, J., Ali, N., Wang, L., Waseem, H., & Pan, G. (2019). Revisiting the mechanistic pathways for bacterial mediated synthesis of noble metal nanoparticles. *Journal of Microbiological Methods*.159, 18–25.

127. Alla, D. (2018). Selenium-enriched bacterial protein as a source of organic selenium in broiler chickens.

128. Allam, N. G., Ismail, G. A., El-Gemizy, W. M., & Salem, M. A. (2019). Biosynthesis of silver nanoparticles by cell-free extracts from some bacteria species for dye removal from wastewater. *Biotechnology Letters*, 41(3), 379–389.

129. Alvarez, M. A. (2019). Yungas. In *Pharmacological Properties of Native Plants from Argentina* (pp. 167–191). Springer, Cham.

130. Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). Green chemistry: principles and practice. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 301–312.

131. Aneggi, E., de Leitenburg, C., Boaro, M., Fornasiero, P., & Trovarelli, A. (2020). Catalytic applications of cerium dioxide. In *Cerium Oxide (CeO<sub>2</sub>): Synthesis, Properties and Applications* (pp. 45–108). Elsevier.

132. Anık, Ü., Timur, S., & Dursun, Z. (2019). Recent pros and cons of nanomaterials in drug delivery systems. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 1–11.

133. Anzinger, J. J., Jin, X., Palmer, C. S., Dagur, P., Barthwal, M. K., & Kruth, H. S. (2017). Measurement of aortic cell fluid-phase pinocytosis *in vivo* by flow cytometry. *Journal of vascular research*, 54(4), 195–199.

134. Aparna, N. Karunakaran, R. (2016). Effect of Selenium Nanoparticles Supplementation on Oxidation Resistance of Broiler Chicken. *Indian Journal of Science and Technology*, 9(S1), 1–5.

135. Archibald, F. S., & Fridovich, I. (1981). Manganese and defenses against oxygen toxicity in *Lactobacillus plantarum*. *Journal of bacteriology*, 145(1), 442–451.

136. Archibald, F. S., & Fridovich, I. (1982). Investigations of the state of the manganese in *Lactobacillus plantarum*. *Archives of biochemistry and biophysics*, 215(2), 589–596

137. Archibald, F. S., & Fridovich, I. (1982). The scavenging of superoxide radical by manganous complexes: *in vitro*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 214(2), 452–463.

138. Athmouni, K., Mkadmini Hammi, K., El Feki, A., & Ayadi, H. (2020). Development of catechin–phospholipid complex to enhance the bioavailability and modulatory potential against cadmium-induced oxidative stress in rat's liver. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 126(1), 82–88.

139. Atteia, H. H., Arafa, M. H., & Prabahar, K. (2018). Selenium nanoparticles prevents lead acetate-induced hypothyroidism and oxidative damage of thyroid tissues in male rats through modulation of selenoenzymes and suppression of miR-224. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99, 486–491.

140. Avenatti, R. C., McKeever, K. H., Horohov, D. W., & Malinowski, K. (2018). Effects of age and exercise on inflammatory cytokines, HSP70 and HSP90 gene expression and protein content in Standardbred horses. *Comparative Exercise Physiology*, 14(1), 27–46.

141. Avendaño, R., Chaves, N., Fuentes, P., Sánchez, E., Jiménez, J.I., Chavarría, M. (2016). Production of selenium nanoparticles in *Pseudomonas putida* KT2440. *Scientific Reports*, 6, 1–9.

142. Bagherzade, G., Tavakoli, M. M., & Namaei, M. H. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of saffron (*Crocus sativus* L.) wastages and its antibacterial activity against six bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(3), 227–233.

143. Bai, K., Hong, B., He, J., Hong, Z., & Tan, R. (2017). Preparation and antioxidant properties of selenium nanoparticles-loaded chitosan microspheres. *International journal of nanomedicine*, 12, 4527.

144. Bai, K., Hong, B., Hong, Z., Sun, J., & Wang, C. (2017). Selenium nanoparticles-loaded chitosan/citrate complex and its protection against oxidative stress in D-galactose-induced aging mice. *Journal of nanobiotechnology*, 15(1), 92.

145. Baird, L., & Dinkova-Kostova, A. T. (2011). The cytoprotective role of the Keap1–Nrf2 pathway. *Archives of toxicology*, 85(4), 241–272.

146. Baird, L., Llères, D., Swift, S., & Dinkova-Kostova, A. T. (2013). Regulatory flexibility in the Nrf2-mediated stress response is conferred by conformational cycling of the Keap1-Nrf2 protein complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(38), 15259–15264.

147. Bakir, E., Younis, N., Mohamed, M., & El Semaary, N. (2018). Cyanobacteria as nanogold factories: chemical and anti-myocardial infarction properties of gold nanoparticles synthesized by *Lyngbya majuscula*. *Marine Drugs*, 16(6), 217.

148. Banerjee, K., & Rai, V. R. (2018). A review on mycosynthesis, mechanism, and characterization of silver and gold nanoparticles *BioNanoScience*, 8(1), 17–31.

149. Bao, P., Chen, S. C., & Xiao, K. Q. (2015). Dynamic equilibrium of endogenous selenium nanoparticles in selenite-exposed cancer cells: a deep insight into the interaction between endogenous SeNPs and proteins. *Molecular BioSystems*, 11(12), 3355–3361.

150. Bao, P., Chen, Z., Tai, R. Z., Shen, H. M., Martin, F. L., & Zhu, Y. G. (2015). Selenite-induced toxicity in cancer cells is mediated by metabolic generation of endogenous selenium nanoparticles. *Journal of proteome research*, 14(2), 1127–1136.

151. Bao, P., Li, G. X., He, Y. Q., & Ren, H. Y. (2020). Selenium nanovirus and its cytotoxicity in selenite-exposed higher living organisms. *Biochemistry and biophysics reports*, 21, 100733.

152. Barabadi, H., Ovais, M., Shinwari, Z. K., & Saravanan, M. (2017). Anti-cancer green bionanomaterials: present status and future prospects. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 10(4), 285–314.

153. Bard, J. A., Goodall, E. A., Greene, E. R., Jonsson, E., Dong, K. C., & Martin, A. (2018). Structure and function of the 26S proteasome. *Annual review of biochemistry*, 87, 697–724.

154. Bazi, A., Shahramian, I., Yaghoobi, H., Naderi, M., & Azizi, H. (2017). The role of immune system in thalassemia major: a narrative review. *Journal of Pediatrics Review*.

155. Belyaeva, E. A. (2019). Toxic Effects of Zn<sup>2+</sup> and Selenite on Rat Ascites Hepatoma AS-30D Cells and Isolated Liver Mitochondria: Molecular Mechanism (s) of the Metal/Metalloid Action.

156. Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics (Tokyo)* 58(1):1–26.
157. Betancor, M. B., Dam, T. M., Walton, J., Morken, T., Campbell, P. J., & Tocher, D. R. (2016). Modulation of selenium tissue distribution and selenoprotein expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with graded levels of plant ingredients. *British Journal of Nutrition*, 115(8), 1325–1338.
158. Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M., & Dada, R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nature Reviews Urology*, 14(8), 470.
159. Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., Tsekhmistrenko O.S., Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. Regulation of redox processes in biological systems with the participation of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway, biogenic selenium nanoparticles as Nrf2 activators. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2020, 11(4), 483–493.
160. Bityutsky, V., Tsekhmistrenko, O., Tsekhmistrenko, S., Kharchyshyn, V., Melnychenko, Yu. (2018). Effects of dietary selenium including probiotics mixture on growth performance, serum biochemical parameters of pharaon quails. 2<sup>nd</sup> International Conference “Smart Bio” (03-05 May 2018. Kaunas, Lithuania), 157.
161. Bityutskyy, V. S., Tsekhmistrenko, O. S., Tsekhmistrenko, S. I., Spyvack, M. Y., & Shadura, U. M. (2017). Perspectives of cerium nanoparticles use in agriculture. *The Animal Biology*, 19(3), 9–17.
162. Bityutskyy, V., Tsekhmistrenko, S., Tsekhmistrenko, O., Melnychenko, O., & Kharchyshyn, V. (2019). Effects of different dietary selenium sources including probiotics mixture on growth performance, feed utilization and serum biochemical profile of quails. In *Modern Development Paths of Agricultural Production* (pp. 623–632). Springer, Cham.
163. Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, S.I., Tsekhmistrenko, O.S., Oleshko, O.A., Heiko, L.M. (2020). Influence of selenium on redox processes, selenoprotein metabolism and antioxidant status of aquaculture facilities. *Таврійський науковий вісник*, 114, 231–240.
164. Bluma, J. Lesch & David, C. Page (2012). Genetics of germ cell development. *Nature reviews. Genetics* 13 (11): 781–794.

165. Böck, A. (2001). Selenium metabolism in bacteria. In Selenium (pp. 7–22). Springer, Boston, MA.
166. Bollong, M. J., Lee, G., Coukos, J. S., Yun, H., Zambaldo, C., Chang, J. W., Chin, E. N., Ahmad, I., Chatterjee, A. K., Lairson, L. L., Schultz, P. G., & Moellering, R. E. (2018). A metabolite-derived protein modification integrates glycolysis with KEAP1–NRF2 signalling. *Nature*, 562(7728), 600–604.
167. Bölükbaşı, S. C., Al-Sagan, A. A., Ürüshan, H., Erhan, M. K., Durmuş, O., & Kurt, N. (2016). Effects of cerium oxide supplementation to laying hen diets on performance, egg quality, some antioxidant enzymes in serum and lipid oxidation in egg yolk. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 100(4), 686–693.
168. Boostani, A., Sadeghi, A.A., Mousavi, S.N., Chamani, M. Kashan, N. (2015). Effects of organic, inorganic, and nano-Se on growth performance, antioxidant capacity, cellular and humoral immune responses in broiler chickens exposed to oxidative stress. *Livestock science*, 178, 330–336.
169. Boostani, A., Sadeghi, A.A., Mousavi, S.N., Chamani, M. Kashan, N. (2015). The effects of organic, inorganic, and nano-selenium on blood attributes in broiler chickens exposed to oxidative stress. *Acta Scientiae Veterinariae*, 43, 1–6.
170. Bribiesca, J. E. R., Casas, R. L., Monterrosa, R. G. C., & Pérez, A. R. (2017). Supplementing selenium and zinc nanoparticles in ruminants for improving their bioavailability meat. In *Nutrient Delivery* (pp. 713–747). Academic Press.
171. Brooijmans, R. J. W.; De Vos, W. M.; Hugenholtz, J. (2009). Lactobacillus plantarum WCFS1 Electron Transport Chains. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(11), 3580–3585.
172. Brzozowski, T., Konturek, P. C., Sliwowski, Z., Drozdowicz, D., Burnat, G., Pajdo, R., ... & Konturek, S. J. (2008). Gastroprotective action of orexin-A against stress-induced gastric damage is mediated by endogenous prostaglandins, sensory afferent neuropeptides and nitric oxide. *Regulatory peptides*, 148(1–3), 6–20.
173. Bubnov, R., Babenko, L., Lazarenko, L., Kryvtsova, M., Shcherbakov, O., Zholobak, N., ... & Spivak, M. (2019). Can tailored nanoceria act as a prebiotic? Report on improved lipid profile and gut microbiota in obese mice. *EPMA Journal*, 10(4), 317–335.

174. Bunglavan, S. J., Garg, A. K., Dass, R. S., & Shrivastava, S. (2018). Effect of varied levels of selenium supplementation in nano form on growth, nutrient intake and digestibility in Wistar albino rats. *Indian Journal of Animal Research*, 52(2), 248–253.
175. Burdett, I. D., Kirkwood, T. B., & Whalley, J. B. (1986). Growth kinetics of individual *Bacillus subtilis* cells and correlation with nucleoid extension. *Journal of bacteriology*, 167(1), 219–230.
176. Burello, E., & Worth, A. P. (2011). A theoretical framework for predicting the oxidative stress potential of oxide nanoparticles. *Nanotoxicology*, 5(2), 228–235.
177. Burk, R.F. (1983) Biological activity of selenium. *Annu. Rev. Nutr.*, 3, 53–70.
178. Buszewski, B., Railean-Plugaru, V., Pomastowski, P., Rafińska, K., Szultka-Mlynska, M., Golinska, P., ... & Dahm, H. (2018). Antimicrobial activity of biosilver nanoparticles produced by a novel *Streptacidiphilus durhamensis* strain. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(1), 45–54.
179. Cai, S. J., Wu, C. X., Gong, L. M., Song, T., Wu, H., & Zhang, L. Y. (2012). Effects of nano-selenium on performance, meat quality, immune function, oxidation resistance, and tissue selenium content in broilers. *Poultry Science*, 91(10), 2532–2539.
180. Cassee, F. R., Van Balen, E. C., Singh, C., Green, D., Muijser, H., Weinstein, J., & Dreher, K. (2011). Exposure, health and ecological effects review of engineered nanoscale cerium and cerium oxide associated with its use as a fuel additive. *Critical reviews in toxicology*, 41(3), 213–229.
181. Cavalu, S., Prokisch, J., Laslo, V., & Vicas, S. (2016). Preparation, structural characterisation and release study of novel hybrid microspheres entrapping nanoselenium, produced by green synthesis. *IET nanobiotechnology*, 11(4), 426–432.
182. Chan, L., He, L., Zhou, B., Guan, S., Bo, M., Yang, Y., & Chen, T. (2017). Cancer-targeted selenium nanoparticles sensitize Cancer cells to continuous  $\gamma$  radiation to achieve synergetic chemo-radiotherapy. *Chemistry—An Asian Journal*, 12(23), 3053–3060.

183. Chandramohan, S., Sundar, K., & Muthukumaran, A. (2018). Monodispersed spherical shaped selenium nanoparticles (SeNPs) synthesized by *Bacillus subtilis* and its toxicity evaluation in zebrafish embryos. *Materials Research Express*, 5(2), 025020.
184. Charvat, R.A.; Arrizabalaga, G. (2016). Oxidative stress generated during monensin treatment contributes to altered *Toxoplasma gondii* mitochondrial function. *Sci. Rep*, 6, 22997.
185. Chen, H., Seiber, J. N., & Hotze, M. (2014). ACS select on nanotechnology in food and agriculture: a perspective on implications and applications. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 62 (6), 1209–1212.
186. Chen, S., Quan, Y., Yu, Y. L., & Wang, J. H. (2017). Graphene quantum dot/silver nanoparticle hybrids with oxidase activities for antibacterial application. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 3(3), 313–321.
187. Cheng, W. H. (2021). Revisiting Selenium Toxicity. *The Journal of Nutrition*. <https://academic.oup.com/jn/advance-article-bstract/doi/10.1093/jn/nxaa433/6131939>
188. Cheng, Z., Zhi, X., Sun, G., Guo, W., Huang, Y., Sun, W., ... & Hu, K. (2016). Sodium selenite suppresses hepatitis B virus transcription and replication in human hepatoma cell lines. *Journal of medical virology*, 88(4), 653–663.
189. Chhipa, H. (2019). Mycosynthesis of nanoparticles for smart agricultural practice: A green and eco-friendly approach. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 87–109). Elsevier.
190. Choi, S., Johnston, M., Wang, G. S., & Huang, C. P. (2018). A seasonal observation on the distribution of engineered nanoparticles in municipal wastewater treatment systems exemplified by TiO<sub>2</sub> and ZnO. *Science of the Total Environment*, 625, 1321–1329.
191. Choi, S.J. Choy, J.H. (2014). Biokinetics of zinc oxide nanoparticles: toxicokinetics, biological fates, and protein interaction. *International journal of nanomedicine*, 9(2), 261–269.
192. Chowdhury, V. S., Sultana H., Furuse M. (2014). International perspectives on impacts of reproductive technologies world food production in Asia associated with poultry production. *Adv. Exp. Med. Biol.* 752: 229–237.

193. Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European Economic and Social Committee. Regulatory aspects of nanomaterials. SEC2008 2036 / Commission of the European Communities. Brussels, 17.6.2008. 11 pp. URL:

194. Cornelis, G., Ryan, B., McLaughlin, M. J., Kirby, J. K., Beak, D., & Chittleborough, D. (2011). Solubility and batch retention of CeO<sub>2</sub> nanoparticles in soils. *Environmental science & technology*, 45(7), 2777–2782.

195. Couto, N.; Wood, J.; Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radic. Biol. Med.*, 95, 27–42.

196. Cremonini, E., Zonaro, E., Donini, M., Lampis, S., Boaretti, M., Dusi, S., ... & Vallini, G. (2016). Biogenic selenium nanoparticles: characterization, antimicrobial activity and effects on human dendritic cells and fibroblasts. *Microbial biotechnology*, 9(6), 758–771.

197. Cui, D., Liang, T., Sun, L., Meng, L., Yang, C., Wang, L., Liang, T., Li, Q. (2018). Green synthesis of selenium nanoparticles with extract of hawthorn fruit induced HepG2 cells apoptosis. *Pharmaceutical Biology*, 56(1), 528–534.

198. Cui, Y. H., Li, L. L., Zhou, N. Q., Liu, J. H., Huang, Q., Wang, H. J., ... & Yu, H. Q. (2016). *In vivo* synthesis of nano-selenium by *Tetrahymena thermophila* SB210. *Enzyme and microbial technology*, 95, 185–191.

199. Cullinan, S. B., Gordan, J. D., Jin, J., Harper, J. W., & Diehl, J. A. (2004). The Keap1-BTB protein is an adaptor that bridges Nrf2 to a Cul3-based E3 ligase: oxidative stress sensing by a Cul3-Keap1 ligase. *Molecular and cellular biology*, 24(19), 8477–86.

200. Cumming, K. T., Raastad, T., Sørstrøm, A., Paronetto, M. P., Mercatelli, N., Ugelstad, I., & Paulsen, G. (2017). Vitamin C and E supplementation does not affect heat shock proteins or endogenous antioxidants in trained skeletal muscles during 12 weeks of strength training. *BMC Nutrition*, 3(1), 70.

201. Da Rosa, G.; Da Silva, A.S.; Souza, C.F.; Baldissera, M.D.; Mendes, R.E.; Araujo, D.N.; Alba, D.F.; Boiago, M.M.; Stefani, L.M. (2019). Impact of



colibacillosis on production in laying hens associated with interference of the phosphotransfer network and oxidative stress. *Microb. Pathog.*, 130, 131–136.

202. Daima, H. K., Selvakannan, P. R., Kandjani, A. E., Shukla, R., Bhargava, S. K., & Bansal, V. (2014). Synergistic influence of polyoxometalate surface corona towards enhancing the antibacterial performance of tyrosine-capped Ag nanoparticles. *Nanoscale*, 6(2), 758–765.

203. Das, M., & Chatterjee, S. (2019). Green synthesis of metal/metal oxide nanoparticles toward biomedical applications: Boon or bane. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 265–301). Elsevier.

204. Das, R. K., Pachapur, V. L., Lonappan, L., Naghdi, M., Pulicharla, R., Maiti, S., ... & Brar, S. K. (2017). Biological synthesis of metallic nanoparticles: plants, animals and microbial aspects. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 2(1), 18.

205. Dasarahally-Huligowda, L. K., Goyal, M. R., & Suleria, H. A. R. (2019). *Nanotechnology Applications in Dairy Science: Packaging, Processing, and Preservation*.

206. de Andrade, D. P., Ramos, C. L., Botrel, D. A., Borges, S. V., Schwan, R. F., & Ribeiro Dias, D. (2019). Stability of microencapsulated lactic acid bacteria under acidic and bile juice conditions. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(7), 2355–2362.

207. de Andrade, D. P., Ramos, C. L., Botrel, D. A., Borges, S. V., Schwan, R. F., & Ribeiro Dias, D. (2019). Stability of microencapsulated lactic acid bacteria under acidic and bile juice conditions. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(7), 2355–2362.

208. de la Vega, M. R., Dodson, M., Chapman, E., & Zhang, D. D. (2016). NRF2-targeted therapeutics: New targets and modes of NRF2 regulation. *Current opinion in toxicology*, 1, 62–70.

209. Delles, R.M.; Xiong, Y.L.; True, A.D.; Ao, T.; Dawson, K.A. (2015). Augmentation of water-holding and textural properties of breast meat from oxidatively stressed broilers by dietary antioxidant regimens. *Brit. Poult. Sci*, 56, 304–314.

210. Deniz, Ö. G., Kıvrak, E. G., Kaplan, A. A., & Altunkaynak, B. Z. (2017). Effects of folic acid on rat kidney exposed to 900 MHz electromagnetic radiation. *Journal of microscopy and ultrastructure*, 5(4), 198–205.
211. Deponce, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1830, 3217–3266.
212. Devarapalli, K., Ganji, P., Gunturu, C., Shetty, P. R., & Banoth, L. (2021). Probiotic Based Interventions for Improving Intestinal Health. In *Probiotic Research in Therapeutics* (pp. 29–56). Springer, Singapore.
213. Dhapte, V., & Pokharkar, V. (2019). Nanosystems for drug delivery: Design, engineering, and applications. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 321–345). Elsevier.
214. Dhevahi, B., & Gurusamy, R. (2014). Factors influencing production of lipase under metal supplementation by bacterial strain, *Bacillus subtilis* BDG-8. *Journal of environmental biology*, 35 (6), 1151–1155.
215. Diaz, M. R., Swart, P. K., Eberli, G. P., Oehlert, A. M., Devlin, Q., Saeid, A., & Altabet, M. A. (2015). Geochemical evidence of microbial activity within ooids. *Sedimentology*, 62(7), 2090–2112.
216. Dimauro, I., Mercatelli, N., & Caporossi, D. (2016). Exercise-induced ROS in heat shock proteins response. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 46–55.
217. Divya, S., Premavalli, K., Churchil, R. R., Omprakash, A. V., Vijayarani, K., & Srinivasan, G. (2019). Dietary Supplementation of different Sources of Selenium on the Production Performance of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Indian Vet. J.*, 96(02), 15–18.
218. Dobias, J., Suvorova, E. I., & Bernier-Latmani, R. (2011). Role of proteins in controlling selenium nanoparticle size. *Nanotechnology*, 22(19), 195605.
219. Donaldson, J., Madziva, M.T., Erlwanger, K.H. (2017). The effects of high-fat diets composed of different animal and vegetable fat sources on the health status and tissue lipid profiles of male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 30(5), 700.
220. Dubey, K., Anand, B. G., Badhwar, R., Bagler, G., Navya, P. N., Daima, H. K., & Kar, K. (2015). Tyrosine-and tryptophan-coated gold nanoparticles inhibit

amyloid aggregation of insulin. *Amino Acids*, 47(12), 2551–2560.

221. Ducatelle, R.; Goossens, E.; De Meyer, F.; Eeckhaut, V.; Antonissen, G.; Haesebrouck, F.; Van Immerseel, F. (2018). Biomarkers for monitoring intestinal health in poultry: Present status and future perspectives. *Vet. Res.*, 49, 43.

222. Dünser, M. W., Druml, W., Petros, S., & Grandner, W. (2018). The Hydration Status and the Kidneys. In *Clinical Examination Skills in the Adult Critically Ill Patient* (pp. 137–142). Springer, Cham.

223. Dwivedy, A. K., Upadhyay, N., Asawa, S., Kumar, M., Prakash, B., & Dubey, N. K. (2019). Therapeutic Potential of Plant-Based Metal Nanoparticles: Present Status and Future Perspectives. In *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms* (pp. 169–196). Academic Press.

224. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2012). Scientific Opinion on safety and efficacy of selenium in the form of organic compounds produced by the selenium-enriched yeast *Saccharomyces cerevisiae* NCYC R646 (Selemax 1000/2000) as feed additive for all species. *EFSA Journal*, 10(7), 2778.

225. Egglar, A. L., Gay, K. A., & Mesecar, A. D. (2008). Molecular mechanisms of natural products in chemoprevention: induction of cytoprotective enzymes by Nrf2. *Molecular nutrition & food research*, 52(S1), S84-S94.

226. Elahian, F., Reisi, S., Shahidi, A., & Mirzaei, S. A. (2017). High-throughput bioaccumulation, biotransformation, and production of silver and selenium nanoparticles using genetically engineered *Pichia pastoris*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(3), 853-861.

227. El-kazaz, S. E., Abo-Samaha, M. I., Hafez, M. H., El-Shobokshy, S. A., & Wirtu, G. (2020). Dietary supplementation of nano-selenium improves reproductive performance, sexual behavior and deposition of selenium in the testis and ovary of Japanese quail. *Journal of advanced veterinary and animal research*, 7(4), 597–607.

228. El-kazaz, S. E., Abo-Samaha, M. I., Hafez, M. H., El-Shobokshy, S. A., & Wirtu, G. (2020). Dietary supplementation of nano-selenium improves reproductive performance, sexual behavior and deposition of selenium in the testis and ovary of Japanese quail. *Journal of Advanced Veterinary & Animal Research*, 7(4), 597–607.

229. Emara, S. S. (2019). Comparative Effects of Nano-Selenium and Sodium Selenite Supplementation on Blood Biochemical Changes in Relation to Growth Performance of Growing New Zealand White Rabbits. *Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications*, 52(4), 1–14.

230. Emmanuel, R., Saravanan, M., Ovais, M., Padmavathy, S., Shinwari, Z. K., & Prakash, P. (2017). Antimicrobial efficacy of drug blended biosynthesized colloidal gold nanoparticles from *Justicia glauca* against oral pathogens: a nanoantibiotic approach. *Microbial Pathogenesis*, 113, 295–302.

231. Esim, O., Sarper, M., Ozkan, C. K., Oren, S., Baykal, B., Savaser, A., & Ozkan, Y. (2020). Effect simultaneous delivery with P-glycoprotein inhibitor and nanoparticle administration of doxorubicin on cellular uptake and *in vitro* anticancer activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*.

232. Estevam, E. C., Griffin, S., Nasim, M. J., Denezhkin, P., Schneider, R., Lilischkis, R., ... & Schäfer, K. H. (2017). Natural selenium particles from *Staphylococcus carnosus*: Hazards or particles with particular promise?. *Journal of hazardous materials*, 324, 22–30.

233. Estevez, A. Y., Ganesana, M., Trentini, J. F., Olson, J. E., Li, G., Boateng, Y. O., Lipps, J. M., Yablonski, S. E. R., & Erlichman, J. S. (2019). Antioxidant Enzyme-Mimetic Activity and Neuroprotective Effects of Cerium Oxide Nanoparticles Stabilized with Various Ratios of Citric Acid and EDTA. *Biomolecules*, 9(10), 562.

234. Estevez, A. Y., Stadler, B., & Erlichman, J. S. (2017). In-vitro Analysis of Catalase-, Oxidase-and SOD-mimetic Activity of Commercially Available and Custom-synthesized Cerium Oxide Nanoparticles and Assessment of Neuroprotective Effects in a Hippocampal Brain Slice Model of Ischemia. *The FASEB Journal*, 31(1 Supplement), 693–5.

235. Estevez, H., Garcia-Lidon, J. C., Luque-Garcia, J. L., & Camara, C. (2014). Effects of chitosan-stabilized selenium nanoparticles on cell proliferation, apoptosis and cell cycle pattern in HepG2 cells: comparison with other selenospecies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 184–193.

236. Eswayah, A. S., Smith, T. J., & Gardiner, P. H. (2016). Microbial transformations of selenium species of relevance to bioremediation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(16), 4848–4859.

237. Etezzad, S. M., Khajeh, K., Soudi, M., Ghazvini, P. T. M., & Dabirmanesh, B. (2009). Evidence on the presence of two distinct enzymes responsible for the reduction of selenate and tellurite in *Bacillus* sp. STG-83. *Enzyme and Microbial Technology*, 45(1), 1–6.

238. Ezhuthupurakkal, P. B., Polaki, L. R., Suyavaran, A., Subastri, A., Sujatha, V., & Thirunavukkarasu, C. (2017). Selenium nanoparticles synthesized in aqueous extract of *Allium sativum* perturbs the structural integrity of Calf thymus DNA through intercalation and groove binding. *Materials Science and Engineering: C*, 74, 597–608.

239. Fahmy, A. A., Abd El-Azim, A. S., & Gharib, G. A. (2016). Protective effect of Q-3 fatty acids and or nano-selenium on cisplatin and ionizing radiation induced liver toxicity in rats. *Ind J Pharm Education Res*, 50(4), 649–655.

240. Fang H. (2006). Intestinal microbiota of the elderly. In: *Gastrointestinal Microbiology: The Intestinal Microbiota of Elderly* Edited by A. Ouwehand and E. Vaughan, 75–91.

241. Fang, J., Yin, H., Zheng, Z., Zhu, P., Peng, X., Zuo, Z., ... & Deng, J. (2018). The Molecular Mechanisms of Protective Role of Se on the G 2/M Phase Arrest of Jejunum Caused by AFB 1. *Biological trace element research*, 181(1), 142–153.

242. Fang, X., Wang, Y., Wang, Z., Jiang, Z., & Dong, M. (2019). Microorganism assisted synthesized nanoparticles for catalytic applications. *Energies*, 12(1), 190.

243. Farina, M., & Aschner, M. (2019). Glutathione antioxidant system and methylmercury-induced neurotoxicity: an intriguing interplay. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1863(12), 129285.

244. Fatemi, M., Mollania, N., Momeni-Moghaddam, M., & Sadeghifar, F. (2018). Extracellular biosynthesis of magnetic iron oxide nanoparticles by *Bacillus cereus* strain HMH1: Characterization and *in vitro* cytotoxicity analysis on MCF-7 and 3T3 cell lines. *Journal of Biotechnology*, 270, 1–11.

245. Fernandes, J., Hu, X., Smith, M. R., Go, Y. M., & Jones, D. P. (2018). Selenium at the redox interface of the genome, metabolome and exposome. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 215–227.
246. Fernández-Llamosas, H., Castro, L., Blázquez, M. L., Díaz, E., & Carmona, M. (2016). Biosynthesis of selenium nanoparticles by *Azoarcus* sp. *CIB. Microbial cell factories*, 15(1), 109.
247. Finley, D., & Prado, M. A. (2020). The proteasome and its network: Engineering for adaptability. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 12(1), a033985.
248. Finley, D., Ulrich, H. D., Sommer, T., & Kaiser, P. (2012). The ubiquitin–proteasome system of *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 192(2), 319–360.
249. Fischer, H. C., & Chan, W. C. (2007). Nanotoxicity: the growing need for *in vivo* study. *Current opinion in biotechnology*, 18(6), 565–571.
250. Fisinin, V.I.; Surai, P.F. (2012). Early chicken nutrition and muscle tissue development. *Russian Poult. Sci. (Ptitsevodstvo Russia)*, 3, 9–12.
251. Fisinin, V.I.; Surai, P.F. (2012). First days of chicken life: From a protection against stresses to an effective adaptation. *Russian Poult. Sci. (Ptitsevodstvo Russia)*, 2, 11–15.
252. Forootanfar, H., Adeli-Sardou, M., Nikkhoo, M., Mehrabani, M., Amir-Heidari, B., Shahverdi, A. R., & Shakibaie, M. (2014). Antioxidant and cytotoxic effect of biologically synthesized selenium nanoparticles in comparison to selenium dioxide. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(1), 75–79.
253. Fortunati, E., Mazzaglia, A., & Balestra, G. M. (2019). Sustainable control strategies for plant protection and food packaging sectors by natural substances and novel nanotechnological approaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 986–1000.
254. Fu, P. P. (2014). Introduction to the special issue: nanomaterials-toxicology and medical applications. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(1), 1–2.
255. Fu, P. P., Xia, Q., Hwang, H. M., Ray, P. C., & Yu, H. (2014). Mechanisms of nanotoxicity: generation of reactive oxygen species. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(1), 64–75.

256. Gahlawat, G., & Choudhury, A. R. (2019). A review on the biosynthesis of metal and metal salt nanoparticles by microbes. *RSC Advances*, 9(23), 12944–12967.
257. Gan, L., Zhang, S., Zhang, Y., He, S., & Tian, Y. (2018). Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles by a halotolerant *Bacillus endophyticus* SCU-L. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 48(7), 582–588.
258. Gao, L., Fan, K., & Yan, X. (2017). Iron oxide nanozyme: A multifunctional enzyme mimetic for biomedical applications. *Theranostics*, 7(13), 3207–3227.
259. Gao, X., Li, X., Mu, J., Ho, C. T., Su, J., Zhang, Y., ... & Xie, Y. (2020). Preparation, physicochemical characterization, and anti-proliferation of selenium nanoparticles stabilized by *Polyporus umbellatus* polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 605–615.
260. Garbisu, C., Carlson, D., Adamkiewicz, M., Yee, B. C., Wong, J. H., Resto, E., ... & Buchanan, B. B. (1999). Morphological and biochemical responses of *Bacillus subtilis* to selenite stress. *Biofactors*, 10(4), 311–319.
261. Garbisu, C., Gonzalez, S., Yang, W. H., Yee, B. C., Carlson, D. L., Yee, A., ... & Leighton, T. (1995). Physiological mechanisms regulating the conversion of selenite to elemental selenium by *Bacillus subtilis*. *BioFactors (Oxford, England)*, 5(1), 29–37.
262. García-Giménez, J.L.; Romá-Mateo, C.; Pérez-Machado, G.; Peiró-Chova, L.; Pallardó, F.V. (2017). Role of glutathione in the regulation of epigenetic mechanisms in disease. *Free Radic. Biol. Med.*, 112, 36–48.
263. Garole, D. J., Choudhary, B. C., Paul, D., & Borse, A. U. (2018). Sorption and recovery of platinum from simulated spent catalyst solution and refinery wastewater using chemically modified biomass as a novel sorbent. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(11), 10911–10925
264. Ge, L., Li, Q., Wang, M., Ouyang, J., Li, X. & Xing, M. M. (2014). Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance & toxicity. *International journal of nanomedicine*, 9, 2399.

265. Geng, X., Liu, L., Tsai, K. J., & Liu, Z. (2017). Selenium: roles in cancer prevention and therapies. In *Essential and Non-essential Metals* (pp. 39–68). Humana Press, Cham.
266. Geraets, L., Oomen, A.G., Krystek, P., Jacobsen, N.R., Wallin, H., Laurentie, M., Verharen, H.W., Brandon, E.F. de Jong, W.H. (2014). Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats. *Particle and fibre toxicology*, 11(1), 30.
267. Gharaei-Fathabad, E., & Eslamifar, M. (2011). Isolation and applications of one strain of *Lactobacillus paraplantarum* from tea leaves (*Camellia sinensis*). *American Journal of Food Technology*, 6(5), 429–434.
268. Ghiuță, I., Cristea, D., Croitoru, C., Kost, J., Wenkert, R., Vyrides, I., Anayiotos, A., & Munteanu, D. (2018). Characterization and antimicrobial activity of silver nanoparticles, biosynthesized using *Bacillus species*. *Applied Surface Science*, 438, 66–73.
269. Goodfellow, M. J., Borcar, A., Proctor, J. L., Greco, T., Rosenthal, R. E., & Fiskum, G. (2020). Transcriptional activation of antioxidant gene expression by Nrf2 protects against mitochondrial dysfunction and neuronal death associated with acute and chronic neurodegeneration. *Experimental Neurology*, 328, 113247.
270. Gopi, M., Pearlin, B., Kumar, R.D., Shanmathy, M. Prabakar, G. (2017). Role of nanoparticles in animal and poultry nutrition: modes of action and applications in formulating feed additives and food processing. *Int J. Pharmacol*, 13, 724–731.
271. Goutam, S. P., Saxena, G., Roy, D., Yadav, A. K., & Bharagava, R. N. (2020). Green synthesis of nanoparticles and their applications in water and wastewater treatment. In *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*, 349–379. Springer, Singapore.
272. Griffiths, H.R.; Dias, I.H.; Willetts, R.S.; Devitt, A. Redox regulation of protein damage in plasma. *Redox Biol.* 2014, 2, 430–435.
273. Grillone, A., Li, T., Battaglini, M., Scarpellini, A., Prato, M., Takeoka, S., & Ciofani, G. (2017). Preparation, characterization, and preliminary *in vitro* testing of nanoceria-loaded liposomes. *Nanomaterials*, 7(9), 276.
274. Grzelczak, M., & Liz-Marzán, L. M. (2014). The relevance of light in the



formation of colloidal metal nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 43(7), 2089–2097.

275. Gudkov, S., Glazkov, P., Zavalin, A., Kovaleva, T., Nikulina, E., Glushko, A., ... & Davydov, R. (2019). Production and application of selenium nanoparticles to prevent ionizing radiation-induced oxidative stress. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 390(1), 012031.

276. Guerrero-Encinas, I., González-González, J. N., Santiago-López, L., Muhlia-Almazán, A., Garcia, H. S., Mazorra-Manzano, M. A., ... & Hernández-Mendoza, A. (2021). Protective Effect of *Lacticaseibacillus casei* CRL 431 Postbiotics on Mitochondrial Function and Oxidative Status in Rats with Aflatoxin B 1–Induced Oxidative Stress. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-11.

277. Gulyás, G., Csosz, E., Prokisch, J., Jávör, A., Mézes, M., Erdélyi, M., Balogh, K., Janáky, T., Szabó, Z., Simon, A. Czeglédi, L. (2017). Effect of nano-sized, elemental selenium supplement on the proteome of chicken liver. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 101(3), 502–510.

278. Gunawan, C., Lord, M. S., Lovell, E., Wong, R. J., Jung, M. S., Mann, R., & Amal, R. (2019). Oxygen-vacancy engineering of cerium-oxide nanoparticles for antioxidant activity. *ACS omega*, 4(5), 9473–9479.

279. Guo, Q.; Majeed, S.; Xu, R.; Zhang, K.; Kakade, A.; Khan, A.; Hafeez, F.Y.; Mao, C.; Liu, P.; Li, X. (2019). Heavy metals interact with the microbial community and affect biogas production in anaerobic digestion: A review. *J. Environ. Manag*, 240, 266–272.

280. Gupta, R., & Padmanabhan, P. (2018). Biogenic synthesis and characterization of gold nanoparticles by a novel marine bacteria *marinobacter algicola*: progression from nanospheres to various geometrical shapes. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8(1), 732.

281. Gupta, T. T., & Ayan, H. (2019). Application of non-thermal plasma on biofilm: a review. *Applied Sciences*, 9(17), 3548.

282. Hadrup, N., Loeschner, K., Mandrup, K., Ravn-Haren, G., Frandsen, H. L., Larsen, E. H., ... & Mortensen, A. (2019). Subacute oral toxicity investigation of selenium nanoparticles and selenite in rats. *Drug and chemical toxicology*, 42(1), 76–83.

283. Halaris A., Plietz, (2007). Agmatine: metabolic pathway and spectrum of activity in brain. *CNS Drugs*, 21: 885–90.
284. Hallan, S. S., Kaur, P., Kaur, V., Mishra, N., & Vaidya, B. (2016). Lipid polymer hybrid as emerging tool in nanocarriers for oral drug delivery. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 334–349.
285. Hamad, A. F., Han, J. H., Kim, B. C., & Rather, I. A. (2018). The intertwine of nanotechnology with the food industry. *Saudi journal of biological sciences*, 25(1), 27–30.
286. He Y., Fang J., Peng X., Cui H., Deng J., Chen Z., Lai W., Shu G., Tang L. (2014). Effects of sodium selenite on aflatoxin B1-induced decrease of ileac T cell and the mRNA contents of IL-2, IL-6, and TNF- $\alpha$  in broilers. *Biol. Trace. Elem. Res.* 159: 167–173.
287. He, M. L., Wehr, U., & Rambeck, W. A. (2010). Effect of low doses of dietary rare earth elements on growth performance of broilers. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 94(1), 86–92.
288. He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J., & Gu, N. (2007). Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodopseudomonas capsulata*. *Materials Letters*, 61(18), 3984–3987.
289. Held, J. M. (2020). Redox Systems Biology: Harnessing the Sentinels of the Cysteine Redoxome. *Antioxidants & Redox Signaling*, 32(10), 659–676.
290. Hernández-Muñoz, P., Cerisuelo, J. P., Domínguez, I., López-Carballo, G., Catalá, R., & Gavara, R. (2019). Nanotechnology in Food Packaging. In *Nanomaterials for Food Applications* (pp. 205–232). Elsevier.
291. Holubiev, M., Holubieva, T., & Sychov, M. (2020). Effect of supplemental Mn, Zn, Fe and Cu and their interactions on the performance of broiler chickens. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 3(3), 29–33.
292. Hosseini, S., & Mamouei, M. (2019). Assessment of Glutathione peroxidase activity in blood plasma and semen Following Nutrition by Nano-selenium supplementation in Khuzestan Arabian rams.
293. Hu, R.; He, Y.; Arowolo, M.A.; Wu, S.; He, J. Polyphenols as Potential Attenuators of Heat Stress in Poultry Production. *Antioxidants* 2019, 8, 3.

294. Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474–483.
295. Hunyadi, A. (2019). The mechanism (s) of action of antioxidants: From scavenging reactive oxygen/nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites. *Medicinal Research Reviews*, 39(6), 2505–2533.
296. Husen, A., Siddiqi, K.S. (2014). Phytosynthesis of nanoparticles: concept, controversy and application. *Nanoscale Research Letters*, 9, 229–253.
297. Huth, J.C., Archer, G.S. (2015). Comparison of Two LED Light Bulbs to a Dimmable CFL and their Effects on Broiler Chicken Growth, Stress, and Fear. *Poult. Sci.*, 94, 2027–2036.
298. Ibor, O. R., Adeogun, A. O., Regoli, F., & Arukwe, A. (2019). Xenobiotic biotransformation, oxidative stress and obesogenic molecular biomarker responses in *Tilapia guineensis* from Eleyele Lake, Nigeria. *Ecotoxicology and environmental safety*, 169, 255–265.
299. İlçe, F., Gök, G., & Pandir, D. (2019). Acute effects of lipopolysaccharide (LPS) in kidney of rats and preventive role of vitamin E and sodium selenite. *Human & experimental toxicology*, 38(5), 547–560.
300. Iqbal, A., Qudoos, A., Bayram, İ., Tytariova, O., Tsekhmistrenko, O., Slomchynskiy, M., Babenko, S. (2020). Enhancing immunity level by using phytogetic feed additives in animal diets. *Animal Husbandry Products Production and Processing*, 2(158), 21–27.
301. Iravani, S. (2014). Bacteria in nanoparticle synthesis: current status and future prospects. *Int Sch Res Notices*. 18.
302. Israel, L. L., Braubach, O., Galstyan, A., Chiechi, A., Shatalova, E. S., Grodzinski, Z., Ding, H., Black, K. L., Ljubimova, J. Y., & Holler, E. (2019). A combination of tri-Leucine and angiopep-2 drives a polyanionic polymalic acid nanodrug platform across the blood–brain barrier. *ACS nano*, 13(2), 1253–1271.
303. Itoh, K.; Mimura, J.; Yamamoto, M. (2010). Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: A historical overview. *Antioxid. Redox Signal.*, 13, 1665–1678.
304. Jafarizadeh-Malmiri, H., Sayyar, Z., Anarjan, N., & Berenjian, A. (2019).

Nanobiotechnology in Food Packaging. In *Nanobiotechnology in Food: Concepts, Applications and Perspectives* (pp. 69–79). Springer, Cham.

305. Jafarizadeh-Malmiri, H., Sayyar, Z., Anarjan, N., & Berenjian, A. (2019). Nano-sensors in Food Nanobiotechnology. In *Nanobiotechnology in Food: Concepts, Applications and Perspectives* (pp. 81–94). Springer, Cham.

306. Jain, A., Ranjan, S., Dasgupta, N., & Ramalingam, C. (2018). Nanomaterials in food and agriculture: an overview on their safety concerns and regulatory issues. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(2), 297–317.

307. Jamdagni, P., Khatri, P. & Rana, J. S. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of *Nyctanthes arbor-tristis* and their antifungal activity. *Journal of King Saud University-Science*, 30(2), 168–175.

308. Jang, H. J., Yu, H. S., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2020). Immune-stimulating Effect of *Lactobacillus plantarum* Ln1 Isolated from the Traditional Korean Fermented Food, Kimchi. *Journal of microbiology and biotechnology*, 30(6), 926–929.

309. Javed, S., Sarwar, A., Tassawar, M., & Faisal, M. (2015). Conversion of selenite to elemental selenium by indigenous bacteria isolated from polluted areas. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 27(4), 162–168.

310. Jia, X., Liu, Q., Zou, S., Xu, X., & Zhang, L. (2015). Construction of selenium nanoparticles/ $\beta$ -glucan composites for enhancement of the antitumor activity. *Carbohydrate polymers*, 117, 434–442.

311. Jin, W., Yoon, C., Johnston, T.V., Ku, S., Ji, G.E. (2018). Production of Selenomethionine-Enriched *Bifidobacterium bifidum* BGN4 via Sodium Selenite Biocatalysis. *Molecules*, 23(11), 2860.

312. Jin, Y., He, Y., Liu, L., Tao, W., Wang, G., Sun, W., & Wang, M. (2021). Effects of Supranutritional Selenium Nanoparticles on Immune and Antioxidant Capacity in Sprague-Dawley Rats. *Biological Trace Element Research*, 1–9.

313. Joardar, S., Ray, S., Samanta, S., & Bhattacharjee, P. (2016). Antibacterial activity of 3, 6-di (pyridin-2-yl)-1, 2, 4, 5-s-tetrazine capped Pd (0) nanoparticles against Gram-positive *Bacillus subtilis* bacteria. *Cogent Biology*, 2(1), 1249232.

314. Joselin, J. M., Kumar, V. G., Suganya, K. S., & Govindaraju, K. (2018). Biological Synthesis of Gold Nanospheres and Nanotriangles. *Micro and Nanosystems*, 10(1), 35–39.
315. Joshua, P.P., Valli, C. Balakrishnan, V. (2016). Effect of in ovo supplementation of nano forms of zinc, copper, and selenium on post-hatch performance of broiler chicken. *Veterinary world*, 9(3), 287–294.
316. Jump, D.B. (2004). Fatty acid regulation of gene transcription. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 41, 41–78.
317. Kaab, H.; Bain, M.M.; Eckersall, P.D. (2018). Acute phase proteins and stress markers in the immediate response to a combined vaccination against Newcastle disease and infectious bronchitis viruses in specific pathogen free (SPF) layer chicks. *Poult. Sci.*, 97, 463–469.
318. Kachuee, R., Abdi-Benemar, H., Mansoori, Y., Sánchez-Aparicio, P., Seifdavati, J., Elghandour, M. M., ... & Salem, A. Z. (2019). Effects of sodium selenite, L-selenomethionine, and selenium nanoparticles during late pregnancy on selenium, zinc, copper, and iron concentrations in Khalkhali Goats and their kids. *Biological trace element research*, 191(2), 389–402.
319. Kaidery, N. A., Ahuja, M., & Thomas, B. (2019). Crosstalk between Nrf2 signaling and mitochondrial function in Parkinson's disease. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 101, 103413.
320. Kalavathy, R., Abdullah, N., Jalaludin, S., & Ho, Y. W. (2003). Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *British Poultry Science*, 44(1), 139–144.
321. Kang, F., Qu, X., Alvarez, P. J., & Zhu, D. (2017). Extracellular saccharide-mediated reduction of Au<sup>3+</sup> to gold nanoparticles: new insights for heavy metals biomineralization on microbial surfaces. *Environmental Science & Technology*, 51(5), 2776–2785.
322. Kang, S., Li, R., Jin, H., You, H. J., & Ji, G. E. (2020). Effects of Selenium- and Zinc-Enriched Lactobacillus plantarum SeZi on Antioxidant Capacities and Gut Microbiome in an ICR Mouse Model. *Antioxidants*, 9(10), 1028.

323. Kansanen, E., Kuosmanen, S. M., Leinonen, H., & Levonen, A. L. (2013). The Keap1-Nrf2 pathway: mechanisms of activation and dysregulation in cancer. *Redox biology*, 1(1), 45–49.
324. Kaphle, A., Navya, P. N., Umapathi, A., & Daima, H. K. (2018). Nanomaterials for agriculture, food and environment: applications, toxicity and regulation. *Environmental Chemistry Letters*, 16(1), 43–58.
325. Kar, I.; Mukhopadhyay, S.K.; Patra, A.K.; Pradhan, S. (2018). Bioaccumulation of selected heavy metals and histopathological and hematobiochemical alterations in backyard chickens reared in an industrial area, India. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 25, 3905–3912.
326. Karakoti, A. S., Munusamy, P., Hostetler, K., Kodali, V., Kuchibhatla, S., Orr G, Pounds, J.G., Teegarden, J. G., Thrall, B. D., & Baer, D. R. (2012). Preparation and characterization challenges to understanding environmental and biological impacts of ceria nanoparticles. *Surface and Interface Analysis*, 44(8), 882–889.
327. Karakoti, A. S., Munusamy, P., Hostetler, K., Kodali, V., Kuchibhatla, S., Orr, G., ... & Baer, D. R. (2012). Preparation and characterization challenges to understanding environmental and biological impacts of ceria nanoparticles. *Surface and Interface Analysis*, 44(8), 882-889.
328. Kasaikina M. V., Kravtsova M. A., Lee B. C., Seravalli J., Peterson D. A., Walter J., Legge R., Benson A. K., Hatfield D. L., Gladyshev V. N. (2011). Dietary selenium affects host selenoproteome expression by influencing the gut microbiota. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J.* 25: 2492–2499.
329. Katz, A., Alimova, A., Xu, M., Rudolph, E., Shah, M. K., Savage, H. E., Rosen, R. B., McCormick, S. A., & Alfano, R. R. (2003). Bacteria size determination by light scattering. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 9(2), 277–287.
330. Kaur, M., Singh, G., Kaur, A., Sharma, P. K., & Kang, T. S. (2019). Thermally Stable Ionic Liquid-Based Microemulsions for High-Temperature Stabilization of Lysozyme at Nanointerfaces. *Langmuir*, 35(11), 4085–4093.

331. Kessi, J., & Hanselmann, K. W. (2004). Similarities between the abiotic reduction of selenite with glutathione and the dissimilatory reaction mediated by *Rhodospirillum rubrum* and *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(49), 50662–50669.

332. Keum, Y.S.; Choi, B.Y. (2014). Molecular and chemical regulation of the Keap1-Nrf2 signaling pathway. *Molecules*, 19, 10074–10089.

333. Khalaf, A. A., Ahmed, W. M. S., Moselhy, W. A., Abdel-Halim, B. R., & Ibrahim, M. A. (2019). Protective effects of selenium and nano-selenium on bisphenol-induced reproductive toxicity in male rats. *Human & experimental toxicology*, 38(4), 398–408.

334. Khan, Z. U. H., Khan, A., Chen, Y., Shah, N. S., Muhammad, N., Khan, A. U., ... & Qaisrani, S. A. (2017). Biomedical applications of green synthesized Nobel metal nanoparticles. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 173, 150–164.

335. Kharissova, O. V., Dias, H. R., Kharisov, B. I., Perez, B. O. & Perez, V. M. J. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, 31(4), 240–248.

336. Khatami, M., Alijani, H. Q. & Sharifi, I. (2018). Biosynthesis of bimetallic and core-shell nanoparticles: their biomedical applications—a review. *IET nanobiotechnology*, 12(7), 879–887.

337. Khoei, N. S., Lampis, S., Zonaro, E., Yrjälä, K., Bernardi, P., & Vallini, G. (2017). Insights into selenite reduction and biogenesis of elemental selenium nanoparticles by two environmental isolates of *Burkholderia fungorum*. *New biotechnology*, 34, 1–11.

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

339. Khurana, A., Tekula, S., Saifi, M. A., Venkatesh, P., & Godugu, C. (2019). Therapeutic applications of selenium nanoparticles. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 802–812.

340. Kim, E. B., Seo, J. M., Kim, G. W., Lee, S. Y., & Park, T. J. (2016). *In vivo* synthesis of europium selenide nanoparticles and related cytotoxicity evaluation of human cells. *Enzyme and microbial technology*, 95, 201–208.

341. Kim, S. H., Yu, D. J., Lee, S. J., Park, S. Y., Ryu, K. S., & Lee, D. G. (2003). Effects of Feeding *Aspergillus oryzae* Ferments on Performance, Intestinal Microflora, Blood Serum Components and Environmental Factors in Broiler. *Korean Journal of Poultry Science*. 30, 151–162.

342. Kim, S., Viswanath, A. N. I., Park, J. H., Lee, H. E., Park, A. Y., Choi, J. W., Kim, H., Londhe, A., Jang, B., Lee, J., Hwang, H., Lim, S., Pae, A., & Park, K. (2020). Nrf2 activator via interference of Nrf2-Keap1 interaction has antioxidant and anti-inflammatory properties in Parkinson's disease animal model. *Neuropharmacology*, 167, 107989.

343. Kim, Y., & Jang, H. H. (2019). Role of Cytosolic 2-Cys Prx1 and Prx2 in Redox Signaling. *Antioxidants*, 8(6), 169.

344. Kimber, R. L., Lewis, E. A., Parmeggiani, F., Smith, K., Bagshaw, H., Starborg, T., Smith, K., Joshi, N., Piscoero, A. I., Van der Laan, G., Cibin, G., Gianolio, D., Haigh, S. J., Patrick, R., Turner, N. J., & Lloyd, J. R. (2018). Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles using *Shewanella oneidensis*: application for click chemistry. *Small*, 14(10), 1703145.

345. Kind, P. R. N., & King, E. J. (1954). Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. *Journal of clinical Pathology*, 7(4), 322.

346. Klajn, V. M., Ames, C. W., da Cunha, K. F., Lorini, A., dos Santos Hackbart, H. C., Sanches Filho, P. J., ... & Fiorentini, Â. M. (2021). Probiotic fermented oat dairy beverage: viability of *Lactobacillus casei*, fatty acid profile, phenolic compound content and acceptability. *Journal of Food Science and Technology*, 1-9.

347. Kleerebezem, M., Boekhorst, J., van Kranenburg, R., Molenaar, D., Kuipers, O. P., Leer, R., & Stiekema, W. (2003). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1990–5.

348. Kleerebezem, M., Boekhorst, J., van Kranenburg, R., Molenaar, D., Kuipers, O., Leer, R., ... & Siezen, R. J. (2003). Complete genome sequence of *Lactobacillus*



plantarum WCFS1. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(4), 1990–1995.

349. Kobayashi, M., & Yamamoto, M. (2005). Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxidants & redox signaling*, 7(3–4), 385–394.

350. Kobyliak, N., Virchenko, O., Falalyeyeva, T., Kondro, M., Beregova, T., Bodnar, P., Shcherbakov, R., Bubnov, M., Caprnda, D., & Sabo, J. (2017). Cerium dioxide nanoparticles possess anti-inflammatory properties in the conditions of the obesity-associated NAFLD in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 608–614.

351. Kopacz, A., Kloska, D., Forman, H. J., Jozkowicz, A., & Grochot-Przeczek, A. (2020). Beyond repression of Nrf2: an update on Keap1. *Free Radical Biology and Medicine*.

352. Kora, A. J. (2018). Gram+ ve bacterium *Staphylococcus aureus*: a potential source for the green biosynthesis of monodispersed, smaller selenium nanoparticles. *Micro & Nano Letters*, 13(8), 1155–1158.

353. Kora, A. J., & Rastogi, L. (2016). Bacteriogenic synthesis of selenium nanoparticles by *Escherichia coli* ATCC 35218 and its structural characterisation. *IET nanobiotechnology*, 11(2), 179–184.

354. Kora, A. J., & Rastogi, L. (2016). Biomimetic synthesis of selenium nanoparticles by *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853: an approach for conversion of selenite. *Journal of environmental management*, 181, 231–236.

355. Kosmachevskaya, O. V., Shumaev, K. B., & Topunov, A. F. (2019). Electrophilic Signaling: The Role of Reactive Carbonyl Compounds. *Biochemistry (Moscow)*, 84(1), 206–224.

356. Kumar A., & Kumar S. P. (2020). Biogenic selenium nanoparticles for their therapeutic application. *Asian J Pharm Clin Res*, 13(1), 4–9.

357. Kumar, A., Pandey, A. K., Singh, S.S., Shanker R., Dhawan, A. (2011). A flow cytometric method to assess nanoparticle uptake in bacteria. *Cytometry A*, 79(9), 707–12.

358. Kumar, A., Pandey, A. K., Singh, S.S., Shanker R., Dhawan, A. (2011). Cellular uptake and mutagenic potential of metal oxide nanoparticles in bacterial cells. *Chemosphere*, 83(8),1124–1132.
359. Kumar, I., Mondal, M., & Sakthivel, N. (2019). Green synthesis of phytogetic nanoparticles. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 37–73). Elsevier.
360. Kumar, K. V. (2018). *Green Chemistry Approach of Metal Nanoparticles Synthesis*.
361. Kumar, V., Wadhwa, R., Kumar, N., & Maurya, P. K. (2019). A comparative study of chemically synthesized and *Camellia sinensis* leaf extract-mediated silver nanoparticles. *3 Biotech*, 9(1), 7.
362. Kunwar, A., & Priyadarsini, K. I. (2020). Selenium, a micronutrient can modulate viral diseases including COVID-19. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (IJBB)*, 57(6), 713–723.
363. Kurek, E., Ruszczyńska, A., Wojciechowski, M., Łuciuk, A., Michalska-Kacymirow, M., Motyl, I., Bulska, E. (2016). Bio-transformation of selenium in Se-enriched bacterial strains of *Lactobacillus casei*. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2016;67(3):253–62.
364. Kuria, A., Fang, X., Li, M., Han, H., He, J., Aaseth, J. O., & Cao, Y. (2020). Does dietary intake of selenium protect against cancer? A systematic review and meta-analysis of population-based prospective studies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(4), 684–694.
365. Lacourciere, G. M., & Stadtman, T. C. (1998). The NIFS protein can function as a selenide delivery protein in the biosynthesis of selenophosphate. *Journal of Biological Chemistry*, 273(47), 30921–30926.
366. Lampis, S., Zonaro, E., Bertolini, C., Cecconi, D., Monti, F., Micaroni, M., ... & Vallini, G. (2017). Selenite biotransformation and detoxification by *Stenotrophomonas maltophilia* SeITE02: novel clues on the route to bacterial biogenesis of selenium nanoparticles. *Journal of hazardous materials*, 324, 3–14.

367. Lapa, M. A., & Stanishevskaya, O. I. (2013). Size of egg yolk as a selection trait in chicken breeding programs. In Proceedings of the XV-th European symposium on the quality of eggs and egg products, 95.

368. Lara, H. H., Guisbiers, G., Mendoza, J., Mimun, L. C., Vincent, B. A., Lopez-Ribot, J. L., & Nash, K. L. (2018). Synergistic antifungal effect of chitosan-stabilized selenium nanoparticles synthesized by pulsed laser ablation in liquids against *Candida albicans* biofilms. *International journal of nanomedicine*, 13, 2697.

369. Le Roy, C.I.; Woodward, M.J.; Ellis, R.J.; La Ragione, R.M.; Claus, S.P. (2019). Antibiotic treatment triggers gut dysbiosis and modulates metabolism in a chicken model of gastro-intestinal infection. *BMC Vet. Res.*, 15, 37.

370. Lee, D., Xu, I. M. J., Chiu, D. K. C., Leibold, J., Tse, A. P. W., ... & Chok, S. H. (2019). Induction of oxidative stress through inhibition of thioredoxin reductase 1 is an effective therapeutic approach for hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 69(4), 1768–1786.

371. Lee, M. R., Fleming, H. R., Hodgson, C., & Davies, D. (2020). Selenium enrichment of laboratory scale silos using lactic acid bacteria inoculum.

372. Lee, N. Y., & Suk, K. T. (2021). The Role of the Gut Microbiome in Liver Cirrhosis Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 199.

373. Li, B., Li, W., Tian, Y., Guo, S., & Cao, N. (2020). Selenium-Alleviated Hepatocyte Necrosis and DNA Damage in Cyclophosphamide-Treated Geese by Mitigating Oxidative Stress. *Biological trace element research*, 193(2), 508–516.

374. Li, B., Liu, N., Li, Y., Jing, W., Fan, J., Li, D., ... & Wang, L. (2014). Reduction of selenite to red elemental selenium by *Rhodopseudomonas palustris* strain N. *PloS one*, 9(4).

375. Li, D. B., Cheng, Y. Y., Wu, C., Li, W. W., Li, N., Yang, Z. C., ... & Yu, H. Q. (2014). Selenite reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 is mediated by fumarate reductase in periplasm. *Scientific Reports*, 4(1), 1–7.

376. Li, J., Tian, B., Li, T., Dai, S., Weng, Y., Lu, J., Xu, X., Jin, Y., Pang, R., & Hua, Y. (2018). Biosynthesis of Au, Ag and Au–Ag bimetallic nanoparticles using protein extracts of *Deinococcus radiodurans* and evaluation of their cytotoxicity. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 1411.

377. Li, J.L., Zhang, L., Yang, Z.Y., Zhang, Z.Y., Jiang, Y., Gao, F. Zhou, G.H. (2018). Effects of different selenium sources on growth performance, antioxidant capacity and meat quality of local Chinese Subei chickens. *Biological trace element research*, 181(2), 340–346.
378. Li, M., & Zhang, C. (2016).  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticle-facilitated bisphenol A degradation by white rot fungus. *Science bulletin*, 61(6), 468–472.
379. Li, X. Z., & Nikaido, H. (2004). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64(2), 159–204.
380. Li, X., Xu, H., Chen, Z.S., & Chen, G. (2011). Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications. *Journal of Nanomaterials*, 16.
381. Li, Y., Lin, Z., Guo, M., Xia, Y., Zhao, M., Wang, C., ... & Zhu, B. (2017). Inhibitory activity of selenium nanoparticles functionalized with oseltamivir on H1N1 influenza virus. *International journal of nanomedicine*, 12, 5733–5743.
382. Li, Y., Lin, Z., Zhao, M., Xu, T., Wang, C., Xia, H., ... & Zhu, B. (2016). Multifunctional selenium nanoparticles as carriers of HSP70 siRNA to induce apoptosis of HepG2 cells. *International journal of nanomedicine*, 11, 3065.
383. Liang, Y.; Lin, S.L.; Wang, C.W.; Yao, H.D.; Zhang, Z.W.; Xu, S.W. (2014). Effect of selenium on selenoprotein expression in the adipose tissue of chickens. *Biol. Trace Elem. Res.*, 160, 41–48.
384. Liao, W., Yu, Z., Lin, Z., Lei, Z., Ning, Z., Regenstein, J. M., ... & Ren, J. (2015). Biofunctionalization of selenium nanoparticle with dictyophora indusiata polysaccharide and its antiproliferative activity through death-receptor and mitochondria-mediated apoptotic pathways. *Scientific reports*, 5(1), 1–13.
385. Limdi, J.K., Hyde, G.M. (2003). Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgrad. Med. J.*, 79(932), 307–312.
386. Lin, S.L.; Wang, C.W.; Tan, S.R.; Liang, Y.; Yao, H.D.; Zhang, Z.W.; Xu, S.W. (2014). Selenium deficiency inhibits the conversion of thyroidal thyroxine (T4) to triiodothyronine (T3) in chicken thyroids. *Biol. Trace Elem. Res.*, 161, 263–271.
387. Lin, Y., Ren, J., & Qu, X. (2014). Nano-gold as artificial enzymes: Hidden Talents. *Advanced Materials*, 26(25), 4200–4217.

388. Liu Z., Qu Y., Wang J., Wu R. (2016). Selenium deficiency attenuates chicken duodenal mucosal immunity via activation of the NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Biol. Trace. Elem. Res.* 172: 465–473.
389. Liu, B., Sun, Z., Huang, P. J. J., & Liu, J. (2015). Hydrogen peroxide displacing DNA from nanoceria: mechanism and detection of glucose in serum. *Journal Of The American Chemical Society*, 137(3), 1290–1295.
390. Liu, F., Liu, H., Liu, R., Xiao, C., Duan, X., McClements, D. J., & Liu, X. (2019). Delivery of sesamol using polyethylene-glycol-functionalized selenium nanoparticles in human liver cells in culture. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(10), 2991–2998.
391. Liu, F., Ma, C., Gao, Y., & McClements, D. J. (2017). Food-grade covalent complexes and their application as nutraceutical delivery systems: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 16(1), 76–95.
392. Liu, J., Wang, S., Zhang, Q., Li, X., & Xu, S. (2020). Selenomethionine alleviates LPS-induced chicken myocardial inflammation by regulating the miR-128-3p-p38 MAPK axis and oxidative stress. *Metallomics*. 12, 54-64.
393. Liu, P., Tian, W., Tao, S., Tillotson, J., Wijeratne, E. K., Gunatilaka, A. L., Zhang, D. D., & Chapman, E. (2019). Non-covalent NRF2 Activation Confers Greater Cellular Protection than Covalent Activation. *Cell chemical biology*, 26(10), 1427–1435.
394. Liu, S., Tan, H., Wei, S., Zhao, J., Yang, L., Li, S., Zhong, C., Yin, Y., Chen, Y. Peng, Y. (2015). Effect of selenium sources on growth performance and tissue selenium retention in yellow broiler chicks. *Journal of applied animal research*, 43(4), 487–490.
395. Liu, W.; Tian, S.; Zhao, X.; Xie, W.; Gong, Y.; Zhao, D. (2015). Application of stabilized nanoparticles for in situ remediation of metal-contaminated soil and groundwater: A critical review. *Current Pollution Reports* 1, 280–291.
396. Liu, Y., He, A., Tang, J., Shah, A. M., Jia, G., Liu, G., ... & Zhao, H. (2021). Selenium alleviates the negative effect of heat stress on myogenic differentiation of C2C12 cells with the response of selenogenome. *Journal of Thermal Biology*, 102874.

397. Liu, Y., Jiang, Z., Hou, X., Xie, X., Shi, J., Shen, J., ... & Feng, N. (2019). Functional lipid polymeric nanoparticles for oral drug delivery: Rapid mucus penetration and improved cell entry and cellular transport. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 21, 102075.
398. Liu, Y., Zeng, S., Liu, Y., Wu, W., Shen, Y., Zhang, L., ... & Hu, B. (2018). Synthesis and antidiabetic activity of selenium nanoparticles in the presence of polysaccharides from *Catathelasma ventricosum*. *International journal of biological macromolecules*, 114, 632–639.
399. Lobanov, A. V., Hatfield, D. L., & Gladyshev, V. N. (2009). Eukaryotic selenoproteins and selenoproteomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1790(11), 1424–1428.
400. Loddo, V., Yurdakal, S., & Parrino, F. (2020). Economical aspects, toxicity, and environmental fate of cerium oxide. In *Cerium Oxide (CeO<sub>2</sub>): Synthesis, Properties and Applications* (pp. 359–373). Elsevier.
401. Lok, C. N., Ho, C. M., Chen, R., He, Q. Y., Yu, W. Y., Sun, H., Tam, P. K., & Che, C. M. (2006). Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *Journal of Proteome Research*, 5(4), 916–924.
402. Lopez-Heras, I., Sanchez-Diaz, R., Anunciação, D. S., Madrid, Y., Luque-Garcia, J. L., & Camara, C. (2014). Effect of chitosan-stabilized selenium nanoparticles on cell cycle arrest and invasiveness in hepatocarcinoma cells revealed by quantitative proteomics. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 5(5), 1.
403. Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Farr A.R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1), 265–275.
404. Lu, J., Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic. Biol. Med.*, 66, 75–87.
405. Luesakul, U., Puthong, S., Neamati, N., & Muangsin, N. (2018). pH-responsive selenium nanoparticles stabilized by folate-chitosan delivering doxorubicin for overcoming drug-resistant cancer cells. *Carbohydrate polymers*, 181, 841–850.
406. Lv, Q., Zhang, B., Xing, X., Zhao, Y., Cai, R., Wang, W., & Gu, Q. (2018). Biosynthesis of copper nanoparticles using *Shewanella loihica* PV-4 with

antibacterial activity: Novel approach and mechanisms investigation. *Journal of Hazardous Materials*, 347, 141–149.

407. Ma, Q., He, X. (2012). Molecular basis of electrophilic and oxidative defense: Promises and perils of Nrf2. *Pharmacol. Rev.*, 64, 1055–1081.

408. Maes, S.; Vackier, T.; Huu, S.N.; Heyndrickx, M.; Steenackers, H.; Sampers, I.; Raes, K.; Verplaetse, A.; De Reu, K. (2019). Occurrence and characterisation of biofilms in drinking water systems of broiler houses. *BMC Microbiol.*, 19, 77.

409. Magesh, S., Chen, Y., Hu, L. (2012). Small Molecule Modulators of Keap1-Nrf2-ARE Pathway as Potential Preventive and Therapeutic Agents. *Medicinal research reviews*, 32(4), 687–726.

410. Mahmoud H.E.D., Ijiri, D., Ebeid, T.A. Ohtsuka, A. (2016). Effects of dietary nano-selenium supplementation on growth performance, antioxidative status, and immunity in broiler chickens under thermoneutral and high ambient temperature conditions. *The Journal of Poultry Science*, 0150133.

411. Mahmoudvand, H., Harandi, M. F., Shakibaie, M., Aflatoonian, M. R., ZiaAli, N., Makki, M. S., & Jahanbakhsh, S. (2014). Scolicidal effects of biogenic selenium nanoparticles against protoscolices of hydatid cysts. *International journal of surgery*, 12(5), 399–403.

412. Mahmound K. Z., Edens F. W. (2017). Influence of organic selenium on hsp70 response of heat-stressed and enteropathogenic *E. coli*-challenged broiler chickens (*Gallus gallus*). *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.* 141: 69–75.

413. Maiyo, F., & Singh, M. (2017). Selenium nanoparticles: potential in cancer gene and drug delivery. *Nanomedicine*, 12(9), 1075–1089.

414. Makarov, V. V., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Makarova, S. S., Yaminsky, I. V., Taliansky, M. E., & Kalinina, N. O. (2014). “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae*, 6(1 (20)). 35–44.

415. Makovicky P., Tumova E., Volek Z., Makovicky P., Arnone J. M., Svecova I., Samasca G. (2017). The influence of food restriction on the small bowel: Does

intensive short-term food restriction lead to weight loss?. *Bratisl. Lek. Lis.* 118: 361–365.

416. Mal, J., Veneman, W. J., Nancharaiah, Y. V., van Hullebusch, E. D., Peijnenburg, W. J., Vijver, M. G., & Lens, P. N. (2017). A comparison of fate and toxicity of selenite, biogenically, and chemically synthesized selenium nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*) embryogenesis. *Nanotoxicology*, 11(1), 87–97.

417. Manoj, D., Saravanan, R., Santhanalakshmi, J., Agarwal, S., Gupta, V. K., & Boukherroub, R. (2018). Towards green synthesis of monodisperse Cu nanoparticles: an efficient and high sensitive electrochemical nitrite sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 266, 873–882.

418. Mao, S.Y. Lien, T.F. (2017). Effects of nanosized zinc oxide and  $\gamma$ -polyglutamic acid on eggshell quality and serum parameters of aged laying hens. *Archives of animal nutrition*, 71(5), 373–383.

419. March, C. J., Mosley, B., Larsen, A., Cerretti, D. P., Braedt, G., Price, V., ... & Conlon, P. J. (1985). Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature*, 315(6021), 641–647.

420. Marchiol, L. (2018). Nanotechnology in agriculture: new opportunities and perspectives. *New Visions Plant Sci*, 9, 121.

421. Marković, R., Glišić, M., Bošković, M., & Baltić, M. Ž. (2017). New scientific challenges-the possibilities of using selenium in poultry nutrition and impact on meat quality. In 59th International Meat Industry Conference (MEATCON2017), 85, UNSP-012032.

422. Mathew, S. T., & Hammarsten, O. (2016). Multiple Modes of Nrf2 Regulation and Transcriptional. A Master Regulator of Oxidative Stress The Transcription Factor Nrf2, 249.

423. Mayahi, M., Razi-Jalali, M., & Kiani, R. (2010). Effects of dietary probiotic supplementation on promoting performance and serum cholesterol and triglyceride levels in broiler chicks. *African Journal of Biotechnology*, 9(43), 7383–7387.

424. McClements, D. J., DeLoid, G., Pyrgiotakis, G., Shatkin, J. A., Xiao, H., & Demokritou, P. (2016). The role of the food matrix and gastrointestinal tract in the



assessment of biological properties of ingested engineered nanomaterials (iENMs): State of the science and knowledge gaps. *NanoImpact*, 3, 47–57.

425. McCord, J. M., Keele, B. B., & Fridovich, I. (1971). An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(5), 1024–1027.

426. McMahon, M., Thomas, N., Itoh, K., Yamamoto, M., & Hayes, J. D. (2006). Dimerization of substrate adaptors can facilitate cullin-mediated ubiquitylation of proteins by a “Tethering” mechanism a two-site interaction model for the Nrf2-Keap1 complex. *Journal of Biological Chemistry*, 281(34), 24756–24768.

427. Mehdi, Y., Hornick, J. L., Istasse, L., & Dufrasne, I. (2013). Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules*, 18(3), 3292–3311.

428. Mekkawy, A. I., El-Mokhtar, M. A., Nafady, N. A., Yousef, N., Hamad, M. A., El-Shanawany, S. M., Ibrahim, E. H., & Elsabahy, M. (2017). *In vitro* and *in vivo* evaluation of biologically synthesized silver nanoparticles for topical applications: effect of surface coating and loading into hydrogels. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 759.

429. Melchionna, M., Trovarelli, A., & Fornasiero, P. (2020). Synthesis and properties of cerium oxide-based materials. In *Cerium Oxide (CeO<sub>2</sub>): Synthesis, Properties and Applications* (pp. 13–43). Elsevier.

430. Melini, F., & Melini, V. (2021). Impact of Fermentation on Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Quinoa. *Fermentation*, 7(1), 20.

431. Mesbahi-Nowrouzi, M., & Mollania, N. (2018). Purification of selenate reductase from *Alcaligenes* sp. CKCr-6A with the ability to biosynthesis of selenium nanoparticle: Enzymatic behavior study in imidazolium based ionic liquids and organic solvent. *Journal of Molecular Liquids*, 249, 1254–1262.

432. Mirfendereski, E., Jahanian, R. (2015). Effects of dietary organic chromium and vitamin C supplementation on performance, immune responses, blood metabolites, and stress status of laying hens subjected to high stocking density. *Poult. Sci.*, 94, 281–288.

433. Mishra, P. M., Sundaray, L., Naik, G. K., & Parida, K. M. (2014).

Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Cinnamomum tamala* leaves: optimization of process variables. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 6(5), 409–414.

434. Misra S., Kwong R. W., Niyogi S. (2012). Transport of selenium across the plasma membrane of primary hepatocytes and enterocytes of rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 215: 1491–1501.

435. Misra, B. B., Langefeld, C., Olivier, M., & Cox, L. A. (2019). Integrated omics: tools, advances and future approaches. *Journal of molecular endocrinology*, 62(1), R21–R45.

436. Mittal, A. K., Kumar, S., & Banerjee, U. C. (2014). Quercetin and gallic acid mediated synthesis of bimetallic (silver and selenium) nanoparticles and their antitumor and antimicrobial potential. *Journal of colloid and interface science*, 431, 194–199.

437. Miyazawa, T., Burdeos, G.C., Itaya, M., Nakagawa, K., Miyazawa, T. (2019). Vitamin E: Regulatory Redox Interactions. *Iubmb Life*, 71, 430–441.

438. Mohammadi, H., Farzinpour, A. Vaziry, A. (2017). Reproductive performance of breeder quails fed diets supplemented with L-cysteine-coated iron oxide nanoparticles. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(2), 298–304.

439. Mohanasrinivasan, V., Devi, C. S., Mehra, A., Prakash, S., Agarwal, A., Selvarajan, E., & Naine, S. J. (2018). Biosynthesis of MgO nanoparticles using *lactobacillus sp.* and its activity against human leukemia cell Lines HL-60. *BioNanoScience*, 8(1), 249–253.

440. Mohapatra, P., Swain, R.K., Mishra, S.K., Behera, T., Swain, P., Mishra, S.S., Behura, N.C., Sabat, S.C., Sethy, K., Dhama, K. Jayasankar, P. (2014). Effects of dietary nano-selenium on tissue selenium deposition, antioxidant status and immune functions in layer chicks. *Int J Pharmacol.*, 10(3), 160–167.

441. Mu, X., Wang, J., Li, Y., Xu, F., Long, W., Ouyang, L., Liu, Y., Jing, Y., Wang, J., Dai, H., Liu, Q., Sun, Y., Liu, C., & Zhang, X-D. (2019). Redox trimetallic nanozyme with neutral environment preference for brain injury. *ACS Nano*, 13(2), 1870–1884.

442. Mulliniks, J. T., & Adams, D. C. (2020). Evaluation of Level of Milk Potential on Nutrient Balance in 2-and 4-Year-Old May-Calving Range Cows Grazing Sandhills Upland Range.

443. Naim, M.M.; El-Shafei, A.A.; Elewa, M.M.; Moneer, A.A. (2016). Application of silver-, iron-, and chitosan-nanoparticles in wastewater treatment. Int. conference on Desalination for the Environment: Clean Water and Energy, 73, 268–280.

444. Naito, M., Yokoyama, T., Hosokawa, K., & Nogi, K. (Eds.). (2018). Nanoparticle Technology Handbook. Elsevier, 845.

445. Nancharaiah, Y. V., & Lens, P. N. L. (2015). Ecology and biotechnology of selenium-respiring bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 79(1), 61–80.

446. Nasiri, M., Sharifan, A., Ahari, H., Anvar, A. A., & Kakoolaki, S. (2019). Food-grade nanoemulsions and their fabrication methods to increase shelf life. *Food and Health*, 2(2), 37–45.

447. Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., Issaabadi, Z., & Sajjadi, M. (2019). Biological Sources Used in Green Nanotechnology. In *Interface Science and Technology*, 28, 81–111.

448. Navya, P. N., & Daima, H. K. (2016). Rational engineering of physicochemical properties of nanomaterials for biomedical applications with nanotoxicological perspectives. *Nano Convergence*, 3(1), 1–14.

449. Nayna, O. K., & Tareq, S. M. (2019). Application of semiconductor nanoparticles for removal of organic pollutants or dyes from wastewater. In *Nanotechnology in Water and Wastewater Treatment*, 267–290.

450. Nelson, J.R., McIntyre, D.R., Pavlidis, H.O., Archer, G.S. (2018). Reducing Stress Susceptibility of Broiler Chickens by Supplementing a Yeast Fermentation Product in the Feed or Drinking Water. *Animals*, 8, 10.

451. Nguyen, T., Sherratt, P. J., Huang, H. C., Yang, C. S., & Pickett, C. B. (2003). Increased protein stability as a mechanism that enhances Nrf2-mediated transcriptional activation of the antioxidant response element Degradation of Nrf2 by the 26 S proteasome. *Journal of Biological Chemistry*, 278(7), 4536–4541.

452. Nisha, S. N., Aysha, O. S., Rahaman, J. S. N., Kumar, P. V., Valli, S., Nirmala, P., & Reena, A. (2014). Lemon peels mediated synthesis of silver nanoparticles and its antidermatophytic activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 124, 194–198.

453. Nurfatihah, Z., & Siddiquee, S. (2019). Nanotechnology: Recent Trends in Food Safety, Quality and Market Analysis. In *Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food* (pp. 283–293). Springer, Cham.

454. O'Keefe S.J.D. (2008). Nutrition and colonic health: the critical role of the microbiota. There is strong evidence for the ability of diet to influence the colonic microbiota and cancer risk as measured by epithelial proliferation rate. *Current Opin Gastroenterol.* 24: 51–58.

455. Okuno, T., & Yokomizo, T. (2015). Basic techniques for lipid extraction from tissues and cells. In *Bioactive Lipid Mediators* (pp. 331-336). Springer, Tokyo.

456. Olgun, O. Yildiz, A.Ö. (2017). Effects of dietary supplementation of inorganic, organic or nano zinc forms on performance, eggshell quality, and bone characteristics in laying hens. *Annals of Animal Science*, 17(2), 463–476.

457. Oremland, R. S., Herbel, M. J., Blum, J. S., Langley, S., Beveridge, T. J., & Curran, S. (2004). Structural and spectral features of selenium nanospheres produced by Se-respiring bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(1), 52–60.

458. Orosz, S. E., & Echols, M. S. (2020). The urinary and osmoregulatory systems of birds. *Veterinary clinics: Exotic animal practice*, 23(1), 1–19.

459. Oudhia, A. (2012). UV-VIS spectroscopy as a nondestructive and effective characterization tool for II-VI compounds. *Recent Research in Science and Technology*, 4(8).

460. Ovais, M., Khalil, A. T., Raza, A., Islam, N. U., Ayaz, M., Saravanan, M., Ali, M., Ahmad, I., Shahid, M., & Shinwari, Z. K. (2018). Multifunctional theranostic applications of biocompatible green-synthesized colloidal nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(10), 4393–4408.

461. Ovais, M., Zia, N., Ahmad, I., Khalil, A. T., Raza, A., Ayaz, M., Sadiq, A., Ullah, F., & Shinwari, Z. K. (2018). Phyto-therapeutic and nanomedicinal approaches to cure alzheimer's disease: present status and future opportunities. *Frontiers in aging*

neuroscience, 10.

462. Overschelde, O. V., Guisbiers, G., & Snyders, R. (2013). Green synthesis of selenium nanoparticles by excimer pulsed laser ablation in water. *APL Materials* 1, 042114.

463. Pacitti, D., Wang, T., Martin, S. A. M., Sweetman, J., & Secombes, C. J. (2014). Insights into the fish thioredoxin system: Expression profile of thioredoxin and thioredoxin reductase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during infection and *in vitro* stimulation. *Developmental & Comparative Immunology*, 42(2), 261–277.

464. Padmanabhan, B., Tong, K. I., Kobayashi, A., Yamamoto, M., & Yokoyama, S. (2008). Structural insights into the similar modes of Nrf2 transcription factor recognition by the cytoplasmic repressor Keap1. *Journal of synchrotron radiation*, 15(3), 273–276.

465. Paige, A., MacCracken, V., Theodorakis, C., & Lin, Z. Q. (2015). Microbial accumulation and transformation of nanoscale elemental selenium particles. *Journal of Environmental Indicators*, 9, 23–24.

466. Pal, G., Rai, P., & Pandey, A. (2019). Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, 1–26.

467. Palomo-Siguero, M., & Madrid, Y. (2017). Exploring the behavior and metabolic transformations of SeNPs in exposed lactic acid bacteria. Effect of nanoparticles coating agent. *International journal of molecular sciences*, 18(8), 1712.

468. Panieri, E., Buha, A., Telkoparan-Akillilar, P., Cevik, D., Kouretas, D., Veskokoukis, A., Skaperda, Z., Tsatsakis, A., Wallace, D., Suzen, S., & Saso, L. (2020). Potential applications of NRF2 modulators in cancer therapy. *Antioxidants*, 9(3), 193.

469. Panieri, E., Telkoparan-Akillilar, P., Suzen, S., & Saso, L. (2020). The NRF2/KEAP1 Axis in the Regulation of Tumor Metabolism: Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Biomolecules*, 10(5), 791.

470. Panieri, E.; Saso, L. (2019). Potential Applications of NRF2 Inhibitors in Cancer Therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev*, 2019, 8592348.

471. Pantidos, N. & Horsfall, L. E. (2014). Biological synthesis of metallic

nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 5(5), 233–242.

472. Pantopoulos K, Schipper HM (2012). Principles of free radical biomedicine. Nova Science Publications, Hauppauge, 660.

473. Parada, J., Rubilar, O., Diez, M. C., Cea, M., da Silva, A. S. A., Rodríguez-Rodríguez, C. E., & Tortella, G. R. (2019). Combined pollution of copper nanoparticles and atrazine in soil: effects on dissipation of the pesticide and on microbiological community profiles. *Journal of Hazardous Materials*, 361, 228–236.

474. Parasassi T., Giusti A.M., Raimondi M., Ravagnan G., Sapora O., Gratton E. (2005). Cholesterol protects the phospholipid bilayer from oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med*, 19(4), 511–516.

475. Parra-Robert, M., Casals, E., Massana, N., Zeng, M., Perramón, M., Fernández-Varo, G., Morales-Ruiz, M., Puentes, V., & Casals, G. (2019). Beyond the Scavenging of Reactive Oxygen Species (ROS): Direct effect of cerium oxide nanoparticles in reducing fatty acids content in an *In vitro* Model of Hepatocellular Steatosis. *Biomolecules*, 9(9), 425.

476. Patanjali, P., Singh, R., Kumar, A., & Chaudhary, P. (2019). Nanotechnology for water treatment: A green approach. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, 485–512.

477. Patel, A., Patra, F., Shah, N., & Khedkar, C. (2018). Application of nanotechnology in the food industry: present status and future prospects. In *Impact of Nanoscience in the Food Industry* (pp. 1–27).

478. Patel, R. P., Shah, P., Barve, K., Patel, N., & Gandhi, J. (2019). Peyer's Patch: Targeted Drug Delivery for Therapeutics Benefits. In *Novel Drug Delivery Technologies* (pp. 121–149). Springer, Singapore.

479. Peng, D., Zhang, J., Liu, Q. Taylor, E.W. (2007). Size effect of elemental selenium nanoparticles (Nano-Se) at supranutritional levels on selenium accumulation and glutathione S-transferase activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101(10), 1457–1463.

480. Pereira, R., Bortoluzzi, C., Durrer, A., Fagundes, N.S., Pedroso, A.A. (2019). Performance and intestinal microbiota of chickens receiving probiotic in the feed and submitted to antibiotic therapy. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 103, 72–86.
481. Piacenza, E., Presentato, A., Zonaro, E., Lemire, J. A., Demeter, M., Vallini, G., ... & Lampis, S. (2017). Antimicrobial activity of biogenically produced spherical Se-nanomaterials embedded in organic material against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains on hydroxyapatite-coated surfaces. *Microbial biotechnology*, 10(4), 804–818.
482. Placha, I., Takacova, J., Ryzner, M., Cobanova, K., Laukova, A., Stropfova, V., ... & Faix, S. (2014). Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. *Br. Poult. Sci.*, 55, 105–114.
483. Pouri, S., Motamedi, H., Honary, S., & Kazeminezhad, I. (2017). Biological Synthesis of Selenium Nanoparticles and Evaluation of their Bioavailability. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60.
484. Prajitha, N., Athira, S. S., & Mohanan, P. V. (2019). Bio-interactions and risks of engineered nanoparticles. *Environmental research*.
485. Prasad, K. S., & Selvaraj, K. (2014). Biogenic synthesis of selenium nanoparticles and their effect on As (III)-induced toxicity on human lymphocytes. *Biological trace element research*, 157(3), 275–283.
486. Premi, M., & Bansal, V. (2021). Nutraceuticals for Management of Metabolic Disorders. In *Treating Endocrine and Metabolic Disorders With Herbal Medicines* (pp. 298–320). IGI Global.
487. Presentato, A., Piacenza, E., Anikovskiy, M., Cappelletti, M., Zannoni, D., & Turner, R. J. (2018). Biosynthesis of selenium-nanoparticles and-nanorods as a product of selenite bioconversion by the aerobic bacterium *Rhodococcus aetherivorans BCP1*. *New biotechnology*, 41, 1–8.
488. Qiao, L., Dou, X., Yan, S., Zhang, B., & Xu, C. (2020). Biogenic selenium nanoparticles synthesized by *Lactobacillus casei* ATCC 393 alleviate diquat-induced intestinal barrier dysfunction in C57BL/6 mice through their antioxidant activity. *Food & Function*, 11(4), 3020–3031.

489. Qiao, L., Dou, X., Yan, S., Zhang, B., & Xu, C. (2020). Biogenic selenium nanoparticles synthesized by *Lactobacillus casei* ATCC 393 alleviate diquat-induced intestinal barrier dysfunction in C57BL/6 mice through their antioxidant activity. *Food & Function*, 11(4), 3020–3031.
490. Rad, M., Taran, M., & Alavi, M. (2018). Effect of incubation time,  $\text{CuSO}_4$  and glucose concentrations on biosynthesis of copper oxide (CuO) nanoparticles with rectangular shape and antibacterial activity: Taguchi method approach. *Nano Biomedicine and Engineering*, 10(1), 25–33.
491. Ragavan, K. V., & Neethirajan, S. (2019). Nanoparticles as Biosensors for Food Quality and Safety Assessment. In *Nanomaterials for Food Applications* (pp. 147–202). Elsevier.
492. Rajabi, S., Ramazani, A., Hamidi, M., & Naji, T. (2015). *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(1), 20.
493. Rajendran, D., Thulasi, A., Jash, S., Selvaraju, S. Rao, S.B.N. (2013). Synthesis and application of nano minerals in livestock industry. *Animal Nutrition and Reproductive Physiology (Recent Concepts)*. Satish Serial Publishing House, Delhi, 517–530.
494. Rajeshkumar, S., Bharath, L. V. (2017). Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles—a review on biomolecules involved, characterisation and antibacterial activity. *Chem-Biol Interact*, 273:219–227.
495. Rajeshkumar, S., Ganesh, L., & Santhoshkumar, J. (2019). Selenium nanoparticles as therapeutic agents in neurodegenerative diseases. In *Nanobiotechnology in Neurodegenerative Diseases* (pp. 209–224). Springer, Cham.
496. Rajpoot, K., & Jain, S. K. (2020). Oral delivery of pH-responsive alginate microbeads incorporating folic acid-grafted solid lipid nanoparticles exhibits enhanced targeting effect against colorectal cancer: A dual-targeted approach. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 830–844.
497. Ramos, D. L., & Rech, V. C. (2020). The interaction between physical exercise and nanoscience: a systematic review. *Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas*, 20(3), 313-323.



498. Ramya, S., Shanmugasundaram, T., & Balagurunathan, R. (2015). Biomedical potential of actinobacterially synthesized selenium nanoparticles with special reference to anti-biofilm, anti-oxidant, wound healing, cytotoxic and anti-viral activities. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 32, 30–39.
499. Ramya, S., Shanmugasundaram, T., & Balagurunathan, R. (2020). Actinobacterial enzyme mediated synthesis of selenium nanoparticles for antibacterial, mosquito larvicidal and anthelmintic applications. *Particulate Science and Technology*, 38(1), 63–72.
500. Rattani, A., Derakhshani, R., & Ross, A. (Eds.). (2019). *Selfie Biometrics: Advances and Challenges*. Springer Nature.
501. Rauscher, H., Sokull-Klüttgen, B., & Stamm, H. (2012). The European Commission's recommendation on the definition of nanomaterial makes an impact. *Nanotoxicology*, 7, 1195–1197.
502. Rautela, A., Rani, J., & Das, M. D. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles from *Tectona grandis* seeds extract: characterization and mechanism of antimicrobial action on different microorganisms. *Journal of Analytical Science and Technology*, 10(1), 5.
503. Ravikumar S., Gokulakrishnan R. (2012). The Inhibitory Effect of Metal Oxide Nanoparticles against Poultry Pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(2), 157–159.
504. Rehman, Z.U., Che, L., Ren, S., Liao, Y., Qiu, X., Yu, S., Sun, Y., Tan, L., Song, C., Liu, W. (2018). Supplementation of Vitamin E Protects Chickens from Newcastle Disease Virus-Mediated Exacerbation of Intestinal Oxidative Stress and Tissue Damage. *Cell Physiol. Biochem.*, 2018, 47, 1655–1666.
505. Reitman, S., & Frankel, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American journal of clinical pathology*, 28(1), 56-63.
506. Ren, X., Zou, L., Zhang, X., Branco, V., Wang, J., Carvalho, C., Holmgren, A., Lu, J. (2017). Redox Signaling Mediated by Thioredoxin and Glutathione Systems in the Central Nervous System. *Antioxid. Redox Signal.* 2017, 27, 989–1010.
507. Reverberi, A.P.; Vocciante, M.; Lunghi, E.; Pietrelli, L.; Fabiano, B. (2017).

New trends in the synthesis of nanoparticles by green methods. *Chemical Engineering Transactions*, 61, 667–672.

508. Ribas, V.; García-Ruiz, C.; Fernández-Checa, J.C. (2014). Glutathione and mitochondria. *Front. Pharm.*, 5, 151.

509. Robledinos-Antón, N., Fernández-Ginés, R., Manda, G., & Cuadrado, A. (2019). Activators and Inhibitors of NRF2: A Review of Their Potential for Clinical Development. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 9372182.

510. Röhder, L. A., Brandt, T., Sigg, L., & Behra, R. (2014). Influence of agglomeration of cerium oxide nanoparticles and speciation of cerium (III) on short term effects to the green algae *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic toxicology*, 152, 121–130.

511. Roman'ko, M. Y. (2017). Biochemical markers of safety of nano-particles of metals on the model of isolated subcultural fractions of eukaryotes. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(4), 564–568.

512. Rong, Li & David, F. Albertini (2013). The road to maturation: somatic cell interaction and self-organization of the mammalian oocyte. *Nature reviews. Molecular cell biology* 14 (3): 141–152.

513. Roseline, T. A., Murugan, M., Sudhakar, M. P. & Arunkumar, K. (2019). Nanopesticidal potential of silver nanocomposites synthesized from the aqueous extracts of red seaweeds. *Environmental Technology and Innovation*, 13, 82–93.

514. Roudbaneh, S. Z. K., Kahbasi, S., Sohrabi, M. J., Hasan, A., Salihi, A., Mirzaie, A., Niyazmand, A., & Vaghar-Lahijani, G. (2019). Albumin binding, antioxidant and antibacterial effects of cerium oxide nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids*, 296, 111839.

515. Roy C.C., Kien C.L., Bouthillier L., Levy E. (2006). Short chain fatty acids: ready for prime time? *Nutr. Clin. Pract.*, 21, 351–366.

516. Ryu, J. Y., Kang, H. R., & Cho, S. K. (2019). Changes over the fermentation period in phenolic compounds and antioxidant and anticancer activities of blueberries fermented by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of food science*, 84(8), 2347–2356.

517. Saadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y., & Gargari, B. P. (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate polymers*, 217, 79–89.
518. Saadi, A., Dalir-Naghadeh, B., Asri-Rezaei, S., & Anassori, E. (2020). Platelet Selenium Indices as Useful Diagnostic Surrogate for Assessment of Selenium Status in Lambs: an Experimental Comparative Study on the Efficacy of Sodium Selenite vs. Selenium Nanoparticles. *Biological Trace Element Research*, 194(2), 401–409.
519. Saini, D., Fazil, M., Ali, M. M., Baboota, S., Ameerduzzafar, & Ali, J. (2015). Formulation, development and optimization of raloxifene-loaded chitosan nanoparticles for treatment of osteoporosis. *Drug delivery*, 22(6), 823–836.
520. Saini, K., Tomar, S.K., Sangwan, V., Bhushan, B. (2014). Evaluation of lactobacilli from human sources for uptake and accumulation of selenium. *Biol. Trace Elem. Res*, 160, 433–436.
521. Salah-Eldin, T.A., Hamady, G.A.A., Abdel-Moneim, M.A., Farroh, K.Y. El-Reffaei, W.H.M. (2015). Nutritional evaluation of Selenium-methionine nanocomposite as a novel dietary supplement for laying hens. *J. Anim. Health Prod*, 3(3), 64–72.
522. Saleh, A. A. (2014). Effect of dietary mixture of *Aspergillus* probiotic and selenium nano-particles on growth, nutrient digestibilities, selected blood parameters and muscle fatty acid profile in broiler chickens. *Anim Sci Pap Rep*, 32, 65–79.
523. Samant, R. S., Livingston, C. M., Sontag, E. M., and Frydman, J. (2018). Distinct proteostasis circuits co-operate in nuclear and cytoplasmic protein quality control. *Nature* 563, 407–411.
524. San Diego, K. D., Alindayu, J. I. A., & Baculi, R. Q. (2019). Biosynthesis of gold nanoparticles by bacteria from hyperalkaline spring and evaluation of their inhibitory activity against pyocyanin production. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2019, 781–787.
525. Sanjay, S. S. (2019). Safe nano is green nano. *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*, 27–36.
526. Santhoshkumar, J., Rajeshkumar, S., & Kumar, S. V. (2017). Phyto-assisted

synthesis, characterization and applications of gold nanoparticles—A review. *Biochemistry and biophysics reports*, 11, 46–57.

527. Santos, C. A., Ingle, A. P., & Rai, M. (2020). The emerging role of metallic nanoparticles in food. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(6), 2373–2383.

528. Saranya, K., Kalaiyarasan, M., & Rajendran, N. (2019). Selenium conversion coating on AZ31 Mg alloy: A solution for improved corrosion rate and enhanced bio-adaptability. *Surface and Coatings Technology*, 378, 124902.

529. Saravanakumar, K., Chelliah, R., Shanmugam, S., Varukattu, N. B., Oh, D. H., Kathiresan, K., & Wang, M. H. (2018). Green synthesis and characterization of biologically active nanosilver from seed extract of *Gardenia jasminoides* Ellis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*.

530. Sardar, M. & Mazumder, J. A. (2019). Biomolecules Assisted Synthesis of Metal Nanoparticles. In *Environmental Nanotechnology* (pp. 1–23). Springer, Cham.

531. Sargent, M. G. (1975). Control of cell length in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 123(1), 7–19.

532. Sarkar, B., Bhattacharjee, S., Daware, A., Tribedi, P., Krishnani, K. K., & Minhas, P. S. (2015). Selenium nanoparticles for stress-resilient fish and livestock. *Nanoscale research letters*, 10(1), 371.

533. Sarnatskaya, V., Shlapa, Y., Yushko, L., Shton, I., Solopan, S., Ostrovska, G., Kalachniuk, L., & Khudenko, N. (2020). Biological activity of cerium dioxide nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 108(8), 1703–1712.

534. Sasidharan, S., & Balakrishnaraja, R. (2014). Comparison studies on the synthesis of selenium nanoparticles by various microorganisms. *Int J Pure App Biosci*, 2(1), 112–117.

535. Sawangrat, K., Yamashita, S., Tanaka, A., Morishita, M., Kusamori, K., Katsumi, H., ... & Yamamoto, A. (2019). Modulation of intestinal transport and absorption of topotecan, a BCRP substrate, by various pharmaceutical excipients and their inhibitory mechanisms of BCRP transporter. *Journal of pharmaceutical sciences*, 108(3), 1315–1325.

536. Schlüter, M., Hentzel, T., Suarez, C., Koch, M., Lorenz, W. G., Böhm, L., Düring, R. A., Koinig, K. A., & Bunge, M. (2014). Synthesis of novel palladium (0)

nanocatalysts by microorganisms from heavy-metal-influenced high-alpine sites for dehalogenation of polychlorinated dioxins. *Chemosphere*, 117, 462–470.

537. Schomburg, L. (2019). The other view: the trace element selenium as a micronutrient in thyroid disease, diabetes, and beyond. *Hormones*, 1–10.

538. Schrauzer, G. N. (2003). The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Advances in food and nutrition research*, 47, 73–112.

539. Schwabe, F., Schulin, R., Rupper, P., Rotzetter, A., Stark, W., & Nowack, B. (2014). Dissolution and transformation of cerium oxide nanoparticles in plant growth media. *Journal of nanoparticle research*, 16(10), 2668.

540. Schwabe, F., Tanner, S., Schulin, R., Rotzetter, A., Stark, W., Von Quadt, A., & Nowack, B. (2015). Dissolved cerium contributes to uptake of Ce in the presence of differently sized CeO<sub>2</sub>-nanoparticles by three crop plants. *Metallomics*, 7(3), 466–477.

541. Scirè, S., & Palmisano, L. (2020). Cerium and cerium oxide: A brief introduction. In *Cerium Oxide (CeO<sub>2</sub>): Synthesis, Properties and Applications* (pp. 1–12). Elsevier.

542. Seifan, M., Ebrahiminezhad, A., Ghasemi, Y., Samani, A. K., & Berenjian, A. (2018). The role of magnetic iron oxide nanoparticles in the bacterially induced calcium carbonate precipitation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(8), 3595–3606.

543. Selim, N. A., Radwan, N. L., Youssef, S. F., Eldin, T. S., & Elwafa, S. A. (2015). Effect of inclusion inorganic, organic or nano selenium forms in broiler diets on: 2-Physiological, immunological and toxicity statuses of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, 14(3), 144–155.

544. Selvarajan, E., & Mohanasrinivasan, V. (2013). Biosynthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Lactobacillus plantarum* VITES07. *Materials Letters*, 112, 180–182.

545. Senthil Kumaran, C. K., Sugapriya, S., Manivannan, N., & Chandar Shekar, B. (2015). Effect on the growth performance of broiler chickens by selenium nanoparticles supplementation. *Nano Vision*, 5(4–6), 161–168.

546. Shabani, R., Fakhraei, J., Yarahmadi, H. M., & Seidavi, A. (2019). Effect of different sources of selenium on performance and characteristics of immune system of broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48.

547. Shah, A. A., Qian, C., Wu, J., Liu, Z., Khan, S., Tao, Z., ... & Zhong, X. (2020). Effects of natamycin and *Lactobacillus plantarum* on the chemical composition, microbial community, and aerobic stability of Hybrid pennisetum at different temperatures. *RSC Advances*, 10(15), 8692–8702.

548. Shah, A. A., Qian, C., Wu, J., Liu, Z., Khan, S., Tao, Z., ... & Zhong, X. (2020). Effects of natamycin and *Lactobacillus plantarum* on the chemical composition, microbial community, and aerobic stability of Hybrid pennisetum at different temperatures. *RSC Advances*, 10(15), 8692–8702.

549. Shah, J. H., Fiaz, M., Athar, M., Ali, J., Rubab, M., Mehmood, R., Jamil, S.U.U, & Djellabi, R. (2019). Facile synthesis of N/B-double-doped  $Mn_2O_3$  and  $WO_3$  nanoparticles for dye degradation under visible light. *Environmental Technology*, 1–10.

550. Shah, S. Z. A., Zhao, D., Hussain, T., Sabir, N., Mangi, M. H., & Yang, L. (2018). p62-Keap1-NRF2-ARE pathway: a contentious player for selective targeting of autophagy, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in prion diseases. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 310.

551. Shakibaie, M., Amiri-Moghadam, P., Ghazanfari, M., Adeli-Sardou, M., Jafari, M., & Forootanfar, H. (2018). Cytotoxic and antioxidant activity of the biogenic bismuth nanoparticles produced by *Delftia sp.* SFG. *Materials Research Bulletin*, 104, 155–163.

552. Shakibaie, M., Jafari, M., Ameri, A., Rahimi, H. R., & Forootanfar, H. (2018). Biosynthesis and Physicochemical Characterization, and Cytotoxic Evaluation of Selenium Nanoparticles Produced by *Streptomyces Lavendulae* FSHJ9 Against MCF-7 Cell Line. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 17(7), 625–638.

553. Shankar, S., Soni, S. K., Daima, H. K., Selvakannan, P. R., Khire, J. M., Bhargava, S. K., & Bansal, V. (2015). Charge-switchable gold nanoparticles for enhanced enzymatic thermostability. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17(33),

21517–21524.

554. Sharma, D., Kanchi, S., & Bisetty, K. (2019). Biogenic synthesis of nanoparticles: A review. *Arabian journal of chemistry*, 12(8), 3576–3600.

555. Sharma, K. D. (2017). Antifungal activity of biogenic platinum nanoparticles: an *in vitro* study. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(4), 334–340.

556. Sharma, V. K., McDonald, T. J., Sohn, M., Anquandah, G. A., Pettine, M., & Zboril, R. (2017). Assessment of toxicity of selenium and cadmium selenium quantum dots: A review. *Chemosphere*, 188, 403–413.

557. Shcherbakov, A. B., Zholobak, N. M., & Ivanov, V. K. (2020). Biological, biomedical and pharmaceutical applications of cerium oxide. In *Cerium Oxide (CeO<sub>2</sub>): Synthesis, Properties and Applications* (pp. 279–358). Elsevier.

558. Shin, J. M., Lee, K. M., Lee, H. J., Yun, J. H., & Nho, C. W. (2019). Physalin A regulates the Nrf2 pathway through ERK and p38 for induction of detoxifying enzymes. *BMC complementary and alternative medicine*, 19(1), 101.

559. Shirsat, S., Kadam, A., Naushad, M., & Mane, R. S. (2015). Selenium nanostructures: microbial synthesis and applications. *Rsc Advances*, 5(112), 92799–92811.

560. Shoeibi, S., & Mashreghi, M. (2017). Biosynthesis of selenium nanoparticles using *Enterococcus faecalis* and evaluation of their antibacterial activities. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 39, 135–139.

561. Shokraneh, M., Sadeghi, A. A., Mousavi, S. N., Esmailkhanian, S., & Chamani, M. (2020). Effects of *in ovo* injection of nano-selenium and nano-zinc oxide and high eggshell temperature during late incubation on antioxidant activity, thyroid and glucocorticoid hormones and some blood metabolites in broiler hatchlings. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 42.

562. Siddiqi, K. S., Husen, A., & Rao, R. A. (2018). A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 14.

563. Sies, H. Oxidative Stress: Eustress and Distress in Redox Homeostasis. In *Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology*; Fink, G., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2019; pp. 153–163.

564. Sims, C. M., Hanna, S. K., Heller, D. A., Horoszko, C. P., Johnson, M. E., Bustos, A.R. M., Reipa, V., Riley, K. R., & Nelson, B. C. (2017). Redox-active nanomaterials for nanomedicine applications. *Nanoscale*, 9(40), 15226–15251.

565. Singh, D., & Singh, M. (2021). Hepatocellular-targeted mRNA delivery using functionalized selenium nanoparticles in vitro. *Pharmaceutics*, 13(3), 298.

566. Singh, J., Dutta, T., Kim, K. H., Rawat, M., Samddar, P., & Kumar, P. (2018). ‘Green’ synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 84.

567. Singh, J., Vishwakarma, K., Ramawat, N., Rai, P., Singh, V. K., Mishra, R. K., ... And Sharma, S. (2019). Nanomaterials and microbes’ interactions: a contemporary overview. *3 Biotech*, 9(3), 68.

568. Singh, O. V. (Ed.). (2015). *Bio-nanoparticles: biosynthesis and sustainable biotechnological implications*. John Wiley & Sons., 155–187.

569. Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 34(7), 588–599.

570. Singh, S., Dosani, T., Karakoti, A. S., Kumar, A., Seal, S., & Self, W. T. (2011). A phosphate-dependent shift in redox state of cerium oxide nanoparticles and its effects on catalytic properties. *Biomaterials*, 32(28), 6745–6753.

571. Singh, S., Kumar, V., Romero, R., Sharma, K., & Singh, J. (2019). Applications of nanoparticles in wastewater treatment. In *Nanobiotechnology in Bioformulations*, 395–418. Springer, Cham.

572. Singh, V. K., & Singh, A. K. (2019). Role of microbially synthesized nanoparticles in sustainable agriculture and environmental management. In *Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology*, 55–73. Woodhead Publishing.



573. Singh, V. K., Chaudhary, S. S., Manat, T. D., & Singh, R. R. (2019). Effect of supplementation of different yeast forms on rumen fermentation characteristics and microbial profile in postpartum Surti buffaloes. *IJCS*, 7(5), 189–193.

574. Skalickova S, Milosavljevic V, Cihalova K, Horoky P, Richtera L, Adam V. Selenium nanoparticles as a nutritional supplement. *Nutrition*. 2017;33:83–90.

575. Śliżewska, K., Cukrowska, B., Smulikowska, S., & Cielecka-Kuszyk, J. (2019). The effect of probiotic supplementation on performance and the histopathological changes in liver and kidneys in broiler chickens fed diets with Aflatoxin B1. *Toxins*, 11(2), 112.

576. Soleimani, A.F.; Zulkifli, I.; Omar, A.R.; Raha, A.R. (2011). Physiological responses of 3 chicken breeds to acute heat stress. *Poult. Sci.*, 90, 1435–1440.

577. Sonawane, S. K., Patil, S. P., & Arya, S. S. (2021). Nanotechnology enrolment in Food and food safety. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 893–900.

578. Song, D., Cheng, Y., Li, X., Wang, F., Lu, Z., Xiao, X., & Wang, Y. (2017). Biogenic nanoselenium particles effectively attenuate oxidative stress-induced intestinal epithelial barrier injury by activating the Nrf2 antioxidant pathway. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(17), 14724–14740.

579. Song, D., Li, X., Cheng, Y., Xiao, X., Lu, Z., Wang, Y., & Wang, F. (2017). Aerobic biogenesis of selenium nanoparticles by *Enterobacter cloacae* Z0206 as a consequence of fumarate reductase mediated selenite reduction. *Scientific reports*, 7(1), 1–10.

580. Sonkusre, P. (2020). Specificity of Biogenic Selenium Nanoparticles for Prostate Cancer Therapy With Reduced Risk of Toxicity: An *in vitro* and *in vivo* Study. *Frontiers in Oncology*, 9, 1541.

581. Sonkusre, P., & Cameotra, S. S. (2017). Biogenic selenium nanoparticles induce ROS-mediated necroptosis in PC-3 cancer cells through TNF activation. *Journal of nanobiotechnology*, 15(1), 43.

582. Sonkusre, P., Nanduri, R., Gupta, P., & Cameotra, S. S. (2014). Improved extraction of intracellular biogenic selenium nanoparticles and their specificity for cancer chemoprevention. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 5(2), 1.

583. Sowndarya, P., Ramkumar, G., & Shivakumar, M. S. (2017). Green synthesis of selenium nanoparticles conjugated *Clausena dentata* plant leaf extract and their insecticidal potential against mosquito vectors. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(8), 1490–1495.

584. Srivastava, N., & Mukhopadhyay, M. (2015). Green synthesis and structural characterization of selenium nanoparticles and assessment of their antimicrobial property. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38(9), 1723–1730.

585. Stadtman, T. C. (1974). Selenium Biochemistry: Proteins containing selenium are essential components of certain bacterial and mammalian enzyme systems. *Science*, 183(4128), 915–922.

586. Starovoitova, S. A., Babenko, L. P., Timoshok, N. A., Shynkarenko, L. N., Lazarenko, L. N., & Spivak, N. Y. (2012). Cholesterol-lowering activity of lactic acid bacteria probiotic strains *in vivo*. *Microbiologichny zhurnal*, 74 (3), 78–85.

587. Staurengo-Ferrari, L., Badaro-Garcia, S., Hohmann, M. S., Manchope, M. F., Zaninelli, T. H., Casagrande, R., & Verri, Jr. W. A. (2019). Contribution of Nrf2 modulation to the mechanism of action of analgesic and anti-inflammatory drugs in pre-clinical and clinical stages. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1536.

588. Stevanović, M., Filipović, N., Djurdjević, J., Lukić, M., & Boccaccini, A. (2015). 45S5Bioglass®-based scaffolds coated with selenium nanoparticles or with poly (lactide-co-glycolide)/selenium particles: processing, evaluation and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 132, 208–215.

589. Stoller, M., Di Palma, L., Vuppala, S., Verdone, N., & Vilaridi, G. (2018). Process intensification techniques for the production of nano-and submicronic particles for food and medical applications. *Current Pharmaceutical Design*, 24(21), 2329–2338.

590. Stolz, J. F., & Oremland, R. S. (1999). Bacterial respiration of arsenic and selenium. *FEMS microbiology reviews*, 23(5), 615–627.

591. Stolz, J. F., Basu, P., Santini, J. M., & Oremland, R. S. (2006). Arsenic and selenium in microbial metabolism. *Annu. Rev. Microbiol.*, 60, 107–130.

592. Su, X. Y., Liu, P. D., Wu, H., & Gu, N. (2014). Enhancement of radiosensitization by metal-based nanoparticles in cancer radiation therapy. *Cancer*

biology & medicine, 11(2), 86.–91.

593. Sun, D., & Setlow, P. (1993). Cloning, nucleotide sequence, and regulation of the *Bacillus subtilis* nadB gene and a nifS-like gene, both of which are essential for NAD biosynthesis. *Journal of bacteriology*, 175(5), 1423–1432.

594. Surai, P. F., & Fisinin, V. I. (2016). Vitagenes in poultry production: Part 1. Technological and environmental stresses. *World's Poultry Science Journal*, 72(4), 721–734.

595. Surai, P. F., & Fisinin, V. I. (2016). Vitagenes in poultry production: Part 2. Nutritional and internal stresses. *World's Poultry Science Journal*, 72(4), 761–772.

596. Surai, P. F., Kochish, I. I., Fisinin, V. I., & Kidd, M. T. (2019). Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants*, 8(7), 235.

597. Surai, P.F, Kochish, I.I., Fisinin, V.I. (2018). Glutathione peroxidases in poultry biology: Part 1. Classification and mechanisms of action. *Worlds Poult. Sci. J.*, 73, 185–197.

598. Surai, P.F. (2016). Antioxidant systems in Poultry Biology: Superoxide dismutase. *Anim. Nutr.*, 1, 8.

599. Surai, P.F. (2018). *Selenium in Poultry Nutrition and Health*; Wageningen Academic Publishers: Wageningen, The Netherlands.

600. Surai, P.F., Kochish, I.I. Velichko, O.A. (2017). Nano-Se Assimilation and Action in Poultry and Other Monogastric Animals: Is Gut Microbiota an Answer? *Nanoscale research letters*, 12(1), 612.

601. Surai, P.F., Kochish, I.I., Fisinin, V.I. (2018). Glutathione peroxidases in poultry biology: Part 2. Modulation of enzymatic activities. *Worlds Poult. Sci. J.*, 73, 239–250.

602. Taguchi, K., & Yamamoto, M. (2017). The KEAP1–NRF2 system in cancer. *Frontiers in oncology*, 7, 85.

603. Tan, Y., Yao, R., Wang, R., Wang, D., Wang, G., & Zheng, S. (2016). Reduction of selenite to Se (0) nanoparticles by filamentous bacterium *Streptomyces* sp. ES2-5 isolated from a selenium mining soil. *Microbial cell factories*, 15(1), 157.

604. Tao, Y., Xie, S., Xu, F., Liu, A., Wang, Y., Chen, D., Pan, Y., Huang, L., Peng, D., Wang, X., (2018). Ochratoxin A: Toxicity, oxidative stress and metabolism. *Food Chem. Toxicol.*, 112, 320–331.
605. Taran, M., Rad, M., & Alavi, M. (2017). Antibacterial activity of copper oxide (CuO) nanoparticles biosynthesized by *Bacillus sp.* FU4: Optimization of experiment design. *pharmaceutical sciences*, 23(3), 198–206.
606. Taskin, E., Kindap, E. K., Ozdogan, K., Aycan, M. B. Y., & Dursun, N. (2016). Acute adriamycin-induced cardiotoxicity is exacerbated by angiotension II. *Cytotechnology*, 68(1), 33–43.
607. Thakur, S., Thakur, S. & Kumar, R. (2018). Bio-nanotechnology and its role in agriculture and food industry. *J Mol Genet Med*, 12(324), 1747–0862.
608. Thill, A., Zeyons, O., Spalla, O., Chauvat, F., Rose, J., Auffan, M., & Flank, A. M. (2006). Cytotoxicity of CeO<sub>2</sub> nanoparticles for *Escherichia coli*. Physico-chemical insight of the cytotoxicity mechanism. *Environmental science & technology*, 40(19), 6151–6156.
609. Thiry C., Ruttens A., Pussemier L., Schneider Y. J. (2013). An *in vitro* investigation of species-dependent intestinal transport of selenium and the impact of this process on selenium bioavailability. *Br. J. Nutr.* 109: 2126–2134.
610. Thomas, B., Vithiya, B., Prasad, T., Mohamed, S. B., Magdalane, C. M., Kaviyarasu, K. & Maaza, M. (2019). Antioxidant and Photocatalytic Activity of Aqueous Leaf Extract Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Passiflora edulis f. flavicarpa*. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 19(5), 2640–2648.
611. Thorley, A. J., & Tetley, T. D. (2013). New perspectives in nanomedicine. *Pharmacology & therapeutics*, 140(2), 176–185.
612. Tian, W., De La Vega, M. R., Schmidlin, C. J., Ooi, A., & Zhang, D. D. (2018). Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP1) differentially regulates nuclear factor erythroid-2-related factors 1 and 2 (NRF1 and NRF2). *Journal of Biological Chemistry*, 293(6), 2029–2040.
613. Titus, D., Samuel, E. J. J., & Roopan, S. M. (2019). Nanoparticle characterization techniques. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of*

Nanoparticles, 303–319.

614. Tomer, A. K., Rahi, T., Neelam, D. K., & Dadheech, P. K. (2019). Cyanobacterial extract-mediated synthesis of silver nanoparticles and their application in ammonia sensing. *International Microbiology*, 22(1), 49–58.

615. Tonelli, C., Chio, I. I. C., & Tuveson, D. A. (2018). Transcriptional regulation by Nrf2. *Antioxidants & redox signaling*, 29(17), 1727–1745.

616. Tong, K. I., Katoh, Y., Kusunoki, H., Itoh, K., Tanaka, T., & Yamamoto, M. (2006). Keap1 recruits Neh2 through binding to ETGE and DLG motifs: characterization of the two-site molecular recognition model. *Molecular and cellular biology*, 26(8), 2887–2900.

617. Tong, K. I., Padmanabhan, B., Kobayashi, A., Shang, C., Hirotsu, Y., Yokoyama, S., & Yamamoto, M. (2007). Different electrostatic potentials define ETGE and DLG motifs as hinge and latch in oxidative stress response. *Molecular and cellular biology*, 27(21), 7511–7521.

618. Tsekhmistrenko O. (2014). Lipid peroxidation in poultry organism. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. Зб. наук. праць, 1, 73–76.

619. Tsekhmistrenko, O. S., Bityutsky, V. S., Tsekhmistrenko, S. I., Spivak, M. Y. (2020). Influence of cerium dioxide nanoparticles on biochemical indicators in the organism of broiler chicken. *Veterinary science, technologies of animal husbandry and nature management*, 6, 112–117.

620. Tsekhmistrenko, O., Tsekhmistrenko, S., Bityutsky, V. (2019). Nanoscale cerium dioxide as a mimetic of antioxidant protection enzymes. *Multidisciplinary conference For young researchers (22 November 2019)*, 68–71.

621. Tsekhmistrenko, O., Tymoshok, N., Bityutsky, V., Lazarenko, L., Kryvtsova, M. (2020). Biosynthesis of selenium nanoparticles by lactobacteria and selenium supplementation on japanese quail broilers. XLVIII. Fiatal tudósok tudományos konferenciájára, melynek lebonyolítására online formában kerül sor, 23.

622. Tsekhmistrenko, O.S., Bityutsky, V.S., Tsekhmistrenko, S.I., Kharchyshyn, V.M., Tymoshok, N.O., Spivak, M.Ya. (2020). Efficiency of application of inorganic

and nanopreparations of selenium and probiotics for growing young quails. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(3), 206–212.

623. Tsekhmistrenko, O.S., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, S.I. (2020). The influence of probiotics and the complex of biogenic nanoselenium and probiotics on the blood and liver biochemical indicators. *Scientific bases of solving of the modern tasks*. Germany, 412–415.

624. Tsekhmistrenko, O.S., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, S.I. (2020). Influence of selenium compounds on histological indicators of quails in the age aspect. *Perspective directions for the development of science and practice*. Athens, Greece 95–98.

625. Tsekhmistrenko, O.S., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, S.I., Kharchishin, V.M., Melnichenko, O.M., Rozputnyy, O.I., Malina, V.V., Prysiashniuk, N.M., Melnichenko, Y.O., Vered, P.I., Shulko, O.P., Onyshchenko L.S. (2020). Nanotechnologies and environment: A review of pros and cons. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(3), 162–172.

626. Tsekhmistrenko, O.S., Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S. (2020). Biological and physiological role and using of selenium compounds in livestock and poultry. *Theoretical and practical foundations of social process management*. USA, 105–110.

627. Tsekhmistrenko, S. I., Bityutskyy, V. S., Tsekhmistrenko, O. S., Horalskyi, L. P., Tymoshok, N. O., & Spivak, M. Y. (2020). Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. *Biosystems Diversity*, 28(1), 9–17.

628. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, O.S. (2020). Markers of oxidative stress in the blood of quails under the influence of selenium nanoparticles. *Impact of modernity on science and practice*. Boston, USA 177–180.

629. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, O.S., Melnichenko, O.M., Kharchyshyn, V.M., Tymoshok, N.O., Ponomarenko, N.V., Polishchuk, S.A., Rol, N.V., Melnichenko, Yu.O., Demchenko, A.A. (2020). Effects of selenium compounds and toxicant action on oxidative biomarkers in quails. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 232–239.

630. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyy, V.S., Tsekhmistrenko, O.S., Polishchuk, V.M., Polishchuk, S.A., Ponomarenko, N.V., Melnychenko, Y.O., & Spivak, M.Y. (2018). Enzyme-like activity of nanomaterials. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(3), 469–476.

631. Tu, W., Wang, H., Li, S., Liu, Q., & Sha, H. (2019). The Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE Signaling Pathway in Chronic Diseases. *Aging and disease*, 10(3), 637–651.

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

633. Tymoshok, N.O., Kapunenko, V.G., Krivtsova, M.V., Demchenko, O.A. (2017). The study of the complex action of probiotic *Subtilis* and phagocytic cell-based functional activity »materials of the 15th Congress of the Society of Microbiologists of Ukraine. S.M. Vinogradsky (TMU), September 11–15, 289.

634. Tyrpek, V., Markova, P., Dopita, M., & Vacca, M. A. (2019). Cerium Oxalate Morphotypes: Synthesis and Conversion into Nanocrystalline Oxide. *Inorganic chemistry*, 58(15), 10111–10118.

635. Umami, A. S., & Siddiquee, S. (2019). Nanotechnology Applications in Food: Opportunities and Challenges in Food Industry. In *Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food* (pp. 295–308). Springer, Cham.

636. Ungvári, É., Monori, I., Megyeri, A., Csiki, Z., Prokisch, J., & Benkő, I. (2014). Protective effects of meat from lambs on selenium nanoparticle supplemented diet in a mouse model of polycyclic aromatic hydrocarbon-induced immunotoxicity. *Food and chemical toxicology*, 64, 298–306.

637. Urbankova, L., Skalickova, S., Pribilova, M., Ridoskova, A., Pelcova, P., Skladanka, J., & Horky, P. (2021). Effects of Sub-Lethal Doses of Selenium Nanoparticles on the Health Status of Rats. *Toxics*, 9(2), 28.

638. Usama, T.M. (2012). Silver nanoparticles in poultry production. *Journal of Advanced Veterinary Research.*, 2 (4), 303–306.

639. Vadalasetty, K.P., Lauridsen, C., Engberg, R.M., Vadalasetty, R., Kutwin,

M., Chwalibog, A. Sawosz, E. (2018). Influence of silver nanoparticles on growth and health of broiler chickens after infection with *Campylobacter jejuni*. *BMC veterinary research.*, 14(1), 1–11.

640. Vaziri, A. S., Alemzadeh, I., & Vossoughi, M. (2019). Survivability and oxidative stability of co-microencapsulated *L. plantarum* PTCC 1058 and DHA as a juice carrier. *Food Bioscience*, 32, 100460.

641. Vaziri, A. S., Alemzadeh, I., & Vossoughi, M. (2019). Survivability and oxidative stability of co-microencapsulated *L. plantarum* PTCC 1058 and DHA as a juice carrier. *Food Bioscience*, 32, 100460.

642. Venil, C. K., Sathishkumar, P., Malathi, M., Usha, R., Jayakumar, R., Yusoff, A. R. M., & Ahmad, W. A. (2016). Synthesis of flexirubin-mediated silver nanoparticles using *Chryseobacterium artocarpi* CECT 8497 and investigation of its anticancer activity. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 228–234.

643. Vennila, K., Chitra, L., Balagurunathan, R., & Palvannan, T. (2018). Comparison of biological activities of selenium and silver nanoparticles attached with bioactive phytoconstituents: green synthesized using *Spermacoce hispida* extract. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9(1), 015005.

644. Veres, Z., Kim, I. Y., Scholz, T. D., & Stadtman, T. C. (1994). Selenophosphate synthetase. Enzyme properties and catalytic reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 269(14), 10597–10603.

645. Virkutyte, J., & Varma, R. S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles: biodegradable polymers and enzymes in stabilization and surface functionalization. *Chemical Science*, 2(5), 837–846.

646. Voloshyna, I.M., Skorokhod, S., Appolonova, Y., Zholobak, N., & Shkotova, L.V. (2019). *Lactobacillus* bacteria: biological and therapeutic properties. *Mikrobiolohichnyi zhurnal*, 81(6), 131–146.

647. Wacker, M. G. (2014). Nanotherapeutics – product development along the “nanomaterial” discussion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(3), 777–784.

648. Wadhvani, S. A., Shedbalkar, U. U., Singh, R., & Chopade, B. A. (2016). Biogenic selenium nanoparticles: current status and future prospects. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(6), 2555–2566.



649. Wadhvani, S. A., Shedbalkar, U. U., Singh, R., & Chopade, B. A. (2018). Biosynthesis of gold and selenium nanoparticles by purified protein from *Acinetobacter sp.* SW 30. *Enzyme and Microbial Technology*, 111, 81–86.
650. Walkey, D. G. (2018). Virus diseases. *Onions and Allied Crops: Volume II: Agronomy Biotic Interactions*, 9.
651. Walser, T., Limbach, L. K., Brogioli, R., Erismann, E., Flamigni, L., Hattendorf, B., Juchli, M., Krumeich, F., Ludwig, C., Prikopsky, K., Rossier, M., Saner, D., Sigg, A., Hellweg, S., Günther, D., & Stark, W. J. (2012). Persistence of engineered nanoparticles in a municipal solid-waste incineration plant. *Nature Nanotechnology*, 7(8), 520–524.
652. Wang G. O., Wang H. H., Wang H. X. (2012). Effects of Se deficiency on seum histamine concentration and the expression of histamine H2 receptor in the jejunum of chickens. *Pol. J. Vet. Sci.* 15: 547–552.
653. Wang, B., Feng, W., Zhao, Y., & Chai, Z. (2013). Metallomics insights for *in vivo* studies of metal based nanomaterials. *Metallomics*, 5(7), 793–803.
654. Wang, C., Wang, M.Q., Ye, S.S., Tao, W.J. Du, Y.J. (2011). Effects of copper-loaded chitosan nanoparticles on growth and immunity in broilers. *Poultry science*, 90(10), 2223–2228.
655. Wang, J.; Liu, Z.; He, X.; Lian, S.; Liang, J.; Yu, D.; Sun, D.; Wu, R. (2018). Selenium deficiency induces duodenal villi cell apoptosis via an oxidative stress-induced mitochondrial apoptosis pathway and an inflammatory signaling-induced death receptor pathway. *Metallomics*, 10, 1390–1400.
656. Wang, L., Ali, J., Zhang, C., Mailhot, G., & Pan, G. (2017). Simultaneously enhanced photocatalytic and antibacterial activities of TiO<sub>2</sub>/Ag composite nanofibers for wastewater purification. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.
657. Wang, L., Miao, X., Ali, J., Lyu, T., & Pan, G. (2018). Quantification of Oxygen Nanobubbles in Particulate Matters and Potential Applications in Remediation of Anaerobic Environment. *ACS Omega*, 3(9), 10624–10630.
658. Wang, M., Fu, Y., Chen, G., Shi, Y., Li, X., Zhang, H., & Shen, Y. (2018). Fabrication and characterization of carboxymethyl chitosan and tea polyphenols

coating on zein nanoparticles to encapsulate  $\beta$ -carotene by anti-solvent precipitation method. *Food hydrocolloids*, 77, 577–587.

659. Wang, T., Yang, L., Zhang, B., & Liu, J. (2010). Extracellular biosynthesis and transformation of selenium nanoparticles and application in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> biosensor. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 80(1), 94–102.

660. Wang, X., Wu, Q., Wan, D., Liu, Q., Chen, D., Liu, Z., Martínez-Larrañaga, M.R., Martínez, M.A., Anadón, A., Yuan, Z. (2016). Fumonisin: Oxidative stress-mediated toxicity and metabolism *in vivo* and *in vitro*. *Arch. Toxicol.*, 90, 81–101.

661. Wang, X.; Hai, C. (2016). Novel insights into redox system and the mechanism of redox regulation. *Mol. Biol. Rep.*, 43, 607–628.

662. Wang, X.; Zhang, D.; Pan, X.; Lee, D.J.; Al-Misned, F.A.; Mortuza, M.G.; Gadd, G.M. (2017). Aerobic and anaerobic biosynthesis of nano-selenium for remediation of mercury contaminated soil. *Chemosphere*, 170, 266–273.

663. Wang, Z., Li, Q., Chen, Y., Cui, B., Li, Y., Besenbacher, F., & Dong, M. (2018). The ambipolar transport behavior of WSe<sub>2</sub> transistors and its analogue circuits. *NPG Asia Materials*, 10(8), 703–712.

664. Wegkamp, A.; Teusink, B.; De Vos, W.M; Smid, E.J. (2010). Development of a minimal growth medium for *Lactobacillus plantarum*. *Letters in Applied Microbiology*. 50 (1), 57–64.

665. Wei, H., & Wang, E. (2013). Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): next-generation artificial enzymes. *Chemical Society Reviews*, 42(14), 6060–6093.

666. Wen, Z., Liu, W., Li, X., Chen, W., Liu, Z., & Wen, J. (2019). A Protective Role of the NRF2-Keap1 Pathway in Maintaining Intestinal Barrier Function. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 1759149.

667. White, S. H., & Warren, L. K. (2017). Submaximal exercise training, more than dietary selenium supplementation, improves antioxidant status and ameliorates exercise-induced oxidative damage to skeletal muscle in young equine athletes. *Journal of animal science*, 95(2), 657–670.

668. Woo, J., & Lim, W. (2017). Anticancer effect of selenium. *The Ewha Medical Journal*, 40(1), 17–21.

669. Wu, C. Y., Wong, C. S., Chung, C. J., Wu, M. Y., Huang, Y. L., Ao, P. L., ... & Chen, H. H. (2019). The association between plasma selenium and chronic kidney disease related to lead, cadmium and arsenic exposure in a Taiwanese population. *Journal of hazardous materials*, 375, 224–232.
670. Wu, H., Yin, J. J., Wamer, W. G., Zeng, M., & Lo, Y. M. (2014). Reactive oxygen species-related activities of nano-iron metal and nano-iron oxides. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(1), 86–94.
671. Wu, J., Zhang, Z., & Yan, J. (1994). An initial study on effect of adding rare earth element on productivity of egg laying breeder hens. *NingXia Science and Technology of Farming and Forestry*, 4, 36–38.
672. Wu, R., Tian, X., Xiao, Y., Ulstrup, J., Christensen, H. E. M., Zhao, F., & Zhang, J. (2018). Selective electrocatalysis of biofuel molecular oxidation using palladium nanoparticles generated on *Shewanella oneidensis* MR-1. *Journal of Materials Chemistry A*, 6(23), 10655–10662.
673. Wu, W., Huang, H., Ling, Z., Yu, Z., Jiang, Y., Liu, P., & Li, X. (2016). Genome sequencing reveals mechanisms for heavy metal resistance and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in *Delftia lacustris* strain LZ-C. *Ecotoxicology*, 25(1), 234–247.
674. Wu, Y., Li, S., Tao, Y., Li, D., Han, Y., Show, P. L., ... & Zhou, J. (2021). Fermentation of blueberry and blackberry juices using *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium bifidum*: Growth of probiotics, metabolism of phenolics, antioxidant capacity *in vitro* and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 348, 129083.
675. Xia, S. K., Chen, L., & Liang, J. Q. (2007). Enriched selenium and its effects on growth and biochemical composition in *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2413–2417.
676. Xia, Y., Xiao, M., Zhao, M., Xu, T., Guo, M., Wang, C., Li, Y., Zhu, B., & Liu, H. (2020). Doxorubicin-loaded functionalized selenium nanoparticles for enhanced antitumor efficacy in cervical carcinoma therapy. *Materials Science and Engineering: C*, 106, 110100.

677. Xia, Y., Zhao, Y., Zhang, F., Chen, B., Hu, X., Weir, M. D., Schneider, A., Jia, L., Gu, N., & Xu, H. H. (2019). Iron oxide nanoparticles in liquid or powder form enhanced osteogenesis via stem cells on injectable calcium phosphate scaffold. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 21, 102069.

678. Xiao, R.; Power, R.F.; Mallonee, D.; Routt, K.; Spangler, L.; Pescatore, A.J.; Cantor, A.H.; Ao, T.; Pierce, J.L.; Dawson, K.A. (2012). Effects of yeast cell wall-derived mannan-oligosaccharides on jejunal gene expression in young broiler chickens. *Poult. Sci.*, 91, 1660–1669.

679. Xiao, X., Song, D., Cheng, Y., Hu, Y., Wang, F., Lu, Z., & Wang, Y. (2019). Biogenic nanoselenium particles activate Nrf2-ARE pathway by phosphorylating p38, ERK1/2, and AKT on IPEC-J2 cells. *Journal of cellular physiology*, 234(7), 11227–11234.

680. Xie, S., Zhao, S., Jiang, L., Lu, L., Yang, Q., & Yu, Q. (2019). *Lactobacillus reuteri* stimulates intestinal epithelial proliferation and induces differentiation into goblet cells in young chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(49), 13758–13766.

681. Xu, C., Guo, Y., Qiao, L., Ma, L., Cheng, Y., & Roman, A. (2018). Biogenic synthesis of novel functionalized selenium nanoparticles by *Lactobacillus casei* ATCC 393 and its protective effects on intestinal barrier dysfunction caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Frontiers in microbiology*, 9, 1129.

682. Xu, J., Gong, Y., Sun, Y., Cai, J., Liu, Q., Bao, J., Yang, J., & Zhang, Z. (2019). Impact of selenium deficiency on inflammation, oxidative stress, and phagocytosis in mouse macrophages. *Biological Trace Element Research*, 1–7.

683. Xu, J.X., Zhang, C., Cao, C.Y., Zhu, S.Y., Li, H., Sun, Y.C., Li, J.L. (2016). Dietary Selenium Status Regulates the Transcriptions of Selenoproteome and Activities of Selenoenzymes in Chicken Kidney at Low or Super-nutritional Levels. *Biol. Trace Elem. Res.*, 170, 438–448.

684. Xu, S. Z., Lee, S. H., Lillehoj, H. S., Bravo, D. (2015). Dietary sodium selenite affects host intestinal and systemic immune response and disease susceptibility to necrotic enteritis in commercial broilers. *Br. Poult. Sci.* 56: 103–112.

685. Xu, X., Qiao, Y., Peng, Q., Shi, B., & Dia, V. P. (2021). Antioxidant and Immunomodulatory Properties of Partially purified Exopolysaccharide from *Lactobacillus Casei* Isolated from Chinese Northeast Sauerkraut. *Immunological Investigations*, 1-18.

686. Xu, Y., Tang, H., Liu, J.H., Wang, H. Liu, Y. (2013). Evaluation of the adjuvant effect of silver nanoparticles both *in vitro* and *in vivo*. *Toxicology letters*, 219(1), 42–48.

687. Yadi, M., Mostafavi, E., Saleh, B., Davaran, S., Aliyeva, I., Khalilov, R., Nikzamid, N., Akbarzadeh, A., Panahi, Y., & Milani, M. (2018). Current developments in green synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: a review. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(sup3), 336–343.

688. Yang, C. H., Xu, J. H., Ren, Q. C., Duan, T., Mo, F., & Zhang, W. (2019). Melatonin promotes secondary hair follicle development of early postnatal cashmere goat and improves cashmere quantity and quality by enhancing antioxidant capacity and suppressing apoptosis. *Journal of pineal research*, 67(1), e12569.

689. Yang, J., Shim, S. M., Nguyen, T. Q., Kim, E. H., Kim, K., Lim, Y. T., ... & Poo, H. (2017). Poly- $\gamma$ -glutamic acid/chitosan nanogel greatly enhances the efficacy and heterosubtypic cross-reactivity of H1N1 pandemic influenza vaccine. *Scientific reports*, 7, 44839.

690. Yang, K. T., Lin, C., Huang, H., Liou, J., Chien, C., Wu, C., ... & Lin, E. (2008). Expressed transcripts associated with high rates of egg production in chicken ovarian follicles. *Molecular and cellular probes*, 22(1), 47–54.

691. Yang, S. J., Lee, J. E., Lim, S. M., Kim, Y. J., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2019). Antioxidant and immune-enhancing effects of probiotic *Lactobacillus plantarum* 200655 isolated from kimchi. *Food science and biotechnology*, 28(2), 491–499.

692. Yang, X., Zhang, W., Zhao, Z., Li, N., Mou, Z., Sun, D., ... & Lin, Y. (2017). Quercetin loading CdSe/ZnS nanoparticles as efficient antibacterial and anticancer materials. *Journal of inorganic biochemistry*, 167, 36–48.

693. Yanhua, W., Hao, H., Li, Y., & Zhang, S. (2016). Selenium-substituted hydroxyapatite nanoparticles and their *in vivo* antitumor effect on hepatocellular carcinoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 140, 297–306.
694. Yao, M., McClements, D. J., & Xiao, H. (2015). Improving oral bioavailability of nutraceuticals by engineered nanoparticle-based delivery systems. *Current opinion in food science*, 2, 14–19.
695. Yates, M. D., Cusick, R. D., & Logan, B. E. (2013). Extracellular palladium nanoparticle production using *Geobacter sulfurreducens*. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(9), 1165–1171.
696. Yildirim, S., Ozkan, C., Huyut, Z., & Çınar, A. (2019). Detection of Se, vit. E, vit. A, MDA, 8-OHdG, and CoQ10 levels and histopathological changes in heart tissue in sheep with white muscle disease. *Biological trace element research*, 188(2), 419–423.
697. Yin, J., Hou, Y., Yin, Y., & Song, X. (2017). Selenium-coated nanostructured lipid carriers used for oral delivery of berberine to accomplish a synergic hypoglycemic effect. *International journal of nanomedicine*, 12, 8671.
698. Yin, Y., Yang, X., Hu, L., Tan, Z., Zhao, L., Zhang, Z., Liu, J., & Jiang, G. (2016). Superoxide-mediated extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. *Environmental Science & Technology Letters*, 3(4), 160–165.
699. Yoshida, K., & Hisabori, T. (2016). Two distinct redox cascades cooperatively regulate chloroplast functions and sustain plant viability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(27), E3967–E3976.
700. Yu J., Yao H., Gao X., Zhang Z., Wang J.F., Xu S.W. (2015). The role of nitric oxide and oxidative stress in intestinal damage induced by selenium deficiency in chickens. *Biol. Trace. Elem. Res.* 163: 144–153.
701. Yu, Q., Boyanov, M. I., Liu, J., Kemner, K. M., & Fein, J. B. (2018). Adsorption of selenite onto *Bacillus subtilis*: the overlooked role of cell envelope sulfhydryl sites in the microbial conversion of Se (IV). *Environmental science & technology*, 52(18), 10400–10407.

702. Yu, S.N.; Kim, S.H.; Kim, K.Y.; Ji, J.H.; Seo, Y.K.; Yu, H.S.; Ahn, S.C. (2017). Salinomycin induces endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy and apoptosis through generation of reactive oxygen species in human glioma U87MG cells. *Oncol. Rep.*, 37, 3321–3328.
703. Yuan, J., Palioura, S., Salazar, J. C., Su, D., O'Donoghue, P., Hohn, M. J., ... & Söll, D. (2006). RNA-dependent conversion of phosphoserine forms selenocysteine in eukaryotes and archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(50), 18923–18927.
704. Yurtluk, T., Akçay, F. A., & Avci, A. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles using novel *Bacillus sp.* SBT8. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 48(2), 151–159.
705. Zakaria, H. M., Shah, A., Konieczny, M., Hoffmann, J. A., Nijdam, A. J., & Reeves, M. E. (2013). Small molecule-and amino acid-induced aggregation of gold nanoparticles. *Langmuir*, 29(25), 7661–7673.
706. Zakharia, Y., Bhattacharya, A., & Rustum, Y. M. (2018). Selenium targets resistance biomarkers enhancing efficacy while reducing toxicity of anti-cancer drugs: Preclinical and clinical development. *Oncotarget*, 9(12), 10765.
707. Zárata, R., el Jaber-Vazdekis, N., Tejera, N., Pérez, J. A., & Rodríguez, C. (2017). Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. *Clinical and translational medicine*, 6(1), 1–19.
708. Zee, J., Patterson, S., Wiseman, S., Hecker, M. (2016). Is hepatic oxidative stress a main driver of dietary selenium toxicity in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*)? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 133, 334–340.
709. Zenkov, N. K., Menshchikova, E. B., & Tkachev, V. O. (2013). Keap1/Nrf2/ARE redox-sensitive signaling system as a pharmacological target. *Biochemistry (Moscow)*, 78(1), 19–36.
710. Zhai, X., Zhang, C., Zhao, G., Stoll, S., Ren, F., & Leng, X. (2017). Antioxidant capacities of the selenium nanoparticles stabilized by chitosan. *Journal of nanobiotechnology*, 15(1), 4.

711. Zhang, D. D., Lo, S. C., Cross, J. V., Templeton, D. J., & Hannink, M. (2004). Keap1 is a redox-regulated substrate adaptor protein for a Cul3-dependent ubiquitin ligase complex. *Molecular and cellular biology*, 24(24), 10941–10953.

712. Zhang, H., & Hu, X. (2017). Rapid production of Pd nanoparticle by a marine electrochemically active bacterium *Shewanella sp.* CNZ-1 and its catalytic performance on 4-nitrophenol reduction. *RSC Advances*, 7(65), 41182–41189.

713. Zhang, H., & Hu, X. (2018). Biosynthesis of Pd and Au as nanoparticles by a marine bacterium *Bacillus sp.* GP and their enhanced catalytic performance using metal oxides for 4-nitrophenol reduction. *Enzyme and Microbial Technology*, 113, 59–66.

714. Zhang, H., Zhou, H., Bai, J., Li, Y., Yang, J., Ma, Q., & Qu, Y. (2019). Biosynthesis of selenium nanoparticles mediated by fungus *Mariannaea sp.* HJ and their characterization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 571, 9–16.

715. Zhang, M.; An, C.; Gao, Y.; Leak, R.K.; Chen, J.; Zhang, F. (2013). Emerging roles of Nrf2 and phase II antioxidant enzymes in neuroprotection. *Prog. Neurobiol.*, 100, 30–47.

716. Zhang, W., Zhang, J., Ding, D., Zhang, L., Muehlmann, L. A., Deng, S. E., ... & Zhang, W. (2018). Synthesis and antioxidant properties of *Lycium barbarum* polysaccharides capped selenium nanoparticles using tea extract. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(7), 1463–1470.

717. Zhang, X., Feng, Y. J., Li, J., Hao, J. H., Zhu, P., Xu, D. X., ... & Wang, H. (2021). Maternal selenium deficiency during gestation is positively associated with the risks for LBW and SGA newborns in a Chinese population. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1–7.

718. Zhang, Y., Qiang, L., Yuan, Y., Wu, W., Sun, B., & Zhu, L. (2018). Impacts of titanium dioxide nanoparticles on transformation of silver nanoparticles in aquatic environments. *Environmental Science: Nano*, 5(5), 1191–1199.

719. Zhao, X.; Yao, H.; Fan, R.; Zhang, Z.; Xu, S. (2014). Selenium deficiency influences nitric oxide and selenoproteins in pancreas of chickens. *Biol. Trace Elem. Res.*, 161, 341–349.



720. Zheng, F., & Li, H. (2019). Evaluation of Nrf2 with exposure to nanoparticles. In *Nanotoxicity* (pp. 229–246). Humana Press, New York, NY.

721. Zholobak, N. M., Shcherbakov, A. B., Ivanova, O. S., Reukov, V., Baranchikov, A. E., & Ivanov, V. K. (2020). Nanoceria-curcumin conjugate: Synthesis and selective cytotoxicity against cancer cells under oxidative stress conditions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 209, 111921.

722. Zhu, Y., Ren, B., Li, H., Lin, Z., Bañuelos, G., Li, L., Zhao, G., & Guo, Y. (2018). Biosynthesis of selenium nanoparticles and effects of selenite, selenate, and selenomethionine on cell growth and morphology in *Rahnella aquatilis* HX2. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1 Zhang 02(14), 6191–6205.

723. Zinicovscaia, I., Chiriac, T., Cepoi, L., Rudi, L., Culicov, O., Frontasyeva, M., & Rudic, V. (2017). Selenium uptake and assessment of the biochemical changes in *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* biomass during the synthesis of selenium nanoparticles. *Canadian journal of microbiology*, 63(1), 27–34.

**ДОДАТКИ**

## ДОДАТКИ

## Додаток А

## СПИСОК ДРУКОВАНИХ ПРАЦЬ О.С.ЦЕХМІСТРЕНКО

## Статті у журналах, що індексуються у Scopus і WOS

1. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Мельниченко О.М., Олешко О.А. (2018). Біоміметична та антиоксидантна активність наносполук діоксиду церію. Світ медицини та біології, 1(63), 196–201.
2. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyu, V.S., **Tsekhmistrenko, O.S.**, Polishchuk, V.M., Polishchuk, S.A., Ponomarenko, N.V., Melnychenko, Y.O., & Spivak, M.Y. (2018). Enzyme-like activity of nanomaterials. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 9(3), 469–476.
3. Tymoshok N.O., Kharchuk M.S., Kaplunenکو V.G., Bityutskyu V.S., Tsekhmistrenko S.I., **Tsekhmistrenko O.S.**, Spivak M.Y., Melnichenko O.M. (2019). Evaluation of effects of selenium nanoparticles on *Bacillus subtilis*. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 10(4), 544–552.
4. Bityutskyu V., Tsekhmistrenko S., **Tsekhmistrenko O.**, Melnychenko O., Kharchyshyn V. (2019). Effects of Different Dietary Selenium Sources Including Probiotics Mixture on Growth Performance, Feed Utilization and Serum Biochemical Profile of Quails. In: Nadykto V. (eds) Modern Development Paths of Agricultural Production, Springer, Cham. 623–632.
5. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyu, V.S., **Tsekhmistrenko, O.S.**, Horalskyi, L.P., Tymoshok, N.O. (2020). Bacterial synthesis of nanoparticles: A green approach. Biosystems Diversity, 28(1), 9–17.
6. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyu, V.S., **Tsekhmistrenko, O.S.**, Melnichenko, O.M., Kharchyshyn, V.M., Tymoshok, N.O., Ponomarenko, N.V., Polishchuk, S.A., Rol, N.V., Fedorchenko, M.M., Melnichenko, Yu.O., Merzlova, H.V., Shulko, O.P., Demchenko, A.A. (2020). Effects of selenium compounds and toxicant action on oxidative biomarkers in quails. Ukrainian Journal of Ecology, 10(2), 232–239.
7. **Tsekhmistrenko O.S.**, Bityutskyu V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchishin V.M., Melnichenko O.M., Rozputnyu O.I., Malina V.V., Prysiazhniuk N.M., Melnichenko Y.O., Vered P.I., Shulko O.P., L.S. Onyshchenko L.S. (2020). Nanotechnologies and environment: A review of pros and cons. Ukrainian Journal of Ecology, 10(3), 162–172.
8. Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., **Tsekhmistrenko O.S.**, Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. Regulation of redox processes in biological systems with the participation of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway, biogenic selenium nanoparticles as Nrf2 activators. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 2020, 11(4), 483–493. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, підготовлено матеріали до друку та здійснено переклад на англійську мову).

## Статті у наукових фахових виданнях України

9. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Яремчук Т.С. Застосування Селену за вирощування перепелів. Науковий вісник ветеринарної медицини: Зб. наук. праць, 2009, 2(68), 105–110.

10. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М. Вплив різних форм селену на показники пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів. Науковий вісник ветеринарної медицини: Зб. наук. праць, 2010, 6 (74), 142–145.
11. Цехмістренко С.І., Поліщук В.М., **Цехмістренко О.С.**, Бородай В.П. Вплив біогенних стимуляторів на інтенсивність пероксидного окиснення в організмі птиці. Сучасне птахівництво, 2011, 3(100), 15–17.
12. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М. Динаміка пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів породи фараон за використання препаратів Селену. Сучасне птахівництво, 2011, 11–12, 15–18.
13. **Цехмістренко О.С.** Показники ліпідного обміну в організмі перепелів. Вісник Білоцерківського держ. аграр. ун-ту, 2011, 5(82). 23–27.
14. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.** Вплив органічного селену на обмінні процеси в організмі перепелів. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин та ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, 2012, 13(1–2), 171–175.
15. Пономаренко Н.В., Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Яремчук Т.С. Вплив насіння амаранту на організм за умов експериментального стресу. Вісник аграрної науки Причорномор'я, 2012, 70, 2(2), 121–125.
16. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Девича І.О., Пономаренко Н.В., Поліщук В.М., Яремчук Т.С. Вплив Сел-Плексу на ліпопероксидацію в організмі птиці. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: Зб. наук. праць, 2013, 9(103), 16–19.
17. **Tsekhmistrenko O.** Lipid peroxidation in poultry organism. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Зб. наук. праць, 2014, 1, 73–76.
18. Bityutsky V.S., **Tsekhmistrenko O.S.**, Sryvas M.Y., Tsekhmistrenko S.I., Shadura U.M. Perspectives of cerium nanoparticles use in agriculture. The Animal Biology, 2017, 19(3), 9–18.
19. Пономаренко Н.В., Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Поліщук С.А. Вплив біологічно активних речовин амаранту на склад ліпідів в організмі перепелів. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: Зб. наук. праць, 2018, 2(145), 46–53.
20. **Цехмістренко О.С.**, Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І., Мельниченко О.М., Тимошок Н.О., Співак М.Я. Використання наночастинок металів та неметалів у птахівництві. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Зб. наук. праць, 2019, 2, 113–130.
21. Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., **Tsekhmistrenko O.S.**, Oleshko O.A., Heiko L.M. Influence of selenium on redox processes, selenoprotein metabolism and antioxidant status of aquaculture facilities. Таврійський науковий вісник, 2020, 114, 231–240.
22. Iqbal, A., Qudoos, A., Bayram, İ., Tytariova, O., **Tsekhmistrenko, O.**, Slomchynskiy, M., Babenko, S. Enhancing immunity level by using phytogetic feed additives in animal diets. Animal Husbandry Products Production and Processing, 2020, 2(158), 21–27.
23. **Tsekhmistrenko O. S.**, Bityutsky V. S., Tsekhmistrenko S. I., Spivak M. Y. Influence of cerium dioxide nanoparticles on biochemical indicators in the

organism of broiler chicken. Veterinary science, technologies of animal husbandry and nature management, 2020. 6, 112–117.

24. **Tsekhmistrenko O.S.**, Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchyshyn V.M., Tymoshok N.O., Spivak M.Ya. (2020). Efficiency of application of inorganic and nanopreparations of selenium and probiotics for growing young quails. Theoretical and Applied Veterinary Medicine, 2020, 8(3), 206–212.

25. **Цехмістренко О.С.** Біологічні методи синтезу наночастинок селену, їх характеристики та властивості. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Зб. наук. праць, 2020, 2(158), 6–20.

#### *Статті у зарубіжних виданнях*

26. **Цехмістренко О.С.** (2014). Перекисное окисление липидов в организме птицы. Аграрная наука – сельскому хозяйству. Сб. статей, Кн. 3. Барнаул, 220–222.

27. **Цехмістренко О.С.** Онтогенетические особенности функционирования антиоксидантной системы перепелов. (2016). Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Часть 2. Горки, БГСХА, 335–339.

28. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.И., Пономаренко Н.В., Полищук В.Н., Полищук С.А. (2016). Окисление липидов в организме перепелов при введении препаратов Селена. Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции. Ставрополь, 648–653.

29. Tytariova, O., Iqbal, A., Dyachenko, L., Bomko, V., **Tsekhmistrenko, O.**, Cherniavskiy, O., ... & Bayram, I. (2020). Investigation the Effect of Different Levels of Dry Sugar Beet Pulp mixed Concentrate Feeds on Cadmium Levels in Rabbit Slaughter Products. Kocatepe Veteriner Dergisi, 13(2), 98–103.

#### *Технічні умови*

30. Співак М.Я., Мельниченко О.М., Бітюцький В.С., Лазоренко Л.М., Олешко О.А., Тимошок О.Н., Харчишин В.М., Кривцова Н.В., **Цехмістренко О.С.**, Бабенко Л.П., Мельниченко Ю.О., Демченко О.А. Добавка кормова біологічно активна для сільськогосподарських тварин, птиці та риби. Технічні умови ТУ У 10.9-00493712-001:2017.

31. Демченко О.А., Співак М.Я., Жолобак Н.М., Щербаков О.Б., Іванов О.Б., Мельниченко О.М., Бітюцький В.С., Зоценко В.М., Тимошок О.Н., Величко В.О., Цехмістренко С.І., Мельниченко Ю.О., Харчишин В.М., Олешко О.А., **Цехмістренко О.С.**, Веред П.І. Добавка кормова “Наноцерій”. Технічні умови ТУ У 10.9-2960512097-003:2013.

32. Демченко О.А., Співак М.Я., Лазаренко Л.М., Тимошок О.Н., Мельниченко О.М., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І., Зоценко В.М., Бабенко Л.П., Мокрозуб В.В., Музика В.П., Мельниченко Ю.О., Харчишин В.М., **Цехмістренко О.С.**, Олешко О.А., Веред П.І. Добавка кормова “Лактокас”. Технічні умови ТУ У 10.9-2960512097-001:2013.

#### *Патенти*

33. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Яремчук Т.С. Спосіб підвищення енергетичного обміну та антиоксидантного захисту в організмі перепелів. Патент на корисну модель № 49848, 2010. (2009, 12694).

34. Бітюцький В.С., Співак М.Я., **Цехмістренко О.С.**, Шадюра Ю.М. Спосіб годівлі курей-несучок. Патент на корисну модель № 118905, 2017. (2017, 160322).

35. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., **Цехмістренко С.І.**, Мельниченко Ю.О., Цехмістренко О.С., Веред П.І. Спосіб підвищення продуктивності, конверсії корму та збереження перепелів. Патент на корисну модель № 132654, 2019.
36. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., Співак М.Я., Тимошок О.Н., **Цехмістренко О.С.**, Мельниченко Ю.О., Цехмістренко С.І., Олешко О.А. Спосіб ефективного застосування нових форм селену у перепелівництві. Патент на корисну модель № 135635, 2019.
37. Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., Співак М.Я., Тимошок О.Н., Мельниченко Ю.О., **Цехмістренко О.С.**, Олешко О.А., Поліщук В.М. Спосіб інтенсифікації білкового обміну у перепелів. Патент на корисну модель № 135682, 2019.
38. Спосіб корекції ліпідного обміну у перепелів за участю наноматеріалів: патент на корисну модель № 137453, МПК (2019.01) / Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., **Цехмістренко О.С.** та ін. заявл. 22.03.2019 ; опублік. 25.10.2019; бюл. №20. 4 с.
39. Спосіб ефективного вирощування перепелів за використання кормової добавки біотехнологічного походження: патент на корисну модель № 143813, МПК (2019.01) / Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Мельниченко О.М., **Цехмістренко О.С.** та ін. заявл. 16.03.2020; опублік. 10.08.2020; бюл. №11. 4 с.

#### *Рекомендації*

40. **Цехмістренко О.С.** Рекомендації щодо використання наноцерію у годівлі курчат-бройлерів та курей-несучок. Біла Церква, 2017, 16 с.
41. **Цехмістренко О.С.** (2020). Рекомендації по використанню кормової добавки біотехнологічного походження з метою підвищення продуктивності перепелів. Біла Церква, 18 с.

#### *Навчальні посібники*

42. Цехмістренко С.І., Кононський О.І., **Цехмістренко О.С.** (2011). Біохімія тварин з основами фізичної і колоїдної хімії. Практикум: Навч. посіб. Біла Церква, 216 с.
43. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.** (2014). Біохімія м'яса та м'ясопродуктів: Навч. посіб. Біла Церква, 192 с.

#### *Матеріали конференцій*

44. Цехмістренко С.І., Яремчук Т.С., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Чубар О.М., Пономаренко Н.В. (2010). Енергетичний обмін та антиоксидантний статус тканин птиці. Укр. біохім. журн, 82(4), 256–257.
45. Кононський О.І., Сенік С.В., **Цехмістренко О.С.**, Єсьман Д.В. (2010). Пероксидне окислення ліпідів у перепелів і вплив його на їхню продуктивність. Укр. біохім. журн, 82(4), 263–264.
46. **Цехмістренко О.С.** (2013). Вплив екзогенних антиоксидантів на ліпопероксидацію в організмі птиці за антропогенного навантаження. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції "Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища. (Мелітополь, 2013), 27–29.
47. Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Поліщук В.М., Девеча І.О., Пономаренко Н.В. (2013). Антиоксидантний статус органів та тканин птиці різних видів. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції

- "Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища. (Мелітополь, 2013), 21–22.
- 48.Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.** (2015). Ліпопероксидація в організмі птиці за антропогенного навантаження. Державна науково-практична конференція «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва» (19 листопада, 2015 р. Біла Церква), 42–43.
- 49.**Цехмістренко О.С.** (2016). Онтогенетичні особливості функціонування антиоксидантної системи в організмі перепелів. Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016. Конференція-конкурс молодих учених (26–27 травня, 2016. Київ), 59.
- 50.Бітюцький В.С., Співак М.Я., **Цехмістренко О.С.**, Шадура Ю.М. (2016). Використання сполук церію у тваринництві. Державна науково-практична конференція «Аграрна наука – виробництву» (17 листопада, 2016 р. Біла Церква), 84–85.
- 51.Бітюцький В.С., **Цехмістренко О.С.** (2017). Методи одержання нанокристалічного діоксиду церію та використання його сполук. «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». Державна науково-практична конференція молодих учених, аспірантів і докторантів, (18 травня 2017 р. Біла Церква), 14–15.
- 52.Бітюцький В.С., **Цехмістренко О.С.** (2017). Шляхи взаємодії наночасточок діоксиду церію із живими клітинами та біологічними мембранами. «Іхтіологія та морфологія – наукова та практична основа рибиництва». Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 85-річчю заснування кафедри іхтіології та морфології і 60-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Клименка Олега Миколайовича, (24 жовтня 2017 р. Біла Церква), 32–33.
- 53.Bityutsky V., **Tsekhmistrenko O.**, Tsekhmistrenko S., Kharchyshyn V., Melnychenko Yu. (2018). Effects of dietary selenium including probiotics mixture on growth performance, **serum biochemical parameters of pharaon quails**. 2<sup>nd</sup> International Conference “Smart Bio” (03-05 May 2018. Kaunas, Lithuania), 157.
- 54.Цехмістренко О.С., **Цехмістренко С.І.**, Горальський Л.П. (2018). Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у птиці за корекції патологічних станів. Аграрна освіта і наука: досягнення, роль, фактори росту: сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції (27–28 вересня 2018 р. Біла Церква), 19–22.
- 55.Бітюцький В.С. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Харчишин В.М. (2018). Використання різних форм церію в аграрному секторі. Аграрна освіта і наука: досягнення, роль, фактори росту: сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції (27–28 вересня 2018 р. Біла Церква), 38–40.
- 56.Бітюцький В.С., Харчишин В.М., **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Мельниченко О.М. (2019). Вплив різних джерел селену та пробіотиків на продуктивність та біохімічні показники сироватки крові перепелів. Проблеми годівлі тварин в умовах високоінтенсивних технологій виробництва і

переробки продукції тваринництва: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, (1–2 лютого 2019 р. Біла Церква), 7–9.

57. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Співак М.Я., Тимошок Н.О. (2019). Вплив пробіотичних препаратів на біохімічні показники крові та печінки перепелів. 73-я Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні технології у тваринництві та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми». (3–4 квітня 2019 р. Київ), 229–231.

58. **Цехмістренко О.**, Цехмістренко С., Бітюцький В., Харчишин В., Шулько О. (2019). Використання сучасних пробіотиків як інноваційній потенціал для вирішення екологічної безпеки та викликів сталого розвитку. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Європейські виміри сталого розвитку» (23–24 квітня 2019 р. Київ), 72–73.

59. **Цехмістренко О.С.**, Цехмістренко С.І., Пономаренко Н.В., Поліщук В.М., Селезньова О.О., Поліщук С.А. (2019). Вікові особливості функціонування системи антиоксидантного захисту птиці. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології та біохімії тварин», присвяченої 100-річчю факультету ветеринарної медицини НУБІП України та 100-річчю з дня народження професора В. В. Науменка. (28 травня 2019 р. Київ), 60–61.

60. Тимошок Н.О., Співак М.Я., **Цехмістренко О.С.**, Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. (2019). Процеси біологічної трансформації різних форм селену бактеріями. Міжнародна науково-практична конференція “Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту”. Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва. (31 жовтня 2019 р. Біла Церква), 5–7.

61. Бітюцький В.С., Мельниченко О.М., Цехмістренко С.І., **Цехмістренко О.С.**, Харчишин В.М., Мельниченко Ю.О., Співак М.Я., Тимошок Н.О. (2019). Вплив нових форм селену на продуктивність та обмінні процеси у перепелів. Міжнародна науково-практична конференція “Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту”. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво. (31 жовтня 2019. Біла Церква), 36–38.

62. **Tsekhmistrenko O.**, Tsekhmistrenko S., Bityutskyu V. (2019). Nanoscale cerium dioxide as a mimetic of antioxidant protection enzymes. Multidisciplinary conference For young researchers (22 November 2019), 68–71.

63. **Цехмістренко О.**, Бітюцький В., Цехмістренко С. (2020). Вплив селеновмісних пробіотичних препаратів на метаболічні процеси в організмі птиці. Animal welfare in the conditions of global climate change. The 1st International Scientific and Practical Conference. (April 21–22 Dnipro, Ukraine 2020), 36–38.

64. **Цехмістренко О.С.**, Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. (2020). «Зелені» технології у синтезі наночастинок селену. Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах: тези доп. I міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, (28–29 травня 2020 р. Дніпро), Т.2. 506–509.

65. **Цехмістренко О.**, Бітюцький В., Цехмістренко С., Харчишин В. (2020). Використання наночастинок селену, синтезованих з використанням «зелених»



технологій, у годівлі перепелів. Матеріали II міжнародної науково-практичної конференції «Європейські виміри сталого розвитку» (26 червня 2020 р. Київ), 62–63.

66. **Цехмістренко О.С.** (2020). Вплив препаратів селену та пробіотика на морфологічні показники інкубаційних яєць курей. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток технологій тваринництва. Інноваційні підходи в харчових технологіях. Біла Церква, 22–23.

67. **Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І.** (2020). Нанотехнології і навколишнє середовище. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво. Біла Церква, 26–29.

68. **Tsekhmistrenko, O., Tymoshok, N., Bityutskyu, V., Lazarenko, L., Kryvtsova, M.** (2020). Biosynthesis of selenium nanoparticles by lactobacteria and selenium supplementation on japanese quail broilers. XLVIII. Fiatal tudósok tudományos konferenciájára, melynek lebonyolítására online formában kerül sor, 23.

69. Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyu, V.S., Tsekhmistrenko, O.S. Markers of oxidative stress in the blood of quails under the influence of selenium nanoparticles. Impact of modernity on science and practice. Abstracts of XVIII International Scientific and Practical Conference. Boston, USA 2020, 177–180.

70. Tsekhmistrenko, O.S., Bityutskyu, V.S., Tsekhmistrenko, S.I. The influence of probiotics and the complex of biogenic nanoselenium and probiotics on the blood and liver biochemical indicators. Scientific bases of solving of the modern tasks. Abstracts of XIX International Scientific and Practical Conference. Frankfurt am Main, Germany, 2020, 412–415.

71. Tsekhmistrenko, O.S., Tsekhmistrenko, S.I., Bityutskyu, V.S. Biological and physiological role and using of selenium compounds in livestock and poultry. Theoretical and practical foundations of social process management. Abstracts of XVIII International Scientific and Practical Conference. Boston, USA, 2020, 105–110.

72. Tsekhmistrenko, O.S., Bityutskyu, V.S., Tsekhmistrenko, S.I. Influence of selenium compounds on histological indicators of quails in the age aspect. Perspective directions for the development of science and practice. Abstracts of XX International Scientific and Practical Conference. Athens, Greece 2020, 95–98.

## Додаток Б

### Участь у конференціях О.С. Цехмістренко

1. Міжнародна науково-практична конференція «Біохімія у вирішенні актуальних питань біології, ветеринарії та тваринництва», присвячена 80-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, академіка УАН, Нью-Йоркської АН і Російської АН Олексія Івановича Кононського. – Біла Церква, 12–13 березня, 2009.
2. Державна науково-практична конференція «Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». – Біла Церква, 9 листопада 2011.
3. Державна наукова конференція "Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва". – Біла Церква, 14–15 березня 2012.
4. Державна науково-практична конференція молодих учених, аспірантів і докторантів «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті». – Біла Церква, 17–18 травня 2012.
5. Державна науково-практична конференція «Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва і забезпечення її якості», присвячена 80-річчю заснування біолого-технологічного факультету. – Біла Церква, 21–22 червня 2012.
6. Державна науково-практична конференція «Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». – Біла Церква, 8–9 листопада 2012.
7. Державна науково-практична конференція «Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». – Біла Церква, 16–17 травня 2013.
8. IV Міжнародна науково-практична конференція, присвяченої 10-річчю кафедри екотрофології БНАУ «Екотрофологія. Прогрес, проблеми, перспективи екологічно безпечного виробництва». – Біла Церква, 10.10.2013.
9. Всеукраїнська науково-практична конференція "Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища. – Мелітополь, 2013.
10. Державна науково-практична конференція «Аграрна наука – виробництву», 6-7 листопада, 2014.
11. IX Международная научно-практическая конференция «Аграрная наука – сельскому хозяйству» Барнаул, 2014.
12. Міжнародна науково-практична конференція «Стратегічні напрями розвитку тваринництва в Україні у контексті національної продовольчої безпеки», присвячена 80-річчю кафедри технології виробництва молока та м'яса і 90-річчю з дня народження видатного вченого-технолога, доктора сільськогосподарських наук, професора Євгенія Івановича Адміна. – Біла Церква, 30-31 жовтня 2014.
13. Державна науково-практична конференція “Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва”.– Біла Церква, 6-7 листопада, 2014.

14. Міжнародна науково-практична конференція молодих учених, аспірантів і докторантів «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» – Біла Церква, 14-15 травня 2015 року.

15. Міжнародна науково-практична конференція “Генетика, розведення та селекція тварин актуальні проблеми та перспективи розвитку”, присвячена 80-річчю від дня народження видатного вченого-селекціонера, доктора сільськогосподарських наук, професора, члена-кореспондента НААН Басовського Миколи Захаровича. 10-11 червня 2015 року.

16. Державна науково-практична конференція «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». – Біла Церква, 19 листопада, 2015

17. Конференція-конкурс молодих учених Українського Біохімічного Товариства Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. – 26-27 травня, 2016. Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті. Державна науково-практична конференція, 19-20 травня, 2016

18. XIX Международная научно-практическая конференция “Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства”, посвященная 90-летию образования кафедр биотехнологии и ветеринарной медицины и кормления и разведения с.-х. животных УО «БХСХА»; 130-летию со дня рождения основателя зоотехнического образования и науки о кормлении с.-х. животных в Белоруссии, доктора с.-х. наук, профессора Николая Васильевича Найденова и 90-летию со дня рождения заслуженного деятеля наук Республики Беларусь, доктора биологических наук, профессора Юрия Леонидовича Максимова (г. Горки, 2-3 июня 2016)

19. Державна науково-практична конференція «Аграрна наука – виробництву», 17 листопада, 2016, Біла Церква.

20. Международная научно-практическая конференция «Инновации и современные технологии в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции», посвященная 80-летию почетного работника высшего профессионального образования РФ, доктора сельскохозяйственных наук, профессора Исмаилова Исмаила Сагидовича (г. Ставрополь, 25 ноября 2016)

21. Державна студентська наукова конференція "Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва". – Біла Церква, 2016

22. Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми та шляхи інтенсифікації виробництва продукції тваринництва». – Дніпро, 23-24 березня 2017.

23. Державна науково-практична конференція молодих учених, аспірантів і докторантів «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». – Біла Церква, 18 травня 2017.

24. Міжнародна науково-практична конференція «Іхтіологія та морфологія – наукова та практична основа рибиництва», присвячена 85-річчю заснування кафедри іхтіології та морфології і 60-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Клименка Олега Миколайовича, 24 жовтня, 2017.

25. Державна науково-практична конференція «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва», 23 листопада 2017. – Біла Церква, 2017

26. Международная научно-практическая конференция “Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства”, посвященная 50-летию кафедр крупного животноводства и переработки животноводческой продукции; свиноводства и мелкого животноводства УО БГСХА. – Горки, БГСХА, 2017

27. 2<sup>nd</sup> International Conference “Smart Bio”, 03-05 May 2018. – Kaunas, Lithuania

28. Міжнародна науково-практична конференція «Аграрна освіта і наука: досягнення, роль, фактори росту: сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях». - 27-28 вересня. - Білоцерківський НАУ, 2018.

29. Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми годівлі тварин в умовах високо інтенсивних технологій виробництва і переробки продукції тваринництва» 1–2 лютого 2019 року. Біла Церква.

30. 73-я Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні технології у тваринництві та рибництві: навколишнє середовище – виробництво продукції – екологічні проблеми». 3-4 квітня 2019 р. – НУБіП України, Київ, 2019.

31. Міжнародна науково-практична конференція «Європейські виміри сталого розвитку» 23-24 квітня 2019. – К.: НУХТ, 2019.

32. Proceeding of the International Conference on European Dimensions of Sustainable Development, April 23-24, 2019. – Kyiv: NUFT, 2019

33. 3<sup>rd</sup> International Conference “Smart Bio”, 02-04 May 2019. – Kaunas, Lithuania

34. Міжнародної науково-практична конференція «Актуальні проблеми фізіології та біохімії тварин», присвячена 100-річчю факультету ветеринарної медицини НУБіП України та 100-річчю з дня народження професора В. В. Науменка. 28 травня 2019 р. – НУБіП України, Київ, 2019

35. XII Український біохімічний конгрес 30 вересня – 4 жовтня 2019, м. Тернопіль.

36. Міжнародна науково-практична конференція “Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту”. Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва. 31 жовтня 2019. – Біла Церква, 2019

37. Міжнародна науково-практична конференція “Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту”. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво. 31 жовтня 2019. – Біла Церква, 2019

38. Міжнародна науково-практична конференція “Новітні технології виробництва і переробки продукції тваринництва”. 20-21 листопада 2019. – Біла Церква, 2019

39. Multidisciplinary Conference for Young Researchers. 22nd November 2019. – Bila Tserkva, 2019.

40. Міжнародна весняна школа «На шляху до гарантування безпечності харчових продуктів: підходи у запровадженні та здійсненні Європейського контролю за безпечністю харчових продуктів», присвячених 100-річчю факультету ветеринарної медицини НУБіП, 28–29 квітня 2020.

41. Міжнародна науково-практична конференція «Фізіолого-біохімічні та технологічні аспекти тваринництва», присвячена 100-річчю створення кафедри хімії та 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, академіка Української Академії Наук, Нью-Йоркської Академії Наук, Російської Академії Ветеринарних Наук Кононського Олексія Івановича, 14–15 травня 2020 р., Біла Церква, Україна

42. 1st International Scientific and Practical Conference. «Animal welfare in the conditions of global climate change» April 21–22 Dnipro, Ukraine 2020

43. I міжнародна науково-практична інтернет-конференція , «Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах» 28-29 травня 2020 р, Дніпро

44. II міжнародна науково-практична конференція «Європейські виміри сталого розвитку» 26 червня 2020, Київ

45. Міжнародна науково-практична конференція «Проблеми виробництва екологічно чистої продукції тваринництва» присвячена 85-річчю створення кафедри технології кормів, кормових добавок і годівлі тварин Білоцерківського НАУ та 70-річному ювілею завідувача кафедри, доктора сільськогосподарських наук, професора Бомка Віталія Семеновича 25 вересня 2020 року, Біла Церква, Україна

46. Міжнародна науково-практична конференція «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток технологій тваринництва. Інноваційні підходи в харчових технологіях» Біла Церква, 30 жовтня 2020 р.

47. Міжнародна науково-практична конференція «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування: освіта – наука – виробництво». Біла Церква, 30 жовтня 2020 р.

48. XVIII International Scientific and Practical Conference «Theoretical and practical foundations of social process management», Boston, USA, 2020.

49. XIX International Scientific and Practical Conference «Scientific bases of solving of the modern tasks», Frankfurt am Main, Germany, 2020.

50. XX International Scientific and Practical Conference «Perspective directions for the development of science and practice», Athens, Greece 2020.

51. XXIII International Scientific and Practical Conference “Theoretical and practical foundations of social process management” 29–30 June, San Francisco, USA, 2020.

## Додаток В

### Міжнародна співпраця О.С. Цехмістренко

1. 29-30 жовтня 2019 року Міжнародні наукові семінари «Research and science workshop for young staff» в рамках спільного проекту #CULS та #БНАУ, #СумДУ, #СНАУ «Підтримка потенціалу молодих університетів в освіті, науково-дослідній та науковій діяльності в Україні» («Support of young university capacity in education and research and science activities in Ukraine»), який фінансується Чеською агенцією розвитку #CzDA. Експерт Чеського університету природничих наук: David Herak
2. Воркшоп для НПП «Introducing toolkit PERIF for supporting role of universities in region – act. 1.4.1.» в рамках україно-чеського проекту «University cooperation as a tool to enhance the quality of selected universities in Ukraine» та роботи Ресурсного центру зі сталого місцевого розвитку БНАУ. Експерти Чеського університету природничих наук: Jan Beseda and Michaela Smidova (робоча мова – англійська) 11-12.11.2019
3. Воркшоп для НПП «Project management: trips and tricks / HR Awards strategy» в рамках україно-чеського проекту «Interuniversity cooperation as a tool to enhance the quality of selected universities in Ukraine». Експерти Чеського університету природничих наук: Petra Chaloupkova and Olga Leuner. (робоча мова – англійська) 14-15.11.2019
4. Воркшоп для НПП «Transfer of know how of green office cooperate social responsibility of universities / Point-one - Transfer of know how regarding business incubators» в рамках україно-чеського проекту «Interuniversity cooperation as a tool to enhance the quality of selected universities in Ukraine». Експерти Чеського університету природничих наук: Jana Pulpanova and Petr Коресек (робоча мова – англійська) 28-29.11.2019

## Додаток Г Технічні умови

ДАТТ 10.91

УКІНД 65.129

Продовження наступного аркуша

**ПОГОДЖЕНО**

Зіставивши ДНДКІ ветеринарних препаратів та мікроелем. добавок, заводської фірми "Агріфарма", до ветеринарних препаратів професор

  
І. К. Косинський  
2017 р.

**ЗАТВЕРДЖЕНО**

Проректор ДНУ Біологічного факультету  
на пленумі засідання

  
2017 р.

**ДОБАВКА КОРМОВА БІОЛОГІЧНО АКТИВНА  
ДЛЯ СІЛЬСЬКО ГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН,  
ПТИЦІ ТА РИБИ  
ТЕХНІЧНІ УМОВИ  
ТУ У 10.9-00403712-001.2017**

Дата видачі копії \_\_\_\_\_  
Число пр. \_\_\_\_\_

**ПОГОДЖЕНО**

Заступник директора ДНДКІ ветеринарних та мікроелем. добавок з питань державного забезпечення стандартів, сертифікації і державного контролю у ветеринарії, х.с.-с.н.

  
Т. Р. Леняшин  
2017 р.

**ГОДРОКІЕНО**

Доктор біологічних наук,

  
М. В. Свіятич  
2017 р.

Доктор с.-с. наук

  
С. М. Мельниченко  
2017 р.

Доктор с.-с. наук

  
В. С. Бутківський  
2017 р.

Продовження на наступному аркуші

Доктор біологічних наук,

  
Л. М. Дзаренко  
2017 р.

Доктор вет. наук.

  
І. М. Кучин  
2017 р.

Канд. с.-с. наук

  
О. А. Оняш  
2017 р.


Канд. біологічних наук

  
Н. П. Пonomarev  
2017 р.

Канд. с.-с. наук

  
В. М. Хришч  
2017 р.

Канд. біологічних наук

  
Н. В. Кравченко  
2017 р.

Канд. с.-с. наук

  
О. С. Шаховський  
2017 р.

Канд. біологічних наук

  
І. П. Кобенко  
2017 р.

Канд. с.-с. наук

  
Ю. О. Мельниченко  
2017 р.

Канд. с.-с. наук

  
О. А. Дзюрав  
2017 р.

ДКП 10.91

УКНД 45.120

## ПОГОДЖЕНО

Директор ДНУЕТ ветеринарних  
препаратів та кормових добавок,  
д. вет. наук, к. мед. наук,  
академік НААН

*[Signature]*  
2018 рік



і титульного аркуша

Доктор сільськогосподарських наук

*[Signature]* В.С. Бігунський  
" " " 2018 рік

Кандидат ветеринарних наук

*[Signature]* В.М. Золотко  
" " " 2018 рік

Кандидат біологічних наук

*[Signature]* Н.О. Тимошук  
" " " 2018 рік

Доктор ветеринарних наук

" " " 2018 рік  
В.О. Величко

Доктор сільськогосподарських наук

*[Signature]* С.І. Цехмістренко  
" " " 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук

*[Signature]* Ю.С. Мельничук  
" " " 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук

*[Signature]* Н.М. Харитоненко  
" " " 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук

*[Signature]* О.А. Шевчук  
" " " 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук

*[Signature]* О.С. Цехмістренко  
" " " 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук

*[Signature]* І.І. Верса  
" " " 2018 рік

Зміна № 1  
ДОБАВКА КОРМОВА "НАНОЦЕРІП"  
ТУ У 10.9-2960512007-003:2013

Дата введення чинності

## ПОГОДЖЕНО

Заступник директора ДНУЕТ  
ветеринарних препаратів та  
кормових добавок, кандидат  
сільськогосподарських наук

*[Signature]* Т.В. Довганько  
2018 рік

## ЗАТВЕРДЖУЮ

Філія особи підприємства  
*[Signature]* О.А. Демчиш  
" " " 2018 рік

Директор підприємства  
*[Signature]* С.В. Сірик  
" " " 2018 рік

Кандидат біологічних наук  
*[Signature]* Н.М. Жолотко  
" " " 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук  
*[Signature]* О.Б. Шербань  
" " " 2018 рік

Доктор хімічних наук  
" " " 2018 рік  
О.В. Іванів

Доктор с.-г. наук  
*[Signature]* О.М. Мельничук  
" " " 2018 рік

Продовжити на наступному аркуші



ДКНП 10.91

УКНД 65.120

**ПОГОДЖЕНО**  
 Директор ДНУДІ ветеринарних препаратів та ветеринарних добавок, з вет. наук, професор академік НААН  
 Т. Я. Коженко  
 2018 рік

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
 Голова ДНУДІ ветеринарних препаратів та ветеринарних добавок  
 Т. Я. Коженко  
 2018 рік

штукового аркуша

Доктор сільськогосподарських наук  
 С.І. Цехмістренко  
 « » 2018 рік

Кандидат ветеринарних наук  
 В.М. Золотко  
 « » 2018 рік

Провідний інженер  
 Л.І. Бабенко  
 « » 2018 рік

Провідний інженер  
 В.В. Мокрошуб  
 « » 2018 рік

Доктор ветеринарних наук  
 В.І. Музика  
 « » 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук  
 Ю.О. Мельниченко  
 « » 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук  
 В.М. Харчишин  
 « » 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук  
 О.С. Цехмістренко  
 « » 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук  
 О.А. Овечко  
 « » 2018 рік

Кандидат сільськогосподарських наук  
 П.І. Веред  
 « » 2018 рік

Звіля № 1  
**ДОБАВКА КОРМОВА "ЛАКТОКАС"**  
 ТУ У 10.9-2960512007-001:2013

Дата підпису чинності

**ПОГОДЖЕНО**  
 Заступник директора ДНУДІ ветеринарних препаратів та ветеринарних добавок, кандидат сільськогосподарських наук  
 Т. Я. Лемчишин  
 2018 рік

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
 Голова ДНУДІ ветеринарних препаратів та ветеринарних добавок  
 Т. Я. Лемчишин  
 2018 рік

Доктор ветеринарних наук  
 Т. Я. Коженко  
 2018 рік

Доктор біологічних наук  
 Д. М. Пеларіан  
 2018 рік

Кандидат біологічних наук  
 Н. О. Тимощук  
 2018 рік

Доктор с.-г. наук  
 О. Н. Мельниченко  
 2018 рік

Доктор с.-г. наук  
 В. С. Битирман  
 2018 рік

Примітки до звіту: немає





100 UA

(11) 135635

(86) АПК (2018.01)  
 АЗК 18/00  
 АЗК 20/19 (2018.01)  
 АЗК 58/19 (2018.01)

(21) Номер заявки: м 2018 01637  
 (22) Дата подання заявки: 04.02.2018  
 (24) Дата публікації заявки згідно з правилами патентного права (на корисні моделі): 18.07.2019  
 (46) Дата публікації заявки згідно з правилами патентного права (на корисні моделі): 18.07.2019, Бюл. № 12

(70) Заявники:  
 Євдоким Володимир  
 Савченко, UA,  
 Христенко Дмитро  
 Миколайович, UA,  
 Мельниченко Олександр  
 Миколайович, UA,  
 Степан Микола Радван, UA,  
 Тимощук Нічирів  
 Олександрівна, UA,  
 Цимістрюк Олександр  
 Сергійович, UA,  
 Мельниченко Юрій  
 Олександрович, UA,  
 Цимістрюк Світлана  
 Іванівна, UA,  
 Олександр Олександр  
 Авантикович, UA

(72) Автор:  
 ВИЩЕОБРАЗОВНИЙ  
 НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ  
 УНІВЕРСИТЕТ  
 вулиця Сабуров, 87, м. Київ,  
 Львівська, Київська обл., 01117,  
 UA

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ЕФЕКТИВНОГО ЗАСТОСУВАННЯ НОВИХ ФОРМ СІЛЕНУ У ПЕРЕКЛІВНИЦІВІ

(57) Короткий зміст корисної моделі:

Один з варіантів застосування нових форм сілену в переклівницях, що містить використання сілену у вигляді гранулату, який відраховується від загальної ваги заповнювача сілену в дозаторі сілену (100000), м. т.р. (вага гранулату дозатора) об'ємом сілену в дозаторі до заповнення у дозу 0,1 г/т.



(10) UA		(11) 135682	(12) МКК (2019.01) А23К 15/00 А23К 25/00
(21) Номер заявки:	а 2019 01381	(72) Ізоботники: Вікторія Вікторівна Семикова, UA, Харченко Віктор Миколайович, UA, Мельниченко Олександр Миколайович, UA, Сірий Микола Романович, UA, Цехмістренко Сергієм Іванович, UA, Тимошенко Наталія Олександрівна, UA, Мельниченко Юлія Олександрівна, UA, Цехмістренко Оксана Сергіївна, UA, Степанюк Олександр Анатолійович, UA, Поліщук Віталій Миколайович, UA	(73) Заявник: НАЦІОНАЛЬНИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, площа Соборна, 8/1, м. Київ, Україна, Київська обл., 08117, UA
(22) Дата подання заявки:	11.02.2019		
(24) Дата входу в силу закону про права на винаходи:	10.07.2019		
(40) Дата публікації патенту згідно з правилами патентного законодавства:	10.07.2019, згідно з правилами патентного законодавства, № 13		
(54) Назва винаходу:	СПОСІБ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО ОБ'ЄМУ У ПЕРИОДІВІ		
(57) Формула винаходу:	Спосіб інтенсифікації біологічного об'єму у періодів, що визначає задовуючі параметри, для здійснення чим, що характеризується тим, що він включає етапи: а) вибірку біологічного об'єму з загальної маси		

Додаток Е  
Рекомендації виробництву

Білоцерківський національний аграрний університет

**О.С. Цехмістренко**

**Рекомендації по використанню  
кормової добавки біотехнологічного  
походження з метою підвищення  
продуктивності перепелів**



Біла Церква  
2020

Білоцерківський національний аграрний університет

**О.С. Цехмістренко**



**Рекомендації щодо використання  
наноцерію у годівлі курчат-бройлерів  
та курей-несучок**



Біла Церква

2017

## Додаток Є

## Склад та поживність комбікормів

## Склад комбікорму для молодняку та дорослих перепелів

Показники	Рецепт	
	1	2
	1–4 тиждень	5–10 тиждень
Склад ( %):		
Дерть кукурудзяна	24	21
Дерть пшенична	23	22
Дерть ячмінна	–	10
Дерть горохова	20	20
Шрот соєвий	10	5
Шрот соняшниковий	11	10
Рибне борошно	6,1	6,0
Дріжджі	2	2
Крейда	1,9	2
Сіль	1	1
Премікс	1	1
<b>Всього:</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
У 1 кг міститься:		
Обмінної енергії, МДж	1,281	1,144
Сирий протеїн, г	259,3	207,4
Сирий жир, г	25,8	39,1
Сира клітковина, г	64,3	55,2
Кальцій, г	12,1	39,3
Фосфор, г	8,2	13,3

**Рецепти комбікормів для курчат-бройлерів у різні вікові періоди вирощування, %**

Компоненти	Вік курчат-бройлерів, діб			
	1–4	5–21	22–35	36–42
Кукурудза	40	42	43	45
Пшениця	17	15	14	21
Макуха соєва	37	32	29	18
Макуха соняшникова	–	6	9	11
Олія соняшникова	1	–	–	–
Премікс	5	5	5	5



**Рецепти комбікормів для курей-несучок у різні вікові періоди  
вирощування, %**

Компоненти, %	Вік птиці, тижні			
	1–4	5–8	9–17	18–47
Пшениця	30	30	35	30
Ячмінь	3	9	9	7
Кукурудза	30	25	30	25
Макуха соняшникова	5	10	5	10
Макуха соєва	25	20	15	15
Премікс	5	5	5	5
Соєва олія	2	1	1	2
Борошно вапнякове	-	-	-	6
Разом	100	100	100	100

**Додаток Ж**  
**Акти про впровадження**

**ПОГОДЖУЮ**

Проректор Національного університету біоресурсів та природокористування України з науково-педагогічної роботи, доктор філологічних наук, професор, заслужений працівник освіти України

  
В. Д. Шинкарук

« 14 » 04 2021 р.

**ЗАТВЕРДЖУЮ:**

Проректор Національного університету біоресурсів та природокористування України з наукової роботи та інноваційної діяльності, кандидат сільськогосподарських наук, доцент

  
В. М. Кондратюк

« 14 » 04 2021 р.

**АКТ**

**про впровадження/використання результатів докторської дисертаційної роботи у навчальний процес**

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками селену та діоксиду церію у птахівництві», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, виконаною Цехмістренко Оксаною Сергіївною, впроваджено у навчальну програму при викладанні розділів дисциплін «Фізіологія тварин» та «Біохімія тварин» на кафедрі біохімії і фізіології тварин ім. акад. М. Ф. Гулого Національного університету біоресурсів та природокористування України у підготовці фахівців ОС «Магістр» за освітньо-професійними програмами:

– «Ветеринарна медицина», спеціальність 211 «Ветеринарна медицина», галузь знань 21 «Ветеринарна медицина»;

– «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза», спеціальність 212 «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза», галузь знань 21 «Ветеринарна медицина»;

– «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», спеціальність 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», галузь знань 20 «Аграрні науки та продовольство».

Декан факультету ветеринарної медицини,  
д.біол.н., професор, академік НААН України

  
М. І. Цвіліховський

Завідувач кафедри біохімії  
і фізіології тварин ім. акад. М.Ф. Гулого,  
д.вет.н., професор, академік АНВО України

  
В. А. Томчук

Затверджую

Проректор з наукової роботи та  
інноваційного розвитку

Л. Д. Романчук

(підпис)

(Прізвище, ініціали)

Р.

М. П.

## А К Т

про впровадження/використання результатів  
докторської дисертаційної роботи у навчальний процес

Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи Цехмістренко Оксани Сергіївни на тему: «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками Селену та діоксиду церію у птахівництві», яка представлена на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, впроваджено у навчальний процес під час читання лекцій та проведення лабораторних занять з дисциплін: «Патолого-анатомічна діагностика тварин» та «Патоморфологія отруєнь» при підготовці фахівців освітнього ступеня «Магістр» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» і використовуються у науково-дослідній роботі кафедри анатомії і гістології факультету ветеринарної медицини Поліського національного університету.

Директор НН тваринництва та  
ветеринарії, доктор ветеринарних наук,  
професор

Л.П. Горальський

Декан факультету ветеринарної медицини,  
кандидат ветеринарних наук, доцент

А.С. Ревунець

Завідувач кафедри анатомії і гістології,  
доктор ветеринарних наук,  
професор

Л.П. Горальський

**ЗАТВЕРДЖУЮ:**

Проректор з наукової роботи Таврійського  
державного агротехнологічного університету  
імені Дмитра Моторного

професор  О.А. Єременко

«» лютого 2021 року

**КАРТКА ЗВОРОТНЬОГО ЗВ'ЯЗКУ**

Викладені в інформаційному листі здобувача Цехмістренко Оксани Сергіївни матеріали докторської дисертації за темою «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками селену та діоксиду церію у птахівництві» використовуються в навчальному процесі при викладанні курсу «Основи біотехнології», а також у наукових дослідженнях кафедри плодоовочівництва, виноградарства та біохімії Таврійського державного агротехнологічного університету імені Дмитра Моторного.

Матеріали розглянуті та затверджені на засіданні кафедри ПВБ (протокол № 8 від 19.02.2021 р. ).

Завідувач кафедри, канд. с.-г наук,  
доцент



М.О. Колесніков

Підписано  
Начальник ПП  Терешенко





Затверджую:  
 Директор ПП «ВІЛІЯ»  
 С.Г. Нічик

### АКТ

про впровадження впливено впливу різних форм селену  
 на господарські показники перепелів породи «Фараон»

Ми, що нижче підписалися, технолог Закрасняна Наталія Григорівна, ветеринарний лікар Папченко Ігор Борисович, оператор Сизоненко Олена Миколаївна, докторант кафедри екології та біотехнології Білоцерківського національного аграрного університету Цехмістренко Оксана Сергіївна стверджуємо, що впродовж вересня 2019 року в умовах птахогосподарства ПП «Вілія» було проведено виробничу перевірку впливу різних форм селену на господарські показники перепелів породи «Фараон».

Розрахунки показників економічної ефективності використання комбікормів із різними добавками зроблено за цінами 4-го кварталу 2019 р.

Проведені дослідження свідчать (табл. 1), що використання комбікормів із селенітом натрію, селенітом натрію та наноселеном у комбінації із пробіотиком *L. Plantarum* не однаково позначилось на виробничих показниках.

Згодовування комбікормів з досліджуваними добавками за вирощування перепелів сприяло зростанню збереженості поголів'я птиці на 3,3%, 5% та 6,6% у 2-й, 3-й та 4-й групах відповідно та аналогічно передзабійної маси 1-ї голови на 4,14%, 7,59% та 11,83% порівняно із контрольною групою, що отримувала стандартний раціон.

Унаслідок збільшення середньодобових приростів та обсягів валового виробництва продукції затрати комбікорму на 1 кг приросту живої маси у дослідних групах на 2,32%, 4,38% та 1,08% були меншими за контрольні показники. Додавання препаратів селену та пробіотику дещо підвищили партієть комбікорму та загальні витрати на виробництво м'яса перепелів, однак внаслідок збільшення маси реалізованих тушок отримано коштів на 9,24%, 14,13% та 21,2% більше.

Здійснені розрахунки показати, що собівартість 1 кг патраної тушки перепелів була нижчою у дослідних групах на 3,42%, 5,13% та 6,5% порівняно із контролем. Використання комбікормів із препаратами селену та пробіотиком дозволило збільшити прибуток від реалізації м'яса перепелів на 27,36%, 41,97% та 62,55%, а рентабельність виробництва м'яса птиці – від 33,45% до 39,0%, 41,61% та 44,88% відповідно. Таким чином прибуток на одну голову зріс на 22,86%, 34,05 та 51,45%.

Використання різних форм Селену та пробіотику у годівлі молодяку перепелів позитивно впливає на їх продуктивність та збереження.

Таблиця 1. – Економічна ефективність виробництва м'яса перепелів породи фараон за використання препаратів селену та пробіотику

Показник	Група			
	1	2	3	4
Посаджено перепелят на вирощування, голів	1000	1000	1000	1000
Здано на забій, голів	900	933	950	966
Збереженість поголів'я, %	90	93,3	95	96,6
Перед забійна маса 1 голови, г	202,9	211,3	218,3	226,9
Забійний вихід, %	78,97	79,91	79,36	79,71
Маса тушки, г	160,23	168,84	173,25	180,87
Затрати корму на 1 кг приросту, кг	3,88	3,79	3,71	3,67
Загальні витрати комбікорму, кг	637,12	647,82	647,72	666,18
Вартість 1 т комбікорму, грн.	10000	10000	10000	10000
Вартість використаних добавок селену та пробіотику, грн.		0,35	1,35	1,36
Вартість добового молодняку, грн	8000	8000	8000	8000
Загальні витрати на вирощування перепелів, грн.	8637,12	8648,14	8649,05	8667,53
Загальна маса патраних тушок, кг	144,217	157,53	164,59	174,72
Вартість реалізації 1 кг патраної тушки, грн	90	90	90	90
Всього одержано коштів від реалізації патраних тушок, грн	12978,63	14177,49	14812,88	15724,84
Собівартість 1 кг патраної тушки, грн.	9,6	9,27	9,1	8,97
Прибуток, грн.	4341,51	5529,36	6163,83	7057,31
Рівень рентабельності, %	33,45	39,0	41,61	44,88

Згодовування комбікорму перепелам із введенням біогенного наноселену та пробіотику є найбільш ефективним з огляду на ріст та продуктивність молодняку перепелів породи фараон у період вирощування 1–35 діб (підвищення передзабійної маси тіла перепелів на 11,8 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з контрольною групою, збільшення показника збереженості поголів'я до 96,6 % та зменшення витрат корму на 1 кг приросту маси тіла на 5,4 %).

Технолог ПП «Вілія»  Н.Г. Закрасняна

Ветеринарний лікар «Вілія»  І.Б. Павченко

Оператор «Вілія»  О.М. Сизоненко

Докторант кафедри екології та біотехнології Білоцерківського

національного аграрного університету  О.С. Цехмістренко

ЗАТВЕРДЖУЮ:  
 Директор  
 ННЦ ВНАУ  
 Марія Сидоренко, доцент  
 П.І. Кузьменко  
 2019 р.



**АКТ**  
**про впровадження (використання) результатів**  
**докторської дисертаційної роботи**

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему «Біотехнологія одержання та використання пробіотиків з наночастинками Селену та діоксиду церію у птахівництві», яка представлена на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, виконаною Цехмістренко Оксаною Сергіївною впроваджено у виробництво сільськогосподарського підприємства ННЦ Білоцерківського національного аграрного університету.

**Вид впроваджених результатів:** нанодисперсний діоксид церію та спосіб його застосування для стимуляції росту, покращення рівня збереженості, зменшення затрат корму, покращення якості продукції та активізації метаболічних процесів за вирощування курчат-бройлерів та курей-несучок.

**Новизна отриманих результатів.** Розроблено принципово новий спосіб регулювання метаболічних процесів шляхом додавання препаратів нанодисперсного діоксиду церію для курчат-бройлерів та курей-несучок та встановлено оптимальну схему.

**Практичне впровадження / використання результатів.** Впровадження відбулося в умовах виробництва у навчально-науково дослідному центрі Білоцерківського національного аграрного університету.

**Значущість отриманих результатів.** Додавання препаратів нанодисперсного діоксиду церію сприяє підвищенню інтенсивності росту та розвитку курчат-бройлерів та курей-несучок, і, як результат, покращенню рентабельності виробництва яєць і м'яса птиці та отриманню екологічно чистої продукції тваринного походження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Наукова робота є частиною комплексних програм науково-дослідних робіт Міністерства науки і освіти України: "Вплив різних фізико-хімічних чинників на біохімічні процеси в організмі тварин та птиці" (№ держресстрації 0115U005335), що виконується в НДІ екології та біотехнології, а також

кафедри хімії Білоцерківського національного аграрного університету впродовж 2016–2021 років. Окремі дослідження виконані у рамках комплексної фундаментальної програми НАН України “Перспективні фундаментальні дослідження та інноваційні розробки наноматеріалів і нанотехнологій для потреб промисловості, охорони здоров’я та сільського господарства” на 2020–2024 рр., що проводяться разом з дослідниками Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (відділ проблем інтерферону і імуномодуляторів) у межах теми “Розроблення наукових основ біотехнології отримання безпечних селеновмісних пробіотичних препаратів для підвищення продуктивності та збереження поголів’я птиці” (шифр: 53/20-Н) (№ держреєстрації 0120U102297).

Науковий консультант,

завідувач кафедри екології та біотехнології БНАУ  
професор

 В.С. Бітюцький

Доцент, докторант кафедри екології та  
біотехнології БНАУ

 О.С. Цехмістренко

Доцент кафедри екології та  
біотехнології БНАУ

 В.М. Харчишин

Старший лаборант кафедри екології та  
біотехнології БНАУ

 В.В. Паламарчук



### Додаток 3 Акти проведення дослідів

"ЗАТВЕРДЖЕНО"  
Директор Інституту  
мікробіології і вірусології  
ім. Д.К.Заболотного  
НАН України  
шлях. НАН України  
*В.С. ПІДГОРСЬКИЙ*  
2020 р.

"ЗАТВЕРДЖЕНО"  
Ректор Білоцерківського  
Національного аграрного  
Університету  
*А.С. ДАНИЛЕНКО*  
2020 р.

#### ДОГОВІР

про науково-практичне співробітництво між  
Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного  
НАН України (ІМВ) та «Білоцерківський Національний Аграрний  
Університет» («БНАУ»), що далі разом іменуються як «сторони»

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України (у подальшому "ІМВ") в особі директора ПІДГОРСЬКОГО ВАЛЕНТИНА СТЕПАНОВИЧА, який діє на підставі Статуту Інституту, з однієї сторони та «Білоцерківський національний аграрний університет» (у подальшому "БНАУ") в особі ректора, ДАНИЛЕНКА АНАТОЛІЯ СТЕПАНОВИЧА, що діє на підставі Статуту БНАУ, з другої сторони, уклали цей Договір з метою співпраці щодо отриманих у ІМВ селеновмісних пробіотичних препаратів та проведення порівняльного аналізу впливу нових форм селену у комплексі з пробіотиками у перепелівництві.

#### 1. Загальні положення.

1.1. Договір укладено з метою виконання спільних науково-дослідних робіт, програм і проектів та організацію підготовки аспірантів, кандидатів і докторів наук в галузі біомедицини, мікробіології, вірусології, імунології та біотехнології.

1.2. Договір базується на наявному досвіді спільної діяльності сторін, зокрема участі у виконанні спільних наукових проектів.

1.3. Спільна діяльність сторін передбачає:

- а) розробку та виконання спільних науково-дослідних робіт;
- б) розроблення наукових основ біотехнології отримання безпечних, селеновмісних пробіотичних препаратів та біогенного наноселену для підвищення продуктивності та збереження поголів'я птиці,
- г) спільне впровадження результатів науково-дослідних робіт;



### АКТ

щодо проведення науково-господарського дослідження по вивченню впливу різних форм селену на господарські показники перепелів породи «Фараон»

Ми, що нижче підписалися, технолог Закрасіяна Наталія Григорівна, ветеринарний лікар Панченко Ігор Борисович, оператор Сизоненко Олена Миколаївна, докторант кафедри екології та біотехнології Білоцерківського національного аграрного університету Цехмістренко Оксана Сергіївна стверджуємо, що впродовж квітня-червня 2017 року в умовах птахогосподарства ПП «Вілія» було проведено науково-господарський дослід щодо вивчення впливу різних форм селену на господарські показники перепелів породи «Фараон».

З цією метою добовому віці було відібрано 240 пташенят і за методом аналогів розподілено на 4 групи – контрольну і три дослідні по 60 голів у кожній (табл. 1).

Таблиця 1. Схема науково-господарського дослідження

Група	Поголів'я птаці, кількість особин	Особливості годівлі малодняку перепелів у період 1–35 днів
1 – контрольна	60	ОР (основний раціон)
2 – дослідна	60	ОР + 0,3 мг/кг $\text{Na}_2\text{SeO}_3$
3 – дослідна	60	ОР + 0,3 мг/кг $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ + Пробиотик ( $2,5 \times 10^9$ КУО на голову/добу)
4 – дослідна	60	ОР + 0,3 мг (SeNPs)/ кг корму + Пробиотик ( $2,5 \times 10^9$ КУО на голову/добу)

Тривалість дослідження становила 35 днів з поділом на 5 підперіодів по 7 днів. Птиця отримувала поживний комбікорм, до якого методом багатоступеневого змішування додавали пробіотик, селеніт натрію та біогенний наноселен. Дозування пробіотику та препаратів селену, наведених у таблиці 1, відповідають встановленим ефективним кількостям за попередніми науковими дослідженнями. Пробиотик *L. Plantarum* та біогенний наноселен для дослідження були надані відділом проблем інтерферону і імуномодуляторів інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

У досліді вивчали масу тіла птиці, споживання корму, збереженість поголів'я, обраховували прирости маси та витрати корму на 1 кг приросту. Біометричне опрацювання отриманих результатів здійснювали за стандартними методиками.

**Таблиця 2.** Маса перепелів у контролі та у разі додавання різних форм Селену

Вік, дні	Контроль	2 група	3 група	4 група
1	8,59	8,55	8,47	8,4
7	27,59	27,91	28,75	30,28
14	68,82	73,65	76,31	78,32
21	121,3	129,8	133,6	137,6
28	161,9	171,4	176,1	181,2
35	203,2	213,4	219,3	227,7

#### ВИСНОВКИ

1. Додавання пробіотичних добавок до кормів підвищує біодоступність поживних речовин, стан здоров'я, імунітет, продуктивність та збереження птиці.

2. Введення препаратів не викликало етологічних, клінічних змін та захворювання перепелів.

Технолог ПП «Вілія»  Н.Г. Закрасняна  
 Ветеринарний лікар «Вілія»  І.Б. Панченко  
 Оператор «Вілія»  О.М. Сизоненко  
 Докторант кафедри екології та біотехнології Білоцерківського  
 національного аграрного університету  О.С. Цехмістренко

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Директор

ННЦ БНАУ

Олександр С. Г. Яаус, доцент

П.І. Кузьменко

2019 р.

**АКТ**

**щодо проведення науково-господарського дослідження з  
вивчення ефективності використання наночастинок  
діоксиду церію у вирощуванні курей-несучок**

Ми, що нижче підписалися, доцент, докторант кафедри екології та біотехнології БНАУ О.С. Цехмістренко, завідувач кафедри екології та біотехнології БНАУ професор В.С. Бітюцький, доцент кафедри екології та біотехнології В.М. Харчишин, старший лаборант кафедри екології та біотехнології БНАУ В.В. Паламарчук стверджуємо, що в умовах виробництва був проведений науково-господарський дослід щодо вивчення ефективності використання наночастинок діоксиду церію у вирощуванні курчат-бройлерів.

З цією метою в умовах навчального науково-дослідного центру БНАУ було сформовано 3 групи курей-несучок кросу Lohmann Brown – контрольна та 2 дослідні по 100 голів у кожній. Курі утримувались при вільному доступу до корму і води. Основні параметри мікроклімату відповідали зоотехнічним нормам. Вік птиці на початку дослідження складав 26 тижнів. Формування груп проводилось по методу груп-аналогів. Впродовж 22 тижнів дослідну групу періодично випоювали препаратом 0,05 мМ розчином нанодисперсного діоксиду церію за схемою.


Схема науково-господарського дослідження по вивченню впливу  
нанодисперсного діоксиду церію на курей-несучок

Група	Кількість птиць	Схема годівлі	Доза, інтервал
1 група Контрольна	100	ОР (основний раціон)	–
2 група Наноцерій	100	ОР + нанодисперсний діоксид церію	0,05 мМ р-н із 7-денною перервою
3 група Наноцерій	100	ОР + нанодисперсний діоксид церію	0,05 мМ р-н із 14-денною перервою


Проведені дослідження свідчать, що використання наноцерію поліпшує господарські показники виробництва м'яса курчат.

За використання нанодисперсного діоксиду церію встановлено, що яєчна продуктивність курей-несучок збільшилась на 11,4 %, кількість яєчної маси, одержаної від однієї несучки збільшилась на 9,6 %, собівартість яєць знизилась на 16,2 %. При цьому збереженість поголів'я птиці зросла на 4 %, що сприяло підвищенню рентабельності виробництва на 11,6 %.

Висновок. Використання нанодисперсного діоксиду церію у годівлі курей-несучок позитивно впливає на їх продуктивність та сприяє підвищенню економічної ефективності виробництва.

Доцент, докторант кафедри екології та  
біотехнології БНАУ 


О.С. Цехмістренко

Завідувач кафедри екології та біотехнології БНАУ  
професор 

В.С. Бітюцький

Доцент кафедри екології та  
біотехнології БНАУ 

В.М. Харчишина

Старший лаборант кафедри екології та  
біотехнології БНАУ 

В.В. Паламарчук

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Директор

ІНСТИТУТУ

О.С. Цехмістренко, доцент

П.І. Кузьменко

2019 р.



**щодо проведення науково-господарського дослідження з вивчення ефективності використання наночастинок діоксиду церію у вирощуванні курчат-бройлерів**

Ми, що нижче підписалися, доцент, докторант кафедри екології та біотехнології БНАУ О.С. Цехмістренко, завідувач кафедри екології та біотехнології БНАУ професор В.С. Бітюлькний, доцент кафедри екології та біотехнології В.М. Харчишин, старший лаборант кафедри екології та біотехнології БНАУ В.В. Паламарчук стверджуємо, що в умовах виробництва був проведений науково-господарський дослід щодо вивчення ефективності використання наночастинок діоксиду церію у вирощуванні курчат-бройлерів.

З цією метою в умовах навчального науково-дослідного центру БНАУ було сформовано 3 групи курчат-бройлерів кросу Ross 308 – контрольна та 2 дослідні по 1000 голів у кожній. Бройлери утримувались у кліткових батареях БКН-3 при вільному доступу до корму і води. Основні параметри мікроклімату відповідали зоотехнічним нормам. Визначення живої маси бройлерів проводилось щотижня індивідуальним зважуванням. Впродовж 58 днів дослідним групам додавали препарат нанодиспереного діоксиду церію перорально з питною водою у дозі 8,6 мг/дм<sup>3</sup> впродовж перших 14 днів, після 7-ми (2 група Наноцерій) та 14-ти (3 група Наноцерій) денної перерви куре повторювали.

Проведені дослідження свідчать, що використання наноцерію поліпшує господарські показники виробництва м'яса курчат.

Так, використання наноцерію за вирощування курчат-бройлерів сприяло зростанню збереженості поголів'я птиці на 1,0–2,5 %. При цьому передзабійна маса курчат збільшилася на 3,45 % (2 група) та 6,49 % (3 група) порівняно із контрольною групою, яка отримувала стандартний раціон. Додавання наноцерію внаслідок впливу на метаболічні процеси в організмі птиці, сприяло зниженню конверсії корму на 4,2–8,3 %. Унаслідок збільшення середньодобових приростів та обсягів валового виробництва продукції затрати комбікорму на 1 кг приросту живої маси у дослідних групах на 4,19 та 8,38 % були меншими за контрольні показники. Здійшені розрахунки показали, що собівартість 1 кг патрної тушки курчат була нижчою у дослідних групах на 1,74 та 2,14 % порівняно із контролем. Використання наноцерію дало змогу збільшити прибуток під реалізації м'яса курчат на 7,59 та 14,97 %, а рентабельність виробництва м'яса птиці зроста на 1,14–2,15 %. Прибуток на одну голову зріс на 6,44 та 11,97 %. Проведена виробнича перевірка

встановила, що за однакової реалізаційної ціни на продукцію, використання комбікормів з додаванням наночерію позитивно впливає на збереженість поголів'я, підвищує передзабійну масу і масу тушки, знижує витрати корму, внаслідок чого зростає прибуток та рівень рентабельності виробництва м'яса.

Таблиця 1 – Економічна ефективність виробництва м'яса курчат-бройлерів за використання наночастинок діоксиду церію впродовж 14-ти днів із семиденною (група 2) та 14-денною (група 3) перервою

Показник	Група		
	1	2	3
Посаджено курчат на вирощування, голів	1000	1000	1000
Здано на забій, голів	933	943	958
Збереженість поголів'я, %	93,3	94,3	95,8
Перед забійна маса 1 голови, г	3058,3	3163,8	3256,7
Забійний вихід, %	71,21	72,23	72,89
Маса тушки, г	2177,8	2285,2	2373,8
Затрати корму на 1 кг приросту, кг	2,15	2,06	1,97
Загальні витрати комбікорму, кг	4368,56	4439,18	4479,98
Вартість 1 т комбікорму, грн.	11100	11100	11100
Вартість використаних добавок, грн.	–	4,39	4,39
Вартість добового молодняка, грн	17000	17000	17000
Загальні витрати на вирощування курчат, грн.	21397,37	21467,06	21500,94
Загальна маса патраних тушок, кг	2031,89	2154,94	2274,1
Вартість реалізації 1 кг патраної тушки, грн	50	50	50
Всього одержано коштів від реалізації патраних тушок, грн	101594	107747	113705
Собівартість 1 кг патраної тушки, грн.	22,93	22,76	22,44
Прибуток, грн.	80197	86280	92204
Рівень рентабельності, %	78,94	80,08	81,09

Висновок. Використання нанодисперсного діоксиду церію у годівлі курчат-бройлерів позитивно впливає на їх продуктивність та сприяє підвищенню економічної ефективності виробництва.

Доцент, докторант кафедри екології та біотехнології БНАУ



О.С. Печмістренко

Завідувач кафедри екології та біотехнології БНАУ  
професор



В.С. Бітюцький

Доцент кафедри екології та біотехнології БНАУ



В.М. Харчишин

Старший лаборант кафедри екології та біотехнології БНАУ



В.В. Паламарчук