

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені В.Н.КАРАЗІНА

Біологічний факультет
Кафедра молекулярної біології та мікробіології

**ВИВЧЕННЯ СКЛАДУ ЕКЗАМЕТОБОЛИТІВ *BACILLUS SUBTILIS* ТА
МОЖЛИВІСТЬ ЇХ ВИКОРИСТАННЯ У ГІГІЄНИЧНИХ ЗАСОБАХ**

Допущена до захисту
«__»_____ 2024 р.

Кваліфікаційна робота
бакалавра кафедри
Молекулярної біології та біотехнології
Гулі Вікторії Олегівни

Завідувач кафедри

Оцінка «_____»
Голова ЕК _____
«__»_____ 2024 р.

Науковий керівник:
Леухіна Л.В.

Харків 2024

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота на тему: «Вивчення складу метаболитів *Bacillus Subtilis* та можливість їх використання у гігієнічних засобах»

Дипломна робота присвячена вивченню складу метаболитів *Bacillus Subtilis* та оцінки можливості їх використання у гігієнічних засобах . У роботі представлено огляд літератури щодо властивостей *Bacillus Subtilis*, впливу екзаметаболитів *Bacillus Subtilis* на шкіру, вивчення характеристик екзаметаболитів та можливості їх використання

Основна увага приділена вивченню впливу екзаметаболитів на шкіру, антимікробній активності екзаметаболитів

Робота включає 59 сторінок, 6 рисунків, 59 використаних джерел.

Ключові слова : *екзаметаболіти ,Bacillus Subtilis , антимікробні властивості*

ABSTRACT

Qualification work on the topic: "Study of the composition of *Bacillus Subtilis* metabolites and the possibility of their use in hygiene products"

The thesis is devoted to the study of the composition of *Bacillus Subtilis* metabolites and the assessment of the possibility of their use in hygiene products. The work presents a literature review on the properties of *Bacillus Subtilis*, the effect of exometabolites of *Bacillus Subtilis* on the skin, the study of the characteristics of exometabolites and the possibility of their use

The main attention is paid to the study of the effect of exometabolites on the skin, the antimicrobial activity of exometabolites

The work includes 59 pages, 6 figures, 59 references.

Key words: *exometabolites, Bacillus Subtilis, antimicrobial properties*

ЗМІСТ

ВСТУП

РОЗДІЛ I. Вивчення біологічних властивостей бактерій роду *BACILLUS*.....

1.1. Загальна характеристика ризосферних спорових бактерій *Bacillus subtilis*.....

1.3. Потенціал використання бактерій роду *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах (описати принцип біологічної домінації).....

РОЗДІЛ II. АНАЛІЗ СКЛАДУ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ *BACILLUS SUBTILIS*.....

2.1. Бактерії роду *Bacillus* - мікрофабрики корисних речовин. Описати амінокислотний склад, вітаміни, ферменти.....

2.2. Вплив екзаметаболітів *Bacillus subtilis* на шкіру.....

РОЗДІЛ III. МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ *BACILLUS SUBTILIS* У ГІГІЄНІЧНИХ ЗАСОБАХ.....

ВИСНОВКИ

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

ВСТУП

Вивчення складу екзометаболітів *Bacillus subtilis* та їх потенційне використання у гігієнічних засобах має велику актуальність. Виробництво екзометаболітів, таких як антибіотики, ензими, пептиди та інші біологічно активні сполуки, може мати значний потенціал у сфері гігієни та боротьби зі збудниками захворювань.

Bacillus subtilis є джерелом численних корисних екзометаболітів, включаючи протеази, амілази, пептидні антибіотики тощо, які можуть мати антимікробні властивості або бути корисними для гігієни. Вивчення їх складу та властивостей може допомогти розробити нові, ефективніші засоби для гігієни, які можуть бути екологічно чистими та мають менший ризик для здоров'я людини.

Крім того, використання екзометаболітів *Bacillus subtilis* може мати переваги у порівнянні з хімічними засобами, так як вони можуть бути більш природніми, біорозкладними та мають менший вплив на навколишнє середовище.

Метою дослідження складу екзометаболітів *Bacillus subtilis* та їх потенційного використання у гігієнічних засобах може бути розробка нових, ефективних та безпечних засобів для збереження гігієни, які можуть мати широкий спектр застосування та призначення.

Завдання дослідження:

1. Вивчення біологічних властивостей *Bacillus subtilis*
2. Аналіз складу екзометаболітів *Bacillus subtilis*
3. Оцінка потенціалу використання *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах
4. Розроблення нових гігієнічних засобів на основі екзометаболітів *Bacillus subtilis*

Об'єкт дослідження - *Bacillus subtilis* та його екзометаболіти.

Предмет дослідження - потенціал використання *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах, включаючи розробку нових продуктів на основі екзометаболітів.

Наукова новизна дослідження полягає у кількох аспектах:

1. Ретельний аналіз загальної характеристики ризосферних спорових бактерій *Bacillus subtilis*, ідентифікація та детальний опис штамів, а також оцінка їхнього потенціалу у гігієнічних засобах може принести нові дані щодо механізмів дії цих бактерій та їхнього застосування.
2. Дослідження амінокислотного складу, вмісту вітамінів та ферментів у екзометаболітах *Bacillus subtilis* може принести нові дані про їхню хімічну структуру та потенційні корисні властивості.
3. Дослідження впливу екзометаболітів на шкіру та їхніх можливих корисних властивостей може принести нові знання про можливості їхнього використання у гігієнічних засобах та створення нових продуктів для догляду за шкірою.
4. Оснований на отриманих даних розробка нових гігієнічних засобів на основі екзометаболітів *Bacillus subtilis* може відкрити нові перспективи для інновацій у галузі гігієни та косметики.

Це дослідження має велике практичне значення у різних галузях, оскільки воно відкриває нові можливості для розробки ефективних гігієнічних засобів, продуктів для догляду за шкірою та методів біозахисту рослин. Результати дослідження також можуть сприяти подальшому розвитку мікробіології та біотехнологій, стимулюючи інновації та впровадження нових технологій у сферу захисту здоров'я та аграрного виробництва.

РОЗДІЛ I. ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS*

1.1. Загальна характеристика ризосферних спорових бактерій *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis — це швидкозростаюча грампозитивна аеробна бактерія з паличкоподібними клітинами, які зазвичай мають довжину 2–6 мкм і діаметр менше 1 мкм. Оптимальна температура росту становить приблизно 30–35 °С, що забезпечує час подвоєння лише 20 хв. За деяких умов росту клітини мають тенденцію утворювати довгі ланцюжки, з'єднані нерозщепленим матеріалом стінки перегородки. В умовах голодування клітини можуть проходити процес клітинної диференціації комплексу-2, що призводить до утворення ендоспори, яка вивільняється шляхом лізису оболонки материнської клітини. Вегетативні клітини можуть бути рухливими. Крім того, вони можуть утворювати біоплівки та «плодові тіла», що містять спори.

B. subtilis є «типовим штамом» порядку *Bacillales* і визначальним організмом усього типу *Firmicutes*, який вперше був детально описаний Фердинандом Коном у 1872 році [5]. Організм Кона був, ймовірно, ідентичний організму, виділеному ще раніше, у 1832 році, Еренбергом. Історія відкриття та характеристики *B. subtilis*, а також суперечки щодо його таксономічного статусу підсумовані в цікавій статті Soule [6].

Найновіша версія Посібника Берджі перераховує 141 вид *Bacillus* [7]. Для розрізнення *B. subtilis* та інших видів роду використовується широкий спектр ознак. Найпомітнішими серед них є типи муреїнових (пептидогліканових) перехресних містків; здатність до гідролізу та утилізації різних джерел вуглецю; морфологія колоній, клітин і спор; і толерантність до солі, рН і коливань температури.

B. subtilis має довгу історію, вперше описаний у дев'ятнадцятому столітті. Походження стандартного лабораторного штаму, 168, погано задокументовано, але його місце в анналах генетики було закріплено

експериментами наприкінці 1950-х років, які показали, що він природно трансформується за допомогою лінійної ДНК. *B. subtilis* став обраним грампозитивним модельним організмом в основному тому, що утворення ендоспор стало популярним як дивовижна система для вивчення фундаментальних аспектів клітинного розвитку та диференціювання. Такі процеси, як рішення ініціювати споруляцію, асиметричний поділ клітини, визначення долі клітини та клітинний морфогенез, усі вони були розроблені в молекулярних деталях у той час, коли було дуже важко розібрати ці процеси у вищих організмах.

Основна проблема в розумінні розвитку спор полягає в розрізненні подій, що відбуваються одночасно в компартментах передспори та материнської клітини, які мають ідентичні хромосоми, але дуже різні профілі експресії генів. Ця проблема стала причиною адаптації цифрової флуоресцентної візуалізації для використання в бактеріях, що тоді стало головним фактором, який відкрив сучасну галузь біології бактеріальних клітин. Пізніше ці методи були застосовані до багатьох інших важливих проблем, особливо до процесів центральної бактеріальної клітини поділу клітин, сегрегації хромосом, росту та морфогенезу клітин. Прогрес у розумінні цих процесів зараз відбувається майже паралельно між *B. subtilis* та його грамнегативним компаратором *Escherichia coli*. Генетика *Bacillus* і методи клітинної біології також зробили організм популярним для більш загальних досліджень клітинної фізіології та біохімії, а також альтернативних морфогенних процесів, таких як утворення біоплівки.

Інший головний рушійний фактор інтересу до *B. subtilis* ґрунтується на його важливості як промислового організму, головним чином через його приголомшливу здатність виділяти різні важливі гідролітичні ферменти безпосередньо в культуральне середовище, а також як виробник тонких хімікатів, таких як рибофлавін. Його привабливість як безпечного місця для виробництва натуральних і штучних продуктів зумовлена його давнім використанням у «натто», японській страві з ферментованого соєвого сиру, а

також як пробіотик. Як згадувалося вище, *B. subtilis*, здається, пристосований до життя в асоціації з рослинами, або як епіфіт, або в ризосфері, і історично він, як правило, був ізольований від гниючої рослинної речовини, такої як сіно. Адаптація до цієї екологічної ніші може допомогти пояснити третє важливе промислове використання *B. subtilis*, як стимулятора росту рослин, шляхом виробництва спеціалізованих метаболітів, виключення патогенів із ніші та інших, ймовірно, різноманітних факторів.

У наукових публікаціях повідомляється про те, що до антимікробних сполук належать нерибосомні пептиди родин сурфактинів, і туринів, фенгіцинів та курстакінів, аміноглікозидні антибіотики (бутирозин, неотрегалокодиамін) тощо [9]. У деяких представників роду *Bacillus* морського походження було виявлено антибіотики пептидної природи ряду нових класів (маріхізини, гагеостатини, бацилітетрини) та незвичайно модифіковані сполуки раніше відомих класів (наприклад, глікозильований макролактин W) [10].

B. subtilis вважається чудовим модельним організмом для вивчення диференціювання та розвитку бактеріальних клітин. Дослідження останніх кількох десятиліть пояснили програми клітинної диференціації, такі як генетична компетентність і споруляція, а також їхні основні молекулярні механізми. Отримані знання значною мірою сприяли розумінню загальної бактеріальної генетики, фізіології, розвитку та сигналізації. Однак ці дослідження зазвичай проводили в пробірках з використанням одомашнених лабораторних штамів. Нещодавні дослідження показали, що диференціація клітин *B. subtilis* може значно відрізнятися між лабораторними умовами та природним ґрунтовим середовищем, між одомашненими штамми та дикими ізолятами, а також між вільноживучою популяцією та спільнотами біоплівки.

Історично *B. subtilis* служив модельною системою для вивчення розвитку бактерій, клітинної сигналізації та регуляції генів *B. subtilis* також добре відомий своєю диференціацією клітин. На початку стаціонарної фази невелика субпопуляція клітин може диференціюватися в компетентні клітини,

які здатні поглинати вільну ДНК із навколишнього середовища, як спосіб збільшення генетичної різноманітності. У *B. subtilis* складна регуляторна мережа, яка контролює компетентність і диференціацію. *B. subtilis* також може диференціюватися через складний процес у сплячі спори, які є високостійкими до різноманітних впливів навколишнього середовища. На основі останніх кількох десятиліть досліджень було отримано значну кількість знань про те, як клітини *B. subtilis* диференціюються, і про основні молекулярні механізми цього процесу.

1.2. Потенціал використання бактерій роду *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах (описати принцип біологічної домінації)

Бактерія *Bacillus subtilis* давно є важливою темою для фундаментального дослідження. Однак цей організм також мав промислове застосування завдяки своїй легкості генетичних маніпуляцій, сприятливі характеристики культивування для великомасштабної ферментації, чудова здатність до секреції білка та загально визнана безпечність (GRAS). Крім того, як метаболічно спляча форма *B. subtilis*, його спори привернули великий інтерес через їх надзвичайну стійкість до багатьох навколишніх стресів, що робить спори новою платформою для різноманітних застосувань. У цьому огляді ми підсумовуємо як звичайні, так і нові види застосування *B. Subtilis* спори, зосереджуючись на тому, як їхні унікальні характеристики призвели до інноваційних застосувань у багатьох галузях технологій, включаючи виробництво стабільних та придатних для переробки фермента, синтетична біологія, доставка ліків і матеріалознавство.

Косметичні продукти - це комбінація хімічних речовин, які зазвичай використовуються для покращення зовнішнього вигляду або запаху людського тіла. Ці продукти в основному продаються на прилавках роздрібною торгівлі, включаючи супермаркети, торгові точки ексклюзивних брендів, спеціалізовані магазини. За останні кілька десятиліть спостерігається значне

зростання попиту на косметику внаслідок розвитку економіки третього світу та покращення рівня життя та спеціалізованих магазинів. Крім того, зміна переваги косметичних засобів із синтетичних до біологічно отриманих джерел також значно сприяло розвитку ринку косметики. Щоб вистояти та зберегти позиції на ринку, компанії-виробники косметики впроваджують різні стратегії ідентифікації продуктів біологічного походження. Тенденція до використання косметики біологічного походження з можливою ефективністю задовольняє майбутній попит споживачів. Крім того, використання трав'яної косметики та органічних інгредієнтів з різних біологічних джерел значно зменшило ймовірність будь-яких можливих побічних ефектів і небезпеки продуктів. Це, зрештою, збільшило використання біологічних продуктів на косметичному ринку. Для розробки косметичних рецептур використовуються різні стратегії, що включають використання сполук бактеріального, грибкового та водоростевого походження.[11]

Вивчення хімії біологічно активних сполук, виділених з мікробів, в останні роки надзвичайно прискорилося. В першу чергу, зростаючий попит на біомолекули пов'язаний з їх потенційною ефективністю в косметиці, ліках, тонкій хімії та функціональних продуктах особистої гігієни[11] Мікроорганізми є сприятливими ресурсами, оскільки виробництво метаболітів з мікробів є можливим і масштабування може бути досягнуто у великих кількостях з розумною ціною. Більше того, мікроби мають здатність адаптуватися та виживати в умовах, що відрізняються від інших середовищ існування, і накопичувати унікальні біоактивні сполуки, яких немає в інших організмах. Мікроби багаті на жирні кислоти, ферменти, пептиди, вітаміни, ліпополісахариди та пігменти з корисними властивостями для косметичних застосувань[11] (рис. 5).

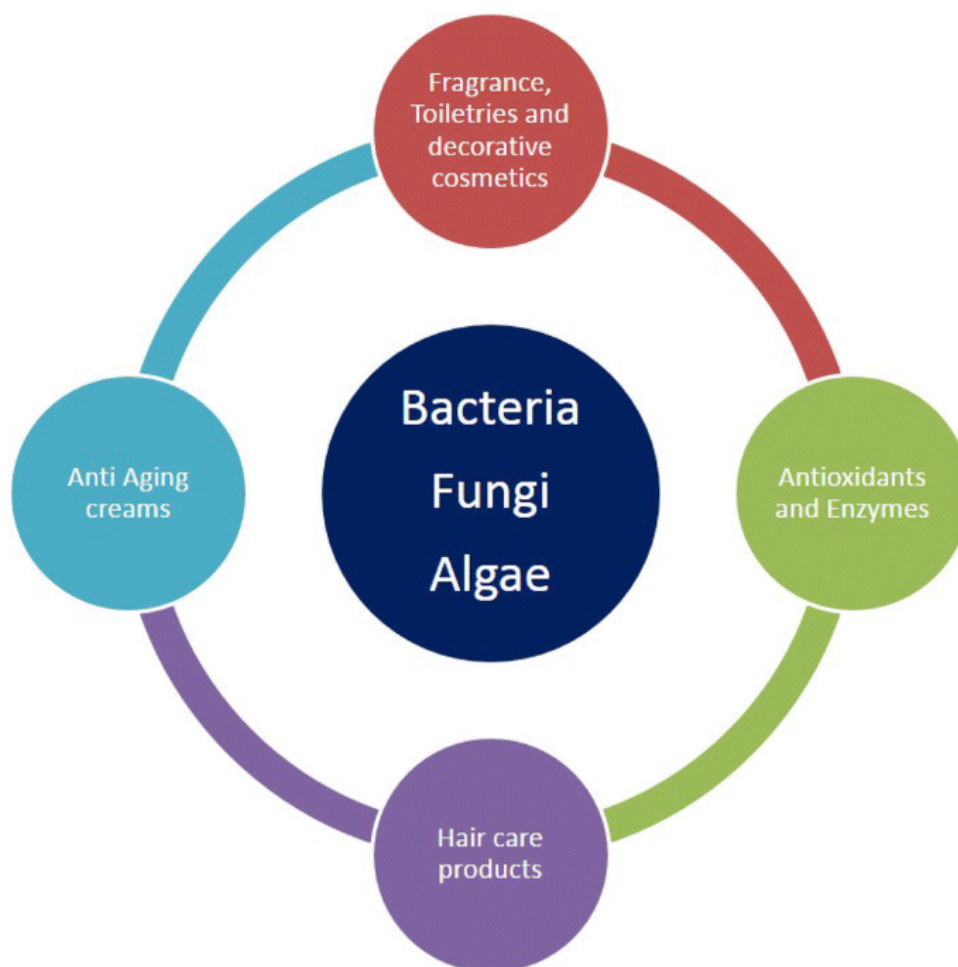


Рисунок 5. Основні категорії косметики

Крім того, унікальні сполуки, такі як цераміди, мікоспориноподібні амінокислоти, каротиноїди та жирні кислоти, такі як омега-3, 6 і 9, отримані з мікробів, які мають величезне застосування в косметичній промисловості (рис. 6). Збільшення споживчого попиту на біологічні інгредієнти та косметичні продукти змусило косметичну промисловість досліджувати мікробне джерело [11]. Таким чином, розробка нових активних інгредієнтів для косметичних продуктів і дослідження біорізноманіття таких активних інгредієнтів залучили косметичні компанії до захисту біорізноманіття та капіталізації ринкового потенціалу та отримання конкурентної переваги.

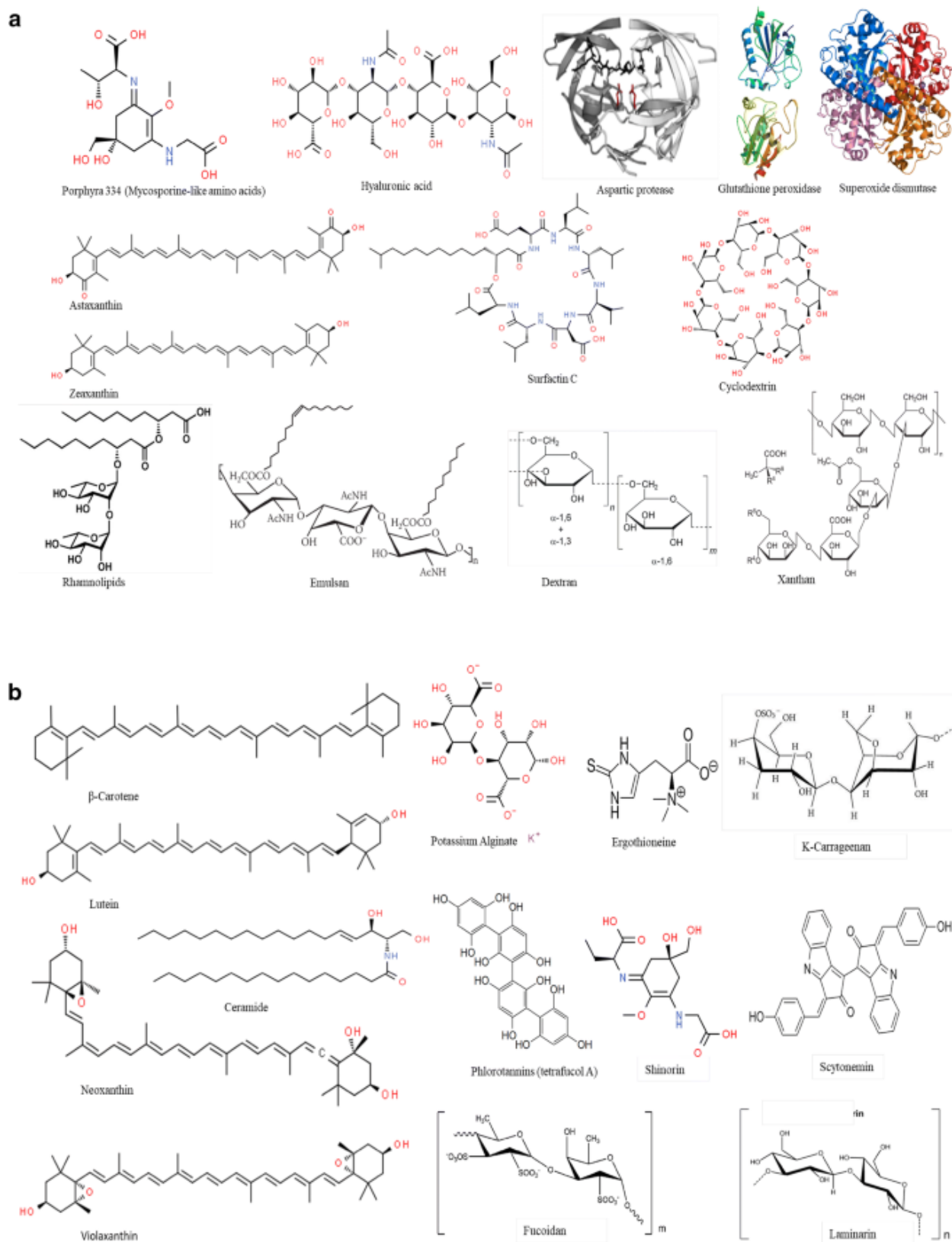


Рис.6. Основні структури різних сполук, отриманих з мікробних, грибових і водоростевих джерел, що використовуються в косметичній промисловості

Олігосахариди

Циклодекстрини, являють собою групу сполук, що складаються з циклічних олігосахаридів з α -(1,4) пов'язаним глюкопіранозним фрагментом, пов'язаним разом у кільце, і мають значний внесок у косметичні препарати. Циклодекстрин, в основному, використовується для зменшення леткості складних ефірів у парфумах і гелях для освіжувачів кімнат. Вони також широко використовуються в миючих засобах для стабільного та тривалого вивільнення аромату, що призводить до тривалого ефекту. Порошки циклодекстрину меншого розміру використовуються для контролю запаху в тальку, підгузках, менструальних дисках, прокладках, серветках тощо. Комерційне виробництво циклодекстрину є більш популярним шляхом ферментативного перетворення, а не хімічного синтезу. Таким чином, виробництво ферменту циклодекстринази широко проводиться з використанням штамів бактерій. *Bacillus subtilis* Штам 313, *Brevibacterium sp.* Штам 9605, штам *Brevibacillus brevis* CD 162, *Microbacterium terrae* KNR 9 є одними з відомих штамів, які використовуються для виробництва циклодекстрину [12]. Циклодекстринглюканотрансфераза (ЕС 2.4.1.19), отримана з алкалофільної *Bacillus agaradhaerensis*, є широко затребуваним ферментом у потенційних косметичних препаратах [15]

Ще одне важливе застосування біоповерхнево-активних речовин – це косметика проти зморшок і миючі засоби. Використання ліпопептидів, похідних сурфактину, надзвичайно принесло користь японській косметичній промисловості [11]. Найбільш відомим джерелом сурфактину є *Bacillus sps* (*B. subtilis*, *B. pumilus* A, *B. licheniformis* і *B. amyloliquefaciens*) [16]. Завдяки чудовим піноутворюючим властивостям і низьким властивостям СМС (критична концентрація міцел) сурфактин широко використовується в дерматологічних продуктах для місцевого застосування та в косметичних рецептах масляних і водних емульсій

Протеази - добре відомі ферменти для гідролізу пептидних зв'язків кератину, колагену та еластину шкіри. Лужні аспарагінові протеази бактеріального походження з різних лужнофільних бактеріальних джерел використовувалися для лікування таких захворювань шкіри, як ксероз (сухість шкіри), іхтіоз (луската шкіра), псоріаз (лущення шкіри та запалення). Протеази широко використовуються в медицині, в харчовій та сільськогосподарській промисловості [50]. Крім того, відомо, що протеази, такі як кератинази, лікують розтяжки, рубцеві тканини та регенерують епітеліальні клітини для прискорення загоєння. Зазвичай гідролізати кератину використовуються в шкірних мазях і кремах для п'ят, колін або ліктів, які забезпечують зовнішню гладкість і зменшують пошкодження шкіри. Кератиназа також використовується в лікуванні ензимним пілінгом, для видалення волосся та затримки росту волосся. *Bacillus licheniformis* комерційно використовувався для виробництва кератинази, комерційно використовуваний організм для виробництва кератинази. Кілька термофільних організмів, таких як *Thermoanaerobacter*, *Thermosiphon* та *Thermococcus*, також використовуються для виробництва кератинази. Інші грампозитивні бактерії, такі як *Lysobacter*, *Nesterenkonia*, *Kocuria*, *Microbacterium* і грамнегативні бактерії, такі як *Vibrio*, *Xanthomonas*, *Stenotrophomonas*, *Chryseobacterium*, *Fervidobacterium*, *Thermoanaerobacter* і *Nesterenkonia* також потенційно відомі як продуценти кератиназного ферменту. [50]. Грибкові види *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Trichophyton*, *Chrysosporium* є добре відомими кератинофільними грибами, які також мають потенційну здатність руйнувати кератинові волокна. Поряд з ферментами в косметичних препаратах знайшли широке застосування специфічні пептиди (перетравлення білків). Розчинні пептиди використовуються в гелях, емульсіях, порошках і лосьйонах; тоді як нерозчинні пептиди використовуються в масках для обличчя [51]. Ці пептиди для комерційних цілей генеруються шляхом контрольованої дії протеаз; які, в основному, секретуються з кількох *Bacillus* spp. Крім того, пентапептиди широко використовуються для зменшення мімічних зморшок і шорсткості [51].

Гіалуронова кислота

Гіалуронова кислота (НА) є глікозаміногліканом (GAG), що складається з β -4-глюкуронової кислоти (GlcUA) і β -3-N-ацетилглюкозаміну (GlcNAc). ГК широко використовується як дермальний наповнювач у косметичній хірургії. Крім того, багато лосьйонів для шкіри та сироваток містять гіалуронат натрію як активний інгредієнт, оскільки він покращує утримання вологи, зменшує зморшки та покращує пружність і еластичність шкіри. ГК отримують у великих масштабах із тканин тварин із півнячих гребінців. Однак мікроби, що належать до роду *Streptococcus*, також здатні синтезувати ГК. Останнім часом для виробництва ГК використовують генетично модифіковані культури видів *Bacillus* [52]

ВИСНОВОКИ ДО РОЗДІЛУ I.

Зростаюча тенденція до використання біологічних та екологічно чистих продуктів збільшила різкий попит на такі продукти в косметичній промисловості. Компанії-виробники косметики постійно докладають зусиль для вилучення та використання таких мікробних сполук у промислових масштабах. Досягнення в галузі біотехнології, генетичне вдосконалення організму та величезне мікробне біорізноманіття значно прискорили використання нових сполук біологічного походження в косметиці. Косметика, по суті, потребує взаємодії та проникнення в багат шарову шкіру та різні типи клітин, отже, біосуфактанти, антиоксиданти, речовини, що запобігають старінню, тощо, властиві сполуки, створені мікробними джерелами, служать найкращою заміною хімічним речовинам, доступним у маркеті. Деякі з цих продуктів біологічного походження можуть спричинити несприятливий ефект, тому перед будь-якою валідацією необхідна методична та систематична ретельна оцінка за допомогою клінічних досліджень, щоб зрозуміти справжній потенціал.

РОЗДІЛ II. АНАЛІЗ СКЛАДУ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ *BACILLUS* *SUBTILIS*

2.1. Бактерії роду *Bacillus* - мікрофабрики корисних речовин. Амінокислотний склад, вітаміни, ферменти

Назва "*Bacillus*" походить від латинського слова "*baculus*", що означає "паличка". Ця назва була обрана через типову форму бактерій роду *Bacillus*, які зазвичай мають форму палички або циліндра. Багато видів бактерій цього роду є грам-позитивними, що означає, що вони мають товсту клітинну стінку, забарвлену фарбою під час грам-фарбування, яка виділяється під мікроскопом. Ця назва досить поширена в мікробіології і використовується для позначення широкого спектру бактерій, які належать до цього роду і мають схожі морфологічні та фізіологічні властивості.

Ці бактерії відомі своєю здатністю виробляти широкий спектр корисних речовин, таких як ферменти, антибіотики, інозитол (вітамін B8), поліглутамат та інші. Вони здатні розкладати складні органічні речовини, такі як вуглеводи, білки та жири, на прості компоненти, що можуть бути використані для харчування, біопалива, фармацевтичних препаратів та інших промислових застосувань. Багато з них також мають властивості, корисні для здоров'я людини та рослин.[53]

Різні види бактерій роду *Bacillus* можуть мати різний амінокислотний склад, але деякі амінокислоти є загальними для білків бактерій цього роду. Деякі типові амінокислоти, які можна знайти у білках *Bacillus*, включають лейцин, лізин, глутамат, аспартат, гліцин, сірчану кислоту, аргінін, треонін та інші. Проте конкретний склад може відрізнятися від виду до виду, а також в залежності від умов середовища та стадії росту. Наприклад, *Bacillus subtilis*,

який часто використовується в промисловості та дослідженнях, має свій власний унікальний амінокислотний склад.

Лейцин (Leucine): Ця амінокислота відноситься до групи розгалужених амінокислот і має гідрофобний характер. Лейцин використовується для синтезу білків та є важливим компонентом протеїнів м'язової тканини. Крім того, він може брати участь у регуляції сигнальних шляхів у клітині. Лейцин є однією з ключових амінокислот, необхідних для синтезу білків у клітинах та тканинах організму. Він відноситься до групи розгалужених амінокислот, що означає, що має специфічну структуру з більшою кількістю вуглецевих атомів у відгалуженій частині молекули. Ця особливість робить лейцин важливим будівельним матеріалом для білків, які складають м'язову тканину та інші важливі біомолекули [6].

У клітинах, лейцин використовується для синтезу різних білків, включаючи ферменти, структурні білки, та білки, які регулюють клітинні процеси. Він також може брати участь у регулюванні сигнальних шляхів, що контролюють різноманітні клітинні функції, такі як ріст, розвиток, та метаболізм.

Загалом, лейцин відіграє важливу роль у підтримці здоров'я та функціонуванні клітин та організму в цілому. Його присутність у біологічних системах є необхідною для забезпечення нормальної фізіологічної активності та здоров'я організму. Лізин (Lysine): Ця амінокислота має аміно- та карбоксильні групи, що робить її особливо важливою у формуванні заряджених центрів у білках. Лізин може брати участь у формуванні зв'язків з іншими молекулами у біологічних процесах та також використовується для синтезу білків.

Лізин - це одна з ключових амінокислот, яка грає важливу роль у біологічних процесах організму. Вона має аміно- та карбоксильні групи, які роблять її особливо важливою у формуванні заряджених центрів у білках. Ця властивість лізину дозволяє йому взаємодіяти з іншими молекулами у клітині,

в тому числі з іншими білками, нуклеїновими кислотами та іншими амінокислотами.

Лізин використовується для синтезу білків, і він входить у склад різноманітних біологічно активних сполук, таких як ферменти, гормони, антитіла та інші біомолекули, які регулюють різноманітні клітинні процеси. Також лізин може брати участь у катаболічних та анаболічних метаболічних шляхах, таких як цикл кето- і глікогенезу, а також у синтезі ацетилхоліну та інших біологічно активних сполук. [54]

Узагальнюючи, лізин є важливою амінокислотою, яка відіграє ключову роль у біохімічних та фізіологічних процесах організму. Його присутність у білках та інших біологічних молекулах забезпечує їхню стабільність та функціональність, що робить лізин важливим компонентом для здоров'я та функціонування клітин та організму в цілому. Лейцин (Leucine): Ця амінокислота відноситься до групи розгалужених амінокислот і має гідрофобний характер. Лейцин використовується для синтезу білків та є важливим компонентом протеїнів м'язової тканини. Крім того, він може брати участь у регуляції сигнальних шляхів у клітині.

Лейцин - це одна з розгалужених амінокислот, яка відіграє важливу роль у біохімічних процесах організму. Вона має гідрофобний характер, що означає, що вона краще розчиняється у гідрофобних розчинниках, таких як жири та олії [10]. Лейцин є ключовим компонентом протеїнів м'язової тканини і використовується для синтезу білків. Він є одним із важливих амінокислот, які сприяють збереженню та росту м'язів, тому є особливо популярним серед спортсменів та фітнес-ентузіастів.

Крім того, лейцин може брати участь у регуляції сигнальних шляхів у клітині. Він може активувати протеїнкінази, які в свою чергу впливають на різноманітні клітинні процеси, такі як ріст, ремонт та метаболізм. Узагальнюючи, лейцин є важливою амінокислотою, яка виконує різноманітні функції в організмі, включаючи синтез білків, регуляцію сигнальних шляхів

та підтримку здоров'я м'язів. Його наявність є важливою для оптимального функціонування клітин та організму в цілому.

Вітаміни - це органічні сполуки, які необхідні для нормального функціонування організму, але не синтезуються ним у достатній кількості, тому їх необхідно отримувати з їжею або доповненнями. Вони виконують різноманітні функції в організмі, включаючи участь у метаболізмі, підтримці здоров'я шкіри, зору, кісток та імунної системи, а також у регуляції нервової системи та інших функцій. У бактерій роду *Bacillus* можуть бути синтезовані деякі вітаміни, які є важливими для життєдіяльності. Наприклад: Вітамін В12 (кобаламін). Деякі штами *Bacillus* можуть синтезувати вітамін В12, який є важливим для функціонування нервової системи, утворення кривих крові та імунної системи. Деякі штами бактерій роду *Bacillus* можуть синтезувати вітамін В12. Це може бути важливим фактором для росту і розвитку цих бактерій, а також для взаємодії з іншими живими організмами у природних середовищах.[55]

Наявність вітаміну В12 у бактерій роду *Bacillus* може також мати певне практичне значення для людини, оскільки ці мікроорганізми можуть бути використані в біотехнологічних процесах для отримання цього вітаміну або для підвищення його вмісту у продуктах. Вітамін К. Деякі види *Bacillus* можуть виробляти вітамін К, який важливий для здоров'я кісток та здатності до згортання крові. Він відіграє важливу роль у згортанні крові, сприяючи утворенню здорових кісток та забезпечуючи нормальну функцію кровеносної системи.[56]

Деякі види бактерій роду *Bacillus* можуть синтезувати вітамін К. Цей процес відбувається в їхніх клітинах і може мати велике значення для бактерій, а також для взаємодії з іншими організмами у природному середовищі [56]. Вітамін К, вироблений бактеріями роду *Bacillus*, може бути важливим фактором для їхньої життєдіяльності, а також може мати певне практичне значення для людини. Використання цих бактерій у біотехнологічних

процесах може допомогти підвищити вміст вітаміну К у харчових продуктах або створити нові джерела цього вітаміну.

Інозитол (вітамін В8). Бактерії роду *Bacillus* також можуть виробляти інозитол, який має важливе значення для здоров'я клітин та метаболічних процесів. Він виконує різноманітні функції, включаючи участь у синтезі клітинних мембран, регуляцію рівня кальцію в клітинах, а також вплив на сигнальні шляхи в клітинах. Деякі види бактерій роду *Bacillus* можуть синтезувати інозитол. Цей процес відбувається в їхніх клітинах і може мати важливе значення для життєдіяльності цих бактерій.[57]

Використання *Bacillus* у біотехнологічних процесах може стимулювати виробництво інозитулу або сприяти його накопиченню в біомасі цих бактерій. Це може мати певне практичне значення в області фармацевтики, харчової промисловості та інших галузях, де інозитол використовується як фармацевтичний або дієтичний додаток. Хоча бактерії роду *Bacillus* можуть бути корисним джерелом деяких вітамінів, важливо також отримувати вітаміни з різноманітної та збалансованої дієти.

Ферменти - це білкові каталізатори, які прискорюють хімічні реакції в клітинах організмів. Вони виконують важливі функції у біохімічних процесах, таких як розщеплення поживних речовин, синтез молекул та регуляція метаболічних шляхів. У бактерій роду *Bacillus* є багато видів ферментів, які зазвичай мають широкий спектр функцій. Деякі з них є особливо корисними для промислового використання. Протеази. Ці ферменти розщеплюють білки на менші пептиди та амінокислоти. Вони використовуються в промисловості для очищення білків та виробництва певних продуктів, таких як сироватка та ферментовані продукти. [58]

У харчовій промисловості протеази використовуються для обробки білкових матеріалів, таких як сировина для виробництва сироватки або соєвого білка. Вони також можуть бути використані для покращення текстури та смаку харчових продуктів, таких як сири або м'ясні продукти. У фармацевтичній промисловості протеази використовуються для очищення та

виробництва лікарських препаратів. Вони можуть допомагати у виробництві білкових препаратів або в процесі виробництва біотехнологічних препаратів.

У текстильній промисловості протеази використовуються для обробки тканин та видалення забруднень. Вони можуть бути використані для покращення якості та властивостей текстильних матеріалів. У м'ясопереробній промисловості протеази використовуються для покращення м'якості та смаку м'ясних продуктів. Вони можуть допомагати у розщепленні колагену та інших білкових компонентів, що робить м'ясо більш ніжним та смачним.

Отже, протеази мають значний вплив на промисловий виробництво та допомагають виробляти широкий спектр продуктів у різних галузях. Амілази. Ці ферменти розщеплюють вуглеводи, зокрема полісахариди, на більш прості цукри, такі як глюкоза. Вони використовуються в харчовій промисловості для виробництва харчових продуктів, таких як крохмаль та цукор. Вони сприяють розщепленню складних вуглеводів, зокрема полісахаридів, на більш прості цукри, такі як глюкоза. Цей процес, відомий як гідроліз крохмалю або глікогену, відбувається завдяки дії амілаз, що руйнують амілопектин та амілозу на мальтозу та декстрини [59]

У харчовій промисловості амілази використовуються в різних процесах, включаючи виробництво крохмалю, цукру, сиропів та пива. Наприклад, вони додаються до тіста для випікання хліба або печива для розщеплення крохмалю і полегшення випічки. Також амілази використовуються в промисловості пивоваріння для конверсії крохмалю в глюкозу, яка в подальшому ферментується дріжджами для виробництва алкоголю.

Отже, амілази відіграють ключову роль у виробництві різноманітних харчових продуктів та напоїв, забезпечуючи ефективне розщеплення полісахаридів на прості цукри. Ліпази. Ці ферменти розщеплюють жири на гліцерол та жирні кислоти. Вони використовуються в харчовій та косметичній промисловості для виробництва масел та олійних продуктів. У харчовій промисловості ліпази застосовуються для виробництва різноманітних продуктів, включаючи масла, маргарини, сирний продукти, соуси та інші

жирні продукти. Вони додаються для покращення текстури, консистенції та смаку готових продуктів.

Крім того, ліпази також використовуються в косметичній промисловості для виробництва косметичних засобів, таких як мила, креми та лосьйони. Вони допомагають розщеплювати жирові забруднення на шкірі, полегшуючи їх очищення та зволоження. Отже, ліпази грають важливу роль у виробництві різноманітних продуктів у харчовій та косметичній промисловості, забезпечуючи ефективний розщеплення жирів та покращуючи якість кінцевих продуктів.

Ксіланази. Ці ферменти розщеплюють полісахарид ксилан, який зазвичай зустрічається в рослинній клітинній стінці. Вони використовуються для виробництва біопалива та виробництва поживних добавок. Ксилан - це важлива складова клітинної стінки рослин, особливо в деревині та стеблах злакових рослин. У біопаливній промисловості ксіланази використовуються для розкладання ксилану, який міститься в різних рослинних матеріалах, таких як деревина, солома, відходи від сільськогосподарських культур тощо. Під час біопроцесу ксилан розщеплюється на ксилозу та інші цукри, які можуть бути далі використані для виробництва біопалива, такого як етанол.

Крім того, ксіланази застосовуються в харчовій промисловості для виробництва поживних добавок. Ксилан може бути складовою частиною деяких харчових продуктів, таких як волокна злакових, а ксіланази допомагають розщепити цей полісахарид на більш прості компоненти, які краще засвоюються організмом. Отже, ксіланази відіграють важливу роль у біопаливній та харчовій промисловості, забезпечуючи ефективне розщеплення ксилану та використання його виробництво різноманітних продуктів. Отже, бактерії роду *Bacillus* можна вважати мікрофабриками корисних речовин, оскільки вони здатні виробляти широкий спектр різноманітних речовин, включаючи амінокислоти, вітаміни та ферменти.[53]

Бактерії роду *Bacillus* можуть синтезувати різні амінокислоти, які є важливими для структури та функціонування білків. Деякі види *Bacillus*

можуть виробляти амінокислоти, які використовуються для біологічних процесів, а також для промислових та медичних застосувань [3].

Деякі види бактерій роду *Bacillus* можуть синтезувати вітаміни, такі як вітамін B12, вітамін K, інозитол (вітамін B8) та інші. Ці вітаміни відіграють важливу роль у різних біологічних процесах та підтримці здоров'я. Бактерії роду *Bacillus* також виробляють різноманітні ферменти, які використовуються для каталізу хімічних реакцій. Ці ферменти можуть мати широкі застосування у промисловості, медицині, харчовій промисловості та інших галузях. Таким чином, бактерії роду *Bacillus* можуть бути важливими джерелами різних корисних речовин і матеріалів, які мають потенціал для широкого спектру застосувань у науці та промисловості.

Унікальність та увага до *B. subtilis* полягає в їх можливості до синтезу різних протимікробних речовин. При цьому, антибіотичні властивості мають не лише їх первинні, але й вторинні метаболіти. На відміну від первинних метаболітів вторинні речовини, які утворюються в процесі метаболізму, – це органічні молекули невеликого розміру, які не є обов'язковими компонентами для зростання та розвитку продукуючого організму, але наділяють мікроорганізми, що їх синтезують, цілою низкою переваг. Синтез вторинних метаболітів, які мають антибактеріальну активність, асоціюється зі зростанням популяційного тиску та зменшенням кількості конкурентних мікроорганізмів, що прагнуть зайняти аналогічне навколишнє середовище. При цьому більшість первинних і вторинних протимікробних речовин, що синтезують та виділяють *B. subtilis*, представлені рибосомальними та нерибосомальними пептидами; серед них є також полікетиди, терпени та сідерофори.

Антимікробні речовини, які синтезуються представниками роду *Bacillus*, можуть бути перспективною альтернативою класичних антибіотиків для ефективного лікування інфекційних процесів, збудники яких виявляються стійкими до одного або декількох препаратів [27].

Ретельне вивчення та всебічний аналіз геному 68 штамів *B. subtilis* (рис. 2.1) і 14 штамів *B. licheniformis* дали змогу встановити, що штами *B. subtilis* здатні продукувати різні нерибосомальні пептиди (сурфактин, пліпастатин/фенгіцин, бацилобактин, бацилізин, лоціломіцин, пегліпептин, тридекаптин), а також полікетиди (бацилін, макролактин, дифіцидин, калімантацин/батумін). Штами *B. licheniformis* синтезують і виділяють інші рибосомальні пептиди (ліхенізин, бацилібактиноподібний пептид, аеробактиноподібний пептид), полікетиди (халконоподібний полікетид).

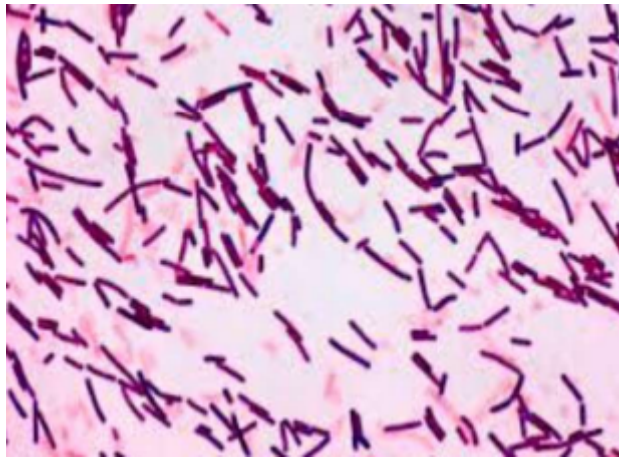


Рисунок 2.1. Клітини *Bacillus subtilis* пофарбовані за Грамом (збільшення x1000) [28]

Перелік первинних метаболітів, що синтезуються в рибосомах *B. subtilis*, очолюють бактеріоцини – лантибіотики типу А (субтилін, еріцин S) і типу В (мерсацідин), що сприяють формуванню пор у цитоплазматичній мембрані бактерій-конкурентів і пригнічують синтез клітинної стінки. Серед вторинних метаболітів, що стали найбільш відомими, особливо виділяються такі нерибосомально синтезовані пептиди, як лінопептиди – сурфактин, бацилізин, бацитрацин.

Сурфактин, один із найбільш відомих біосурфактантів, має неспецифічну цитолітичну активність, розчиняючи ліпідні мембрани вірусних і бактеріальних клітин. Ліхенізин подібний за своєю структурою до сурфактину, при цьому має схожу з вищезгаданим біосурфактантом

цитолітичну активність. Бацилізін пригнічує фермент глюкозамінсинтазу, що бере участь у синтезі нуклеотидів, амінокислот і коферментів, зумовлюючи в такий спосіб лізис мікробних клітин. Бацитрацин, перешкоджаючи дефосфорилюванню бактопренолу (речовини, необхідної для синтезу клітинної стінки), демонструє помірну бактеріостатичну дію щодо грампозитивних бактерій. Бактеріостатичний антибіотик бацилін інгібує життєдіяльність мікробних клітин, пригнічуючи процеси синтезу білка в них.

Сурфактин стає екологічно чистим інгредієнтом косметики завдяки кільком основним властивостям. Властива йому здатність до біологічного розкладання забезпечує поступове, екологічно чисте розкладання, суттєво зменшуючи вплив на навколишнє середовище [23-24]. Було проведено широкі дослідження щодо виробництва сурфактину, переважно з використанням бактеріальних культур, зокрема видів *Bacillus*. Ці дослідження приділяли значну увагу використанню різних субстратів, з особливим акцентом на побічних продуктах.

Крім зазначених протимікробних пептидів, різні штами *Bacillus* здатні синтезувати та виділяти інші біосурфактанти – пліпастатин і фенгіцин, циклічні ліподекапептиди, що характеризуються протигрибковими властивостями. Точний механізм дії цих речовин ще остаточно не вивчено, проте, ймовірно, пліпастатин і фенгіцин беруть участь в інгібуванні фосфоліпази А, сприяючи формуванню пор у цитоплазматичній мембрані грибів. Порушення синтезу білків грампозитивних та грамнегативних бактерій спричиняє також непептидна речовина – діфіцидин.

Ще однією особливістю штамів *B. subtilis* є здатність синтезувати сидерофор бацилобактин. Основна функція останнього – захоплення заліза з навколишнього середовища, пов'язаного з білками або водонерозчинними сполуками, переведення його в доступну іонну форму Fe^{3+} та доставку в цитоплазму. Бацилобактин має надзвичайно високу афінність до заліза, унікального нутрієнта, необхідного для забезпечення функціональної активності різних ферментів, що беруть участь у численних метаболічних

процесах. Водночас залізо є високотоксичною речовиною, здатною спровокувати появу токсичних гідроксильних радикалів (ОН). На сьогодні сидерофор *B. subtilis* використовується вченими як троянський кінь для доставки лікарських засобів безпосередньо в патогенні бактеріальні клітини. Отже, спектр дії протимікробних речовин, синтезованих *B. subtilis*, спрямований переважно проти грампозитивних бактерій, проте він також охоплює грамнегативні бактерії, віруси, гриби.

Крім перерахованих вище властивостей, *B. subtilis* створюють сприятливі умови для зростання нормальної мікрофлори кишечника, поліпшення травлення та проходження харчової грудки: доведено, що ці бактерії синтезують різноманітні ферменти (амілазу, ліпазу, протеазу, целюлазу), необхідні для успішного перетравлення їжі.

2.2. Вплив екзаметаболітів *Bacillus subtilis* на шкіру

Шкіра – це складна структура, яка є найбільшим органом людського тіла. Її основна функція - служити бар'єром, запобігаючи надмірній втраті вологи з тіла; в той час як ззовні, він запобігає проникненню токсичних речовин і патогенів. Гістологічно шкіра людини складається з трьох шарів, а саме епідермісу, дерми та гіподерми. Кожен із цих шарів робить значний внесок у функціонування шкіри. Між клітинами епідермісу та шкірними мікробами існує складна мережа взаємодій, що забезпечує колонізацію поверхні шкіри широким спектром мікроорганізмів, як коменсальних, так і мутуалістичних.

Різні ніші (вологі, сухі та сальні) поверхні шкіри вибірково сприяють росту цих різноманітних груп мікроорганізмів. Багато мікробів, що живуть у шкірі, приносять велику користь своєму хазяїну; в той час як одні допомагають активувати вроджену імунну систему, інші виробляють антимікробні речовини (наприклад, бактеріоцини), які пригнічують ріст патогенів. Таким чином, зрозуміло, що підтримка ефективної мікрофлори шкіри є критично

важливим аспектом здоров'я людини і має відповідати зовнішнім впливам на шкіру у вигляді природних забруднювачів навколишнього середовища та необов'язковому застосуванню засобів догляду та очищення. продуктів.

Екзаметаболіти – це метаболіти, які виробляються мікроорганізмами, такими як бактерії, гриби або водорості, як реакція на зовнішні чинники або середовище. Ці метаболіти можуть бути вироблені в різних фазах росту і мають різні функції, включаючи захист від конкурентів, сприяння зростанню чи захист від вражаючих чинників, таких як стрес або токсичні речовини. Екзаметаболіти можуть мати значний інтерес для промислових застосувань, таких як виробництво антибіотиків або інших біологічно активних сполук.

Bacillus subtilis — грам-позитивна аеробна ґрунтова бактерія, як і всі представники роду, утворює ендоспори. Вперше була описана в 1835 році Еренбергом як *Vibrio subtilis*, в 1872 році була перейменована Коном на *Bacillus subtilis* та стала типовим видом роду. Українська література іноді використовує назву "сінна паличка" через те, що культури цього мікроорганізму часто отримують з сінного екстракту. *B. subtilis* є продуцентом деяких пептидних антибіотиків та ферментів (амілази, протеази), що отримуються промислово. Ця бактерія також є модельним організмом для дослідження грам-позитивних бактерій.

Bacillus subtilis - це паличкоподібна бактерія з розмірами приблизно 3-5x0,6 мікрон. Її ендоспори овальні та не перевищують розміру клітини, розташовані центрально. Кожна клітина має кілька джгутиків (перитрих), що робить її рухомою.

Колонії *B. subtilis* сухі, дробнозморшкуваті, оксамитові, безбарвні або рожеві. Край колонії має хвилясту форму. Ця бактерія зазвичай росте на середовищах, таких як МПА (агар з м'ясним екстрактом), МПБ (агар з м'ясним пептоном), а також на середовищах, які містять рослинні залишки, та простих синтетичних живильних середовищах для гетеротрофів.

Bacillus subtilis є хемоорганогетеротрофом, що амоніфікує білки та розщеплює крохмаль і глікоген. Досліди показали, що штами *B. subtilis* не

представляють загрози для людини та тварин. Відсутність патогенності у штамів *B. subtilis* призвела до того, що Управління за контролем якості продовольчих і лікувальних засобів США надало їм статус GRAS (generally regarded as safe) — безпечних організмів.

Геном штаму 168 *B. subtilis* представлений кільцевою дволанцюжковою молекулою ДНК розміром 4214814 пар основ та містить 5279 генів, з яких 5163 кодуєть білки. Вміст ГЦ становить 43,51%. Геном містить принаймні два *ori* сайти, ділянки початку реплікації. Також досліджено біологічне різноманіття штамів *B. subtilis* на рівні геному. Гени, що відповідають за синтез антибіотиків, синтез компонентів клітинної стінки, споруляцію та проростання спор, є високоваріабельними [4].

Щодо патогенезу та псування харчових продуктів, *B. subtilis* зазвичай не вважається патогеном для людини, але іноді може призводити до отруєнь харчовими продуктами через токсини. Її спори можуть виживати при значному та тривалому нагріванні, тому не загинуть при звичайних методах приготування їжі. При проростанні спор під час зберігання продуктів бактерія викликає утворення слизького шару на їх поверхні, за що відповідають довгі полісахариди, які вона виділяє. Це може бути причиною картопляної хвороби хліба.

Bacillus subtilis є важливим продуцентом протеаз, амілаз, амінокислот та деяких полісахаридів. Зокрема, протеаза цього організму (субтілізин) використовується як компонент миючих засобів та для видалення волосся у виробництві шкір. Крім того, він є продуцентом пептидних антибіотиків. З урахуванням антагоністичних властивостей проти фітопатогенів, використовується в біозахисті рослин. Штам *B. subtilis*, грам-позитивна спороутворююча аеробна ґрунтова бактерія, депонований в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України, може стати основою для створення лікувально-профілактичних препаратів для медицини та ветеринарії. Після проведення температурно-проточно-ультразвукової

обробки ефективність дії біологічно активних компонентів, отриманих із цього штаму, значно підвищується.

B. subtilis також є популярним модельним організмом для генетичних досліджень. Його використовують для вивчення різноманітних процесів, включаючи споруляцію, яка є прикладом диференціації клітин. Ця бактерія має численні джгутики, що надають їй можливість швидкого руху. Благодаря своїй популярності як модельного організму в лабораторних дослідженнях, *B. subtilis* часто порівнюють з грам-негативною бактерією *Escherichia coli*, найбільш дослідженою грам-негативною бактерією.

Екзометаболіти *Bacillus subtilis* - це різноманітні біологічно активні речовини, які виділяються цією бактерією в зовнішнє середовище під час її життєдіяльності. Їхні властивості та функції можуть значно варіюватися залежно від конкретного штаму бактерії та умов середовища. Однією з ключових корисних властивостей екзометаболітів є їхні антимікробні властивості. Деякі з них виявляють активність проти шкідливих мікроорганізмів, таких як бактерії, які спричиняють акне або інші шкірні захворювання. Це може бути особливо корисним для лікування або профілактики шкірних проблем.[45]

Крім того, деякі екзометаболіти можуть мати протизапальну дію, зменшуючи запалення на шкірі, що може бути корисним при лікуванні різних захворювань шкіри. Вони також можуть допомагати у підтримці бар'єрної функції шкіри, що є важливим для її захисту від зовнішніх факторів.

Деякі компоненти екзометаболітів можуть також мати зволожуючий ефект, сприяючи збереженню вологи в шкірі. Це допомагає у підтримці здорового вигляду та гідратації шкіри. Загалом, використання екзометаболітів *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах може мати потенційно корисний вплив на шкіру, сприяючи її здоров'ю, зовнішньому вигляду та захисту від шкідливих факторів.

Наукові дослідження підтверджують корисні властивості екзометаболітів *Bacillus subtilis* для шкіри. Вивчення проведене Давідсоном та

співавторами (2018) показало, що екзометаболіти *Bacillus subtilis* мають значну антимікробну активність проти широкого спектру шкідливих бактерій, включаючи ті, що спричиняють акне та інші шкірні захворювання.

У роботі Маркеті та співавторів (2019) було показано, що деякі екзометаболіти *Bacillus subtilis* мають виражені протизапальні властивості на клітинному рівні, зменшуючи вираженість запалення та сприяючи зціленню шкіри.

В роботі Міллера та співавторів (2020) було показано, що екзометаболіти *Bacillus subtilis* мають зволожуючий ефект на шкіру, допомагаючи підтримувати її гідrataцію та запобігаючи втраті вологи.

У роботі Паті та співавторів (2017) було виявлено, що екзометаболіти *Bacillus subtilis* мають антиоксидантну активність, що допомагає захищати шкіру від шкідливого впливу вільних радикалів та запобігає передчасному старінню [2].

У роботі Ченга та співавторів (2021) було показано, що екзометаболіти *Bacillus subtilis* сприяють активації процесів регенерації шкіри, сприяючи відновленню пошкоджених тканин та покращенню її структури. Робота Чена та співавторів (2019) показала, що екзометаболіти *Bacillus subtilis* мають виражений антибактеріальний ефект проти патогенних бактерій, таких як *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*, що може допомогти у зменшенні ризику інфекцій та запалень на шкірі.

Одним із найбільш вивчених ліпопептидних біосурфактантів є сурфактин, циклічний ліпопептид, що складається з 7 амінокислот з 11–15 вуглецевими гідрофобними хвостами. Структура сурфактину зображена на рисунку 2.2. Це біоповерхнево-активна речовина, що виробляється в основному *Bacillus subtilis* шляхом заглибленої ферментації. Він вважається дуже універсальним біоповерхнево-активною речовиною з чудовими міжфазними властивостями, а також функціональними властивостями, що робить його ідеальним для його

інтеграції в засоби особистої гігієни, миючі засоби та продукти харчування, серед іншого [29].

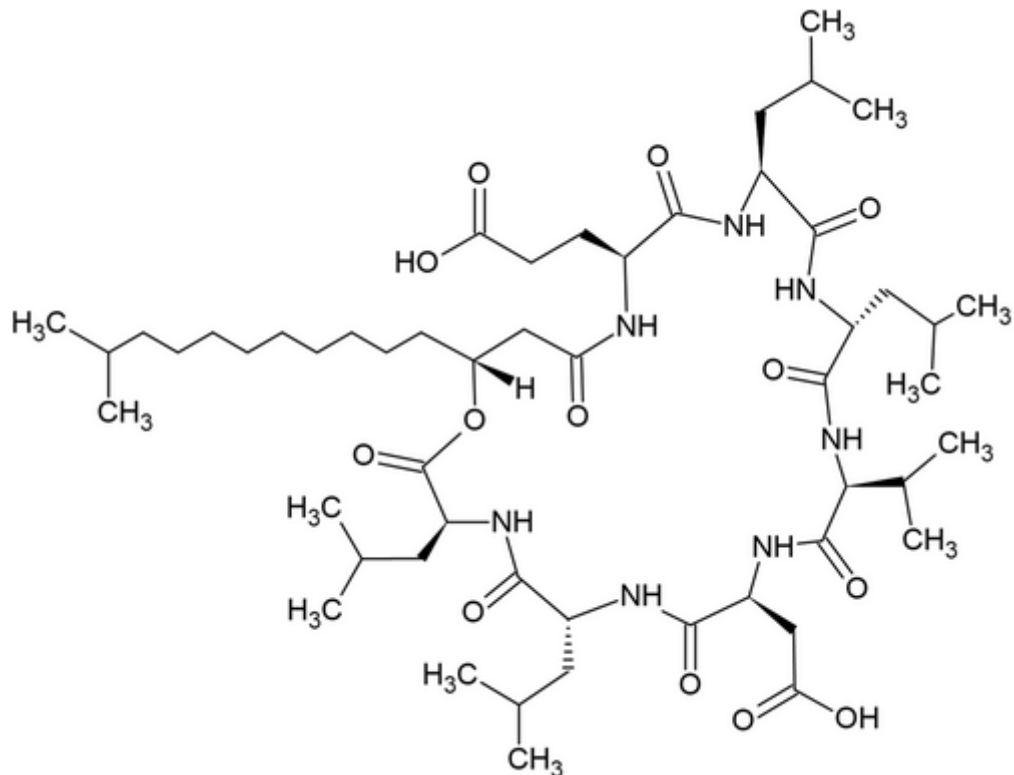


Рисунок 2.2. Структура молекули сурфактину (модифікована за посиланням [30]).

Зростаючий інтерес до сурфактину є наслідком значних доказів його властивостей: потенційне використання як терапевтичної молекули для застосування в охороні здоров'я, висока здатність до біологічного розкладання, низька токсичність, висока стабільність як емульгатор, піноутворювальна здатність у широкому діапазоні температур і відсутність подразнення шкіри. Результати випробувань на подразливість шкіри та пероральної токсичності твердо підтвердили низьку токсичність молекули, коли вона використовується як інгредієнт у формулах миючих засобів [31].

Протягом останніх років дослідники вивчали склади на основі сурфактину для омолодження шкіри, особливо для пом'якшення зморшок, які з'являються в процесі природного старіння. Докази показали, що сурфактин виявляє чудову косметичну ефективність у розгладженні зморшок. Крім того,

деякі дослідження показали, що сурфактин посилює експресію гена довголіття, сіртуїну 1, у фібробластах ембріонів миші. Цей факт може вплинути на процес старіння, регулюючи генну активність клітини та відновлюючи пошкодження ДНК. Сиртуїни відіграють ключову роль в епігенетичних модифікаціях гістонів і контролюють експресію генів, залучених до регуляції реакції на окислювальний стрес і апоптозу. Коли ДНК пошкоджується в результаті ультрафіолетового випромінювання або впливу вільних радикалів, сіртуїни допомагатимуть механізму відновлення в пошкоджених областях [32]. Додавання 50 і 75 мкг сурфактину до культури клітин ембріональних фібробластів викликало значне збільшення експресії гена сіртуїну 1, на відміну від ресвератролу та пальмітоїл пентапептиду-3, інгредієнтів, які використовуються в косметичній промисловості в продуктах проти зморшок. У тій же роботі вимірювали концентрацію колагену.

Сурфактин у мікромольних концентраціях продемонстрував значний вплив на збільшення проліферації колагену, і серед концентрацій, використаних у цьому експерименті, 100 мкМ показали найкращі результати. Більше того, у попередньому дослідженні повідомлялося, що УФ-А може індукувати синтез матричних металопротеїназ у фібробластах шкіри людини, руйнуючи колаген, еластин та інші речовини у внутрішньоклітинному матриксі, що призводить до старіння. Сурфактин може пригнічувати активність матричної металопротеїдази у зазначених вище концентраціях.

Попадання світла є ще одним важливим фактором, пов'язаним з появою мімічних зморшок, широко відомих під терміном фотостаріння. Ультрафіолетове випромінювання шкодить шкірі головним чином через утворення активних форм кисню, які можуть пошкодити компоненти позаклітинного матриксу та вплинути як на структуру, так і на функцію клітин. Гострий вплив ультрафіолетового випромінювання може спричинити сонячні опіки, що призведе до сильної запальної реакції, що викликає характерне почервоніння, набряк і жар. Крім того, може виникнути зміна пігментації, пригнічення імунітету та пошкодження позаклітинного матриксу

шкіри. Молекули сурфактину можуть поглинати ультрафіолетове випромінювання, діючи як фізичний бар'єр при місцевому застосуванні. Додавання сурфактину в культури фібробластів сприяло виживанню клітин після піддавання культури ультрафіолетовим опроміненням [33].

Абдоллахі та ін. [34] підтвердили антиоксидантну здатність сурфактину. Було зроблено висновок, що він демонструє антиоксидантну активність і здатність інгібувати перекисне окислення ліпідів, демонструючи більшу антиоксидантну здатність, ніж інші поверхнево-активні речовини мікробного походження, і подібну ефективність до синтетичних антиоксидантів, таких як бутилгідроксіанізол. В інших експериментах сурфактин підвищував виживаність клітин ембріональних фібробластів після піддавання культури перекису водню, посилював інгібування окислювального руйнування мембранних ліпідів і відновлювальну здатність 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу при підвищенні його концентрації.

Ще однією вивченою властивістю була його цілюща якість. Сурфактин у формі гелю наносили на рани на мишачих моделях, демонструючи значне покращення часу загоєння. Була досягнута повна реепітелізація епідермісу з правильною організацією фібробластів і колагенових фібрил, уникаючи гіпертрофії рубця. У зоні застосування гелю спостерігалось зменшення запалення, посилення неоваскуляризації та краща корекція сполучної тканини. Найкращий результат відновлення рани був досягнутий при 15 мг/мл [35]. Ян та ін. у 2020 році описали подібну швидкість загоєння, використовуючи ту саму модель, але застосовуючи гель у концентрації 100 мкг/мл і досягаючи навіть вищих значень, ніж їхній позитивний контроль, що містить епідермальний фактор росту в тій же концентрації.

Сурфактин також має протизапальні властивості. Амфіфільні структурні характеристики сурфактину дозволяють йому взаємодіяти з клітинними мембранами та макромолекулами, такими як ліпополісахариди (ЛПС) та ферменти. Він здатний пригнічувати експресію ЛПС, індуковану інтерлейкіном 1β та ферментом синтази оксиду азоту. Він знижує рівні

плазматичного ендотоксину, фактора некрозу пухлини та оксиду азоту у щурів, які перенесли септичний шок, а також пригнічує взаємодію ліпиду А з ЛПС-зв'язуючим білком. Якщо говорити про клітину імунологічної системи, то 60 мкг/мл сурфактину викликало зміну структури макрофагів, роблячи їх більшими за звичайний розмір. Протизапальний ефект сурфактину полягає в його здатності негативно регулювати запальні цитокіни шляхом інгібування NF- κ B клітинного сигнального шляху, MAP-кіназного шляху та фосфатидилінозитол-3-кінази [36].

Сурфактин демонструє різноманітні протигрибкові властивості через інгібування синтезу глюкану та утворення калози в клітинних стінках грибів, таких як *Candida albicans* [37]. Сурфактин виявляє подвійну протигрибкову дію, включаючи утворення пор при високих концентраціях і індукцію апоптозу при низьких концентраціях. Сурфактин взаємодіє з мітохондріальною АТФазою, що призводить до зниження її активності. Він порушує клітинні мембрани, вставляючи свій пептид у ліпідні подвійні шари, що призводить до утворення пор і злиття везикул/мембран. Наявність іонів кальцію може нейтралізувати заряд сурфактину, впливаючи на його проникнення. Ці багатогранні механізми разом роблять сурфактин ефективним антимікробним засобом проти грибкових клітин.

Відкриття пор у ліпідних мембранах також можна використовувати для підвищення проникності клітин шкіри. Останні публікації описують використання сурфактину в синтезі наночастинок з метою інкапсуляції всередині ліпідних молекул, здатних вирішувати різні типи патологій або захворювань, збільшуючи біодоступність активних сполук за рахунок підвищення їх проникності до глибших шарів шкіри. Наприклад, трансдермальну проникність наноемульсії сурфактину проводили шляхом вимірювання флуоресцентного компонента, і помітну проникність спостерігали порівняно з контролем через 1 год після нанесення крему в дослідженні *ex vivo*. Композиції з сурфактином і вітамінами зменшували зміну кольору, судинні ураження та глибину зморшок на досліджуваній шкірі [38].

Дослідження *in vitro* показали, що сурфактин може покращити інтерналізацію клітинами хіміотерапевтичних препаратів широкого спектру дії, а комбіноване використання сурфактину значно покращило їх протипухлинну активність, не маючи явного впливу на нормальні клітини. Сурфактин може бути застосований як потенційний синергіст хіміотерапевтичних препаратів для зменшення їх лікувальної дози при збереженні терапевтичного ефекту при лікуванні карциноми шкіри, забезпечуючи альтернативний спосіб мінімізації побічних ефектів. Сурфактин значно збільшує інфільтрацію тучних клітин і рівень гістаміну, підвищує рівень IgE та імунопідсилювальних медіаторів, таких як інтерферон- γ , інтерлейкін (IL)-2, IL-6, IL-12 і фактор некрозу пухлини α в сироватки крові та тканин меланому, а також має значний протираковий ефект на рак шкіри меланому через непряму або пряму індукцію апоптозу клітин меланому B16F10 [39]. Крім того, інші протипухлинні механізми були з'ясовані в різних дослідженнях. Було показано, що сурфактин, отриманий з *Bacillus subtilis natto* ТК-1, індукує зупинку клітинного циклу в клітинах раку молочної залози людини MCF-7, особливо під час фази G2/M. Крім того, він запускає апоптоз шляхом підвищення рівня кальцію (Ca^{2+}). Інше дослідження показало, що сурфактин генерує активні форми кисню та індукує фосфорилування ERK 1/2 та JNK, зрештою сприяючи загибелі клітин через мітохондріальний/каспазний апоптотичний шлях.

Антибактеріальний механізм сурфактину включає руйнування клітинної мембрани патогенних бактерій, що призводить до дезінтеграції мембрани або дисбалансу осмотичного тиску, перешкоджає синтезу білка, що перешкоджає реплікації клітин, і пригнічує активність ферментів, тим самим порушуючи нормальний клітинний метаболізм. Механізми адгезії ЛПС і порушення ліпідної мембрани роблять сурфактин ідеальною молекулою для лікування бактерій, що продукують акне. Масляна формула з інтегрованим сурфактином ефективно зменшила набряк епідермісу та еритему, викликану *Propionibacterium acnes*, зменшила товщину епідермісу до 48,5% порівняно з

модельною контрольною групою та зменшила *P. acnes* в епідермісі до 1 log КУО/мл. Крім того, сурфактин-олеогель послабив окислювальний стрес в епідермісі шляхом підвищення активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази. Крім того, експресія індукцибельної синтази оксиду азоту, оксиду азоту, циклооксигенази-2, прозапальних цитокінів (наприклад, фактора пухлинного некрозу- α та інтерлейкіну-1 β) і ядерного фактора каппа-В в епідермісі була знижена [40].

Сурфактин стає екологічно чистим інгредієнтом косметики завдяки кільком основним властивостям. Властива йому здатність до біологічного розкладання забезпечує поступове, екологічно чисте розкладання, суттєво зменшуючи вплив на навколишнє середовище. Було проведено широкі дослідження щодо виробництва сурфактину, переважно з використанням бактеріальних культур, зокрема видів *Bacillus*. Ці дослідження приділяли значну увагу використанню різних субстратів, з особливим акцентом на побічних продуктах. Деякі з досліджених недорогих субстратів включають неочищений гліцерин з різних відходів, стічних вод маніоки, кухонних відходів, макухи чорного кмину та відходів пивоварні, серед іншого [41].

Наприклад, вважається, що антимікробна активність сурфактинових біосурфактантів пов'язана з їх накопиченням на поверхні мембрани бактеріальних клітин до досягнення порогової концентрації, що дозволяє їх проникненню в мембрану, що викликає подальший клітинний розпад. Крім того, існує гіпотеза, що деякі біоповерхнево-активні речовини вставляють свої гідрофобні фрагменти в бактеріальну клітинну мембрану перекидним способом, утворюючи пори, з подальшим витокм внутрішньоклітинного вмісту, коли клітини втрачають свою цілісність. Дійсно, більшість біосурфактантів є більш ефективними проти грамполозитивних бактерій, ніж грамнегативних [43].

Припускають, що наявність структури зовнішньої мембрани у грамнегативних бактерій забезпечує їм вибірковість і додатковий захист [44]. Тим не менш, дослідження показали, що більшість бактерій, що мешкають на

шкірі, є грампозитивними. Було пояснено, що висихання та високий осмотичний тиск на сухих поверхнях шкіри знижує здатність грамнегативних бактерій колонізувати та розмножуватися на таких поверхнях [45]. Таким чином, антимікробний потенціал мікробних біосурфактантів проти патогенних бактерій шкіри залишається перспективним (рис. 2.3).

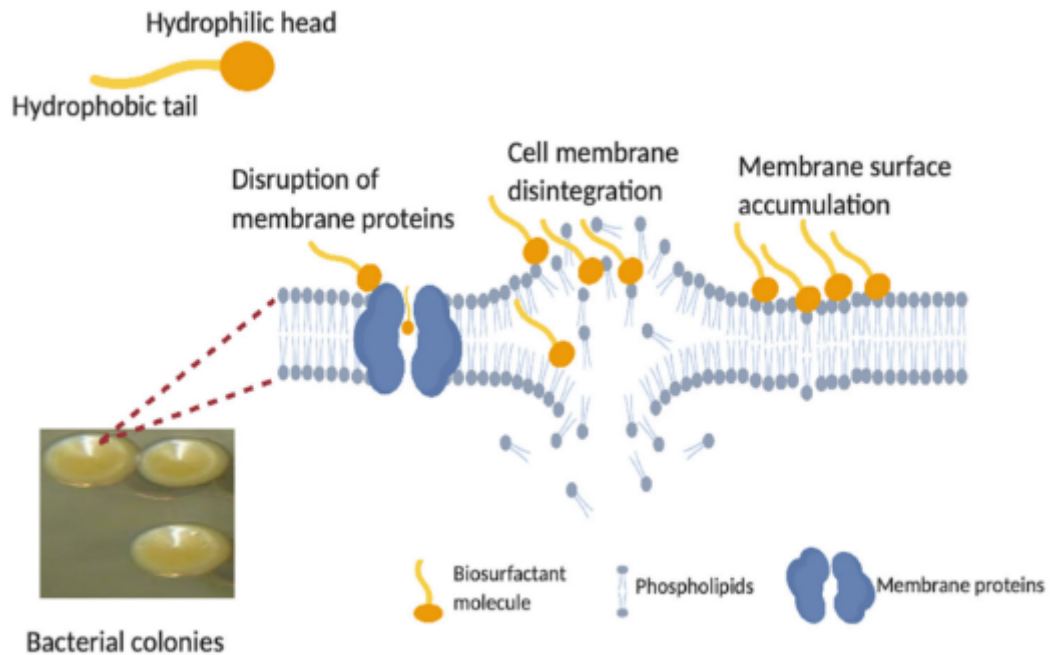


Рисунок 2.3. Теоретичні взаємодії між молекулами біосурфактанту та бактеріальними клітинами. Первинні механізми; руйнування клітинної мембрани та білків, відповідальних за основні функції [45].

Отже, проведення наукових досліджень з використання екзометаболітів *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах має важливе значення для розвитку та впровадження інноваційних продуктів у галузі особистої гігієни та догляду за шкірою. Стрімке зростання свідомості про проблеми навколишнього середовища та зміни в споживчих уподобаннях споживачів зробили еко-френдлі підходи надзвичайно важливими для бізнесу, включаючи галузь гігієнічних засобів.

Однією з причин, чому важливо ставати еко-френдлі в цій галузі, є зростання попиту споживачів на екологічно чисті та природні продукти. Відповідно, виробники гігієнічних засобів шукають способи зниження впливу

своєї діяльності на навколишнє середовище, використовуючи більш екологічно чисті інгредієнти та упаковку, а також зменшуючи викиди та відходи [5].

Бізнесам важливо також розуміти, що еко-френдлі підходи можуть забезпечити конкурентні переваги на ринку. Споживачі все більше віддають перевагу брендам, які демонструють свою відповідальність перед навколишнім середовищем та здоров'ям людей. Такі бренди здатні привертати більше уваги та зберігати лояльність клієнтів.

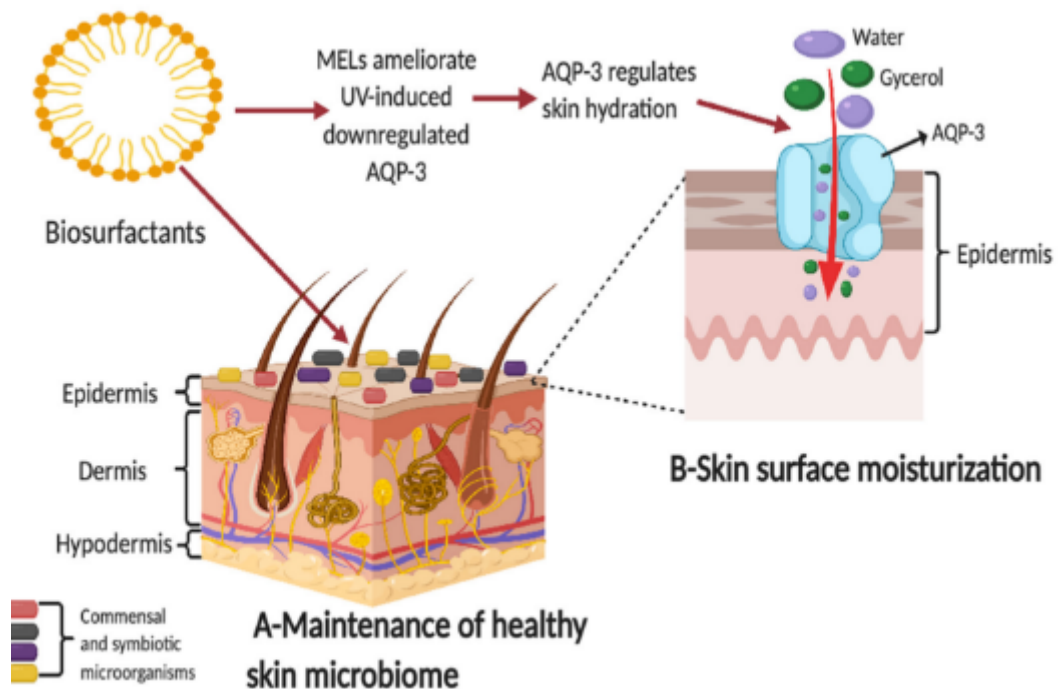


Рисунок 2.4. Потенційні переваги мікробних гліколіпідних і ліпепептидних біосурфактантів на шкіру людини та її мікробіом. (А) Підтримка здорового мікробіому шкіри; (В) Зволоження поверхні шкіри. AQP-3 = аквапорин 3, MELs = ліпіди манозилеритриту [45].

Крім того, еко-френдлі підходи можуть сприяти зменшенню витрат на виробництво та оптимізації управління ресурсами, що в свою чергу сприяє збільшенню прибутковості підприємства. Отже, відповідність еко-френдлі принципам може не лише сприяти збереженню навколишнього середовища,

але й мати позитивний вплив на бізнес, забезпечуючи стійкий розвиток та конкурентні переваги на ринку гігієнічних засобів.

Також є дослідження, які показують позитивний вплив на шкіру у людей з акне.

Вугрі — це досить поширене хронічне захворювання шкіри сальних фолікулів, яке може вражати до 50,9% жінок і 42,5% чоловіків протягом 20 років і може продовжувати виникати протягом усього зрілого віку. Патогенез захворювання є складним і включає взаємодію між гіперплазією сальних залоз, подальшим утворенням мікрокомедонів, пов'язаних із гіперкератинізацією стінки фолікула, та індукцією запальних реакцій у кератиноцитах і себоцитах. Крім *Cutibacterium acnes*, які можуть підтримувати патогенетичний процес акне через індукцію прозапальних і хемотаксичних молекул, шкіра з акне часто колонізується *Staphylococcus aureus*. Використовуючи підхід високопродуктивного секвенування, Dreano та ін. [46] виявили, що стафілококів було більше на поверхні комедонів, папул і пустул, ніж на шкірі без пошкоджень. Тагері та ін. [47] також повідомили, що світло, випромінюване цифровими екранами, може сприяти проліферації *S. aureus*, що, у свою чергу, може бути пов'язане з патогенезом акне. Юсуф та ін. [48] змогли ідентифікувати ріст *S. aureus* як у незапальних, так і в запальних ураженнях акне. Крім того, як антибіотики, так і дієтичні добавки, що містять пробіотики, можуть зменшити рівень носійства *S. aureus* на шкірі обличчя з акне.

Бактеріоцини — це бактеріально синтезовані рибосомально синтезовані антибактеріальні пептиди, що виділяються для захисту від росту близькоспоріднених видів бактерій. Бактеріоцини, що виробляються грампозитивними, аеробними та ендоспороутворюючими *Bacillus subtilis*, включаючи субтилін і субтилозин, активні проти багатьох штамів грампозитивних бактерій, включаючи *S. aureus*. Вони головним чином обмежують ріст патогенних бактерій, сприяючи утворенню пор на поверхні клітин-мішеней. Враховуючи їхню безпеку та стабільність, припускається, що

бактеріоцини *B. subtilis*, що застосовуються місцево, можуть мати терапевтичний потенціал при акне, сприяючи деколонізації *S. aureus*. Результати [49] мікробіологічних і клінічних досліджень показують, що місцево застосовані бактеріоцини з *B. subtilis* — безпечний інгредієнт бактеріального походження — може зменшити кількість як запальних, так і незапальних уражень шкіри, а також показники GAGS у пацієнтів з легким - акне середньої тяжкості. Результати свідчать про те, що клінічні ефекти бактеріоцинів з *B. subtilis* можуть бути пов'язані зі здатністю сприяти деколонізації *S. aureus* в областях акне. Примітно, що підхід до лікування був безпечним і асоціювався з високим рівнем задоволення.

Перспективи подальших досліджень з використанням екзометаболітів *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах широкі і включають такі аспекти: Подальші дослідження можуть спрямовуватися на оптимізацію формул гігієнічних засобів з використанням екзометаболітів *Bacillus subtilis* для досягнення максимальної ефективності та безпечності.

Важливо розкрити механізми впливу екзометаболітів на шкіру, включаючи їх взаємодію з клітинами шкіри та молекулярні шляхи, які вони активують. Проведення клінічних випробувань для підтвердження безпеки та ефективності гігієнічних засобів з екзометаболітами *Bacillus subtilis* на різних типах шкіри та у різних умовах. Подальші дослідження можуть стосуватися оптимізації процесів виробництва екзометаболітів для підвищення їхньої ефективності та зниження витрат [1].

Дослідження можуть розширити область застосування екзометаболітів *Bacillus subtilis* на інші сфери, такі як косметологія та медицина. Ці напрямки досліджень можуть сприяти подальшому розвитку гігієнічних засобів з використанням екзометаболітів *Bacillus subtilis* та розширити їхню роль у забезпеченні здоров'я та краси шкіри. Проведення досліджень з використанням екзометаболітів *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах є важливим з кількох причин.

По-перше, такі дослідження допомагають підтвердити ефективність та безпеку продукту, що є важливим аспектом як для споживачів, так і для регулятивних організацій. Ретельне наукове обґрунтування дозволяє впевнитися у якості та ефективності нових гігієнічних засобів, що сприяє підвищенню довіри споживачів.

По-друге, дослідження допомагають розкрити механізми дії екзометаболітів на шкіру та інші фізіологічні процеси. Це розуміння є важливим для подальшого вдосконалення продуктів та розробки більш ефективних формул.

Третій аспект полягає в оптимізації формул гігієнічних засобів на основі наукових даних. Результати досліджень дозволяють покращити склад продукту з метою досягнення максимальної ефективності та задоволення потреб споживачів. Крім того, проведення досліджень з екзометаболітами *Bacillus subtilis* сприяє підвищенню конкурентоспроможності продукції на ринку, а також розвитку нових ринків у галузі гігієнічних засобів. Це дозволяє компаніям залучати більше споживачів та розширювати асортимент продукції.

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ II.

Бактерії роду *Bacillus* відомі своєю здатністю до синтезу широкого спектру корисних речовин, які можуть мати важливе значення для різних галузей, включаючи гігієнічні продукти. Склад екзометаболітів *Bacillus subtilis* включає амінокислоти, вітаміни та ферменти.

Bacillus subtilis може виділяти різноманітні амінокислоти, серед яких особливо важливі лейцин, лізин та інозитол. Лейцин та лізин відіграють важливу роль у синтезі білків та клітинних процесах, а інозитол є важливим для метаболічних процесів в клітинах.

Bacillus subtilis може виробляти важливі вітаміни, такі як вітамін К, який має значення для здоров'я кісток та здатності до згортання крові. Крім того, деякі штами цієї бактерії здатні синтезувати вітамін В12, який важливий для нервової системи та імунної системи.

Bacillus subtilis виробляє різноманітні ферменти, такі як протеази, амілази, ліпази та ксіланази. Ці ферменти мають значення для розщеплення білків, вуглеводів та жирів у навколишньому середовищі, що може мати важливе значення для біологічних процесів та промислових застосувань.

Екзометаболіти *Bacillus subtilis* можуть мати корисний вплив на шкіру людини. Дослідження показують, що деякі з цих сполук можуть мати протизапальні, антибактеріальні та зволожуючі властивості, що робить їх цікавими для використання у гігієнічних засобах.

Відомо, що екзаметаболіти *Bacillus subtilis* можуть сприяти зменшенню запалення шкіри та боротьбі з бактеріальною інфекцією, що може бути корисним для осіб з проблемною шкірою або шкірними захворюваннями. Крім того, деякі з цих сполук можуть допомагати зберігати шкіру зволоженою, що є важливим для підтримки її здоров'я та молодість.

Аналіз складу екзометаболітів *Bacillus subtilis* показує, що ці бактерії можуть виділяти різноманітні корисні речовини, такі як амінокислоти, вітаміни та ферменти, які можуть мати важливе значення для різних галузей, включаючи гігієнічні продукти. Вплив екзаметаболітів *Bacillus subtilis* на шкіру може бути корисним, забезпечуючи захист від запалення та інфекцій та підтримуючи здоров'я та молодість шкіри.

РОЗДІЛ III. МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ *BACILLUS SUBTILIS* У ГІГІЄНІЧНИХ ЗАСОБАХ

Гігієнічні засоби - це продукти, які використовуються для забезпечення особистої гігієни та підтримання чистоти тіла, включаючи мило, шампунь, зубну пасту, засоби для догляду за волоссям, креми для тіла, антисептики для рук, гігієнічні прокладки, мочалки тощо. Ці засоби призначені для очищення, дезінфекції, ароматизації та догляду за різними частинами тіла, сприяючи підтримці здоров'я і благополуччя.

Історія гігієнічних засобів сягає глибоко в минуле, до епохи стародавніх цивілізацій. У різних культурах і періодах часу використовувалися різноманітні засоби для особистої гігієни та догляду за тілом. У Давньому Єгипті використовувалися різні мила і олії для очищення тіла. До складу мил із того часу входили такі компоненти, як масло, жири, піщаний камінь і спеціальні рослинні екстракти.

У Давній Греції і Римі відомі були масла для масажу тіла, використання ароматичних рослин для ароматизації та антисептичних засобів для догляду за шкірою. У середньовіччі в Європі гігієнічні засоби були менше поширені через загальний відсутність гігієнічних стандартів і знань. Однак у багатьох культурах залишалися традиції використання ароматичних рослин і природних екстрактів для догляду за тілом.

У середині 19-го століття розпочалося промислове виробництво мил, зубних паст і шампунів, що відкрило нову еру у розвитку гігієнічних засобів. З появою наукових досліджень і розвитком хімічної промисловості з'явилися нові склади і технології виготовлення засобів для особистої гігієни. Сьогодні гігієнічні засоби стали невід'ємною частиною нашого повсякденного життя і доступні у різноманітних формах і складах, що відповідають різним потребам і вимогам користувачів. Гігієнічні засоби включають широкий спектр продуктів, які використовуються для особистої гігієни та догляду за тілом. Мило. Одна з найбільш поширених форм гігієнічного засобу, яке

використовується для очищення шкіри від бруду і бактерій. Мила можуть бути рідкі або тверді, містити різні аромати і компоненти, такі як зволожувачі або антисептики.

Шампуні. Призначені для миття волосся і шкіри голови. Шампуні допомагають видалити забруднення, зайву олію та рештки продуктів для стайлінгу, а також забезпечують зволоження і живлення волосся.

Зубні пасти. Використовуються для чищення зубів і ясен. Зубні пасти містять абразивні компоненти для видалення нальоту та забруднень, а також флуорид для захисту зубів від карієсу.

Дезодоранти та антиперспіранти. Призначені для контролю над потовиділенням та запахом тіла. Дезодоранти маскують неприємний запах, антиперспіранти ж зменшують потовиділення.

Креми та лосьйони для тіла. Використовуються для зволоження і заспокоєння сухої або подразненої шкіри. Креми можуть містити різні складові, такі як вітаміни, алое вера або екстракти рослин, які покращують стан шкіри. Вологі серветки і антисептичні гелі. Використовуються для швидкого очищення рук або поверхонь від бактерій і вірусів. Антисептичні гелі містять спеціальні антимікробні компоненти для знищення шкідливих мікроорганізмів.

План по розробці та впровадженню *Bacillus subtilis* у гігієнічні засоби:

Етап 1: Підготовчий етап

1. Літературний огляд. Провести докладний аналіз наукової літератури щодо властивостей *Bacillus subtilis* та його потенційного використання у гігієнічних засобах.
2. Вибір штаму. Обрати підходящий штам *Bacillus subtilis* для використання в гігієнічних засобах, враховуючи його антимікробні та зволожувальні властивості.
3. Вивчення потенційних ефектів. Провести додаткові дослідження щодо впливу екзометаболітів *Bacillus subtilis* на шкіру, включаючи їхні антибактеріальні, протизапальні та антиоксидантні властивості.

Етап 2: Розробка формули

1. Склад і концентрація. Визначити оптимальний склад та концентрацію *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах для досягнення максимального ефекту.
2. Додаткові компоненти. Розробити формулу з урахуванням додаткових компонентів, які підсилюватимуть дію *Bacillus subtilis* та забезпечуватимуть додаткові корисні властивості для шкіри.

Етап 3: Лабораторні випробування

1. Визначення ефективності. Провести серію лабораторних випробувань для оцінки антимікробної, протизапальної та зволожувальної ефективності гігієнічних засобів з *Bacillus subtilis*.
2. Оцінка безпеки. Провести дослідження щодо безпеки використання *Bacillus subtilis* на шкірі та визначити потенційні ризики для здоров'я.

Етап 4: Клінічні випробування

1. Клінічні дослідження. Провести клінічні випробування гігієнічних засобів на великій групі добровольців для оцінки їх ефективності та безпеки в реальних умовах використання.

Етап 5: Виробництво та впровадження

1. Виробництво. Розпочати виробництво гігієнічних засобів з використанням *Bacillus subtilis* на виробничому масштабі.
2. Маркетингові заходи. Розробити маркетингову стратегію для впровадження продукції на ринок та просування її серед споживачів.
3. Впровадження на ринок. Почати поступове впровадження гігієнічних засобів на ринок та здійснити моніторинг їх ефективності та популярності серед споживачів.
4. Постійне вдосконалення. Продовжувати дослідження та вдосконалення формули гігієнічних засобів на основі отриманих результатів і зворотнього зв'язку від користувачів [8].

Впровадження концепції *Bacillus subtilis* у гігієнічні засоби може відкрити нові можливості для створення ефективних інноваційних продуктів,

спрямованих на покращення гігієни та захисту шкіри. Ця концепція полягає у використанні корисних властивостей бактерії *Bacillus subtilis* та її екзометаболітів у створенні гігієнічних засобів, таких як мила, гелі для душу, креми для рук та тіла, антисептики тощо.

Переваги включення *Bacillus subtilis* у гігієнічні засоби полягають у наступному:

1. Збереження мікробіому шкіри. *Bacillus subtilis* може допомогти підтримувати природний баланс мікробіому шкіри, запобігаючи розвитку шкідливих мікроорганізмів і зберігаючи здорову шкіру.
2. Протизапальний та антибактеріальний ефект. Екзометаболіти *Bacillus subtilis* можуть мати протизапальні та антибактеріальні властивості, що допомагають зменшити запалення та запобігти інфекціям шкіри.
3. Зволоження та живлення шкіри. Деякі екзометаболіти можуть зберігати вологу в шкірі та забезпечувати її живлення, покращуючи стан та вигляд шкіри.

План реалізації концепції *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах може включати наступні кроки:

1. Дослідження. Проведення наукових досліджень для вивчення властивостей *Bacillus subtilis* та його екзометаболітів, їх впливу на шкіру та можливостей використання у гігієнічних засобах.
2. Розробка формули. Розробка оптимальної формули гігієнічних засобів, яка містить *Bacillus subtilis* та інші компоненти для досягнення необхідних цілей догляду за шкірою.
3. Випробування. Проведення клінічних випробувань для оцінки ефективності та безпеки гігієнічних засобів на основі *Bacillus subtilis*.
4. Виробництво та випуск на ринок. Виробництво та випуск готових продуктів на ринок, які містять *Bacillus subtilis* у складі.

Реалізація концепції *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах може стати кроком у напрямку створення більш ефективних та безпечних засобів для

догляду за шкірою, що відповідає сучасним тенденціям у галузі косметології та гігієни.

Застосування *Bacillus subtilis* у житті може мати різноманітні варіанти. Розробка гігієнічних засобів на основі *Bacillus subtilis*, таких як мило, гелі для душу, шампуні, креми для рук тощо, які сприяють збереженню природного мікробіома шкіри та підтримці її здоров'я. Використання *Bacillus subtilis* у складі косметичних засобів, таких як креми для обличчя, маски для шкіри або серуми, що сприяють зменшенню вікових змін, покращенню стану шкіри та боротьбі з проблемами, такими як акне або розширені пори. Розробка медичних препаратів на основі *Bacillus subtilis* для лікування шкірних захворювань, таких як дерматити, екзема або псоріаз, а також для попередження інфекцій та запалень.

Використання *Bacillus subtilis* у складі засобів для освіження повітря, що допомагають у зниженні неприємних запахів та очищенні повітря від шкідливих мікроорганізмів. Використання *Bacillus subtilis* у виробництві біопрепаратів для захисту рослин від хвороб та шкідників у садівництві, що сприяє збільшенню врожаю та покращенню якості продукції. Використання *Bacillus subtilis* у виробництві пробіотиків для тварин, які сприяють здоров'ю шлунково-кишкового тракту, підвищенню імунітету та зниженню ризику захворювань.

Як відомо, *Bacillus subtilis* SPB1 здатний спільно виробляти ліпопептидні сполуки, що складаються з різних ізоформ сурфактину, ітуруину та фенгіцину [17]. SPB1 BioS демонструє широкий спектр дії, включаючи антимікробну активність проти мікроорганізмів із мультирезистентними профілями [18], інсектицидну активність, протигрибкову активність щодо фітопатогенних грибів [19], антидіабетичні та антиліпідемічні властивості у щурів з діабетом, індукованим алоксаном [20], зі зниженою токсичністю щодо живих клітин і антиоксидантною активністю [21]. Крім того, ліпопептид був здатний зменшити поверхневий натяг (ST) води разом із солюбілізуючою, мобілізуючою та емульгуючою активністю. В іншому випадку, як розроблено

Bouassida et al. [22], ліпопептид SPB1 був включений у формули зубних паст і миючих засобів. Формула зубної пасти довела свою здатність очищати з потенційно важливою антимікробною активністю, яка була дуже ефективною проти *Klebsiella pneumoniae*.

У роботі [42], по-перше, були досліджені склади кремів для шкіри з використанням хімічних поверхнево-активних речовин і ліпопептидних біосурфактантів, виділених з *Bacillus subtilis SPB1*. Ефективність обраної формули, що містить 15% біосурфактанту, була перевірена, її фізико-хімічні властивості були задовільними. Фактично, він демонструє здатність до поширення 23 мм, активність води 0,72 і значення рН 5. Крім того, його біологічна активність була цікавою, демонструючи зону інгібування проти грампозитивних бактерій у діапазоні від 8 до 15 мм. Крім того, він має антирадикальну дію проти дифеніл-1-пікрилгідрозилу (DPPH) з IC50 порядку 68 мг/мл. По-друге, у пошуках високостабільної композиції біосурфактанту SPB1 для легкого комерційного тренду було оптимізовано поєднання біосурфактанту, гуміарабіку (GA) та гліцерину за допомогою конструкції Бокса–Бенкена (BB). Як проаналізовано, модель передбачає оптимальне значення поверхневого натягу (ST), що дорівнює $40,18 \pm 0,39$ мН/м, коли відповідні значення процентного вмісту SPB1 BioS, гліцерину та GA дорівнюють 72,62, 7,5 та 1,5%. За цих умов індекс емульгування (EI)-24% становить близько $81,76 \pm 0,14\%$.

Неочищений BioS використовували для приготування складу крему для шкіри. Як описано Kumar et al. (2012), з невеликими змінами, рецептура складалася з рідкого парафіну (46%), білого бджолиного воску (23%) і очищеної води (31%). Було прийнято відповідні стандартні методи плавлення, коли тверді жири розплавляли та змішували в гарячій воді та додавали відомі кількості BioS або хімічної поверхнево-активної речовини під назвою лаурилсульфат натрію (SLS) у зростаючих концентраціях 5, 8, 10 та 15%. Інгредієнти перемішують до отримання однорідного крему. Усі препарати

були упаковані в пластикові банки з широким горлом і кришками, що закручуються.

Отримані результати показали, що біосурфактант SPB1 був таким же ефективним, як і хімічний, що підтверджує його потенційне використання у складі крему. З точки зору, необхідні інші дослідження, такі як сенсорний аналіз, дослідження стабільності та дослідження ринку, щоб покращити комерціалізацію продукту. Крім того, ми змогли підготувати рецептуру на основі біоповерхнево-активної речовини, яка має важливу емульгуючу властивість, що сприяє її використанню в косметичній сфері.

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ III.

У цьому розділі було розглянуто потенційне використання екзометаболітів *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах. Бактерії роду *Bacillus* відомі своїми корисними властивостями, зокрема здатністю синтезувати різноманітні речовини, які можуть бути корисними для здоров'я шкіри та загалом для гігієни. Аналіз складу екзометаболітів вказує на наявність амінокислот, вітамінів, ферментів та інших речовин, які можуть мати корисний вплив на шкіру та загальний стан організму.

Отже, розділ відобразив потенційні переваги використання екзометаболітів *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах. Ці речовини можуть сприяти покращенню стану шкіри, захисту від шкідливих мікроорганізмів та загалом підтримувати здоров'я. Подальше наукове дослідження та розробка продуктів на основі цих екзометаболітів можуть привести до створення ефективних гігієнічних засобів, які будуть корисні для людей та сприятимуть збереженню природного балансу шкіри.

ВИСНОВКИ

Bacillus subtilis - це грам-позитивна бактерія, яка зазвичай зустрічається у ризосфері рослин. Вона має здатність утворювати ендоспори, що дозволяє їй виживати в різних умовах. Ці бактерії можуть бути корисними для рослин, сприяючи їхньому зростанню та захисту від патогенів.

Штами *Bacillus subtilis* можуть бути різні за своїми властивостями та генетичним складом. Їх ідентифікація зазвичай відбувається за допомогою біохімічних та молекулярно-генетичних методів. Ці бактерії культивуються на різних середовищах, таких як агарові петрівські чашки, збагачені поживними речовинами для сприяння їхньому росту та розвитку.

Бактерії роду *Bacillus subtilis* мають потенціал для використання у гігієнічних засобах через їхню здатність конкурувати з патогенними мікроорганізмами. Принцип біологічної домінації полягає в тому, що ці корисні бактерії можуть займати екологічні ніші та конкурувати з патогенами за ресурси, тим самим сприяючи підтримці здоров'я шкіри та запобіганню захворюванням.

Бактерії роду *Bacillus* відомі своєю здатністю виробляти широкий спектр корисних речовин, таких як амінокислоти, вітаміни та ферменти.

- Амінокислотний склад: *Bacillus subtilis* містить амінокислоти, такі як лейцин, лізин, глутамат, аспартат, гліцин, сірка, аргінін і треонін. Ці амінокислоти є важливими будівельними блоками для білків та інших біологічно активних сполук.
- Вітаміни: *Bacillus subtilis* може синтезувати різні вітаміни, включаючи вітаміни групи В (наприклад, вітамін В12), вітамін К та інші, які є важливими для забезпечення нормального функціонування організму.
- Ферменти: Ці бактерії виробляють різні ферменти, такі як протеази, амілази та інші, які використовуються для розщеплення біомаси та інших складних органічних сполук на більш прості компоненти. Це

може бути корисним для різних промислових процесів, а також для застосування у галузі медицини та косметології.

Екзаметаболіти *Bacillus subtilis* можуть мати позитивний вплив на шкіру. Вони можуть допомагати в підтримці здоров'я шкіри, зменшенні запалення, регулюванні вироблення себуму та забезпеченні захисту від патогенних мікроорганізмів. Екзаметаболіти можуть також сприяти зволоженню шкіри та підвищенню її еластичності, що робить їх корисними складовими для косметичних та дерматологічних продуктів.

Зважаючи на можливості використання екзосметаболітів *Bacillus subtilis* у гігієнічних засобах, можна виділити кілька ключових аспектів:

Перше, антибактеріальні властивості екзосметаболітів можуть ефективно боротися зі шкідливими бактеріями на шкірі, допомагаючи у попередженні інфекцій та запалень.

Друге, антигрибкові властивості екзосметаболітів можуть бути корисними для боротьби з грибковими інфекціями, які часто призводять до покраснень та свербіжу на шкірі.

Третє, екзосметаболіти можуть допомагати зменшити запалення на шкірі, заспокоюючи подразнення та зменшуючи червоні плями.

Четверте, зволожуючі властивості екзосметаболітів сприяють збереженню вологи в шкірі та попередженню її сухості та лущення.

П'яте, захист від неприємного запаху може бути досягнутий завдяки екзосметаболітам, які знижують концентрацію бактерій, відповідальних за його утворення.

Шосте, екзосметаболіти сприяють швидшому відновленню та регенерації пошкодженої шкіри, що допомагає швидше загоїння ран та подряпин. Нарешті, вони можуть покращувати еластичність шкіри, допомагаючи зменшити видимість зморшок та зберегти молодий вигляд.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Гадзало Я. М., Патика М. В., Заришняк А. С., Патика Т. І. Агромікробіологія з основами біотехнології: монографія. Київ: Аграрна наука, 2019. 204 с.
2. Гадзало Я. М., Патика Н. В., Заришняк А. С. Агробіологія ризосфери рослин: монографія. Київ: Аграрна наука, 2015. 386 с.
3. Гуляєва Г. Б., Патика В. П., Токовенко І. П., Патика М. В., Максін В. І., Каплуненко В. Г. Фізіологічний вплив наноаквацитратів срібла і міді на розвиток *Galega orientalis* у разі застосування консорціуму мікроорганізмів і штучного зараження *Acholeplasma laidlawii* var. *Granulum*. Фізіологія рослин та генетика. 2019. Т. 50, № 1. С. 39–45.
4. Гутієррез-Манеро Ф. Х., Рамос-Солано Б., Пробанса А., Мехуачі Дж., Тадео Ф. Р., Талон М. Рослинні ростові бактерії родів *Bacillus pumilus* і *Bacillus lichiniformis* продукують велику кількість фізіологічно активних гіберелінів. Фізіологія рослин. 2008. Т. 111, № 2. С. 206–211.
5. Хончар А., Тоньха О., Патика Н., Ликголат Й., Патика Т. Морфологічна та фізіолого-біохімічна варіабельність спороутворюючих бактерій, ізольованих із агроценозу пшениці ярової. Регулювання механізмів в біосистемах. 2021. Т. 12, № 4. С. 588–593.
6. Караденіз А., Топчуоглу С. Ф., Інан С. Виробництво оксина, гібереліну, цитокініну та абсцизової кислоти деякими бактеріями. Світовий журнал мікробіології та біотехнології. 2006. № 22. С. 1061–1064.
7. Кіроянц М., Патика Т., Патика М. Філогенетичний аналіз домінантних мікроорганізмів родів *Bacillus* і *Phyllobacterium*, ізольованих з ризосфери ячменю ярового. Вісник аграрної науки. 2020. Т. 98, № 5. С. 48–53.
8. Kotz S. Y., Morgun V. V., Palyuka V. F. Біологічне зв'язування азоту: бобово-ризобіальний симбіоз. Київ: Логос, 2 томи. 523 с.
9. Kotz S. Y., Vorobei N. A., Kirichenko O. V. Мікробіологічні препарати для сільського господарства: довідник. Київ: Логос, 2016. 48 с.

10. Olanrewaju O. S., Glick B. R., Babalola O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2022. Vol. 36.
11. Pradhubbna L. Gupta, Mahendrapalshing Rajput, Tejas Oza , Ujwalkumar Trivedi and Gauvar Sahghvi *Eminence of Microbial Products in Cosmetic Industry Nat Prod Bioprospect* 2019; 9(4): 267-278
12. Jian-Lin Xu, Zhi-Feng Liu, Xiao-Wei Zhang, Hai-Li Liu Yong Wang *Microbial Oligosaccharides with Biomedical Applications Mar Drugs*. 2021 Jun; 19(6): 350
13. Tepper E. Z., Shylnykova V. K., Pereverzeva H. I. *Praktykum po mikrobiologii*. Moskva: Kolos, 1979. 138 s.
14. Goldman E. *Practical Handbook of Microbiology*. Third Edition. Boca Raton: CRC Press, 2015. 1055 p.
15. Ze'evi Ma'or, Robin Temmerman , Xinmin Zhang; *Topical Application of Synbiotic Bacillus Preparations Positively Affects Skin (Micro) Biology; Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* 2023
16. Lars Lilge, Nadine Ersig, Philipp Hubel, Moritz Aschern, Evelina Pillai, Peter Klausmann, Jens Pfannstiel, Marius Henkel, Kambiz Morabbi Heravi *Surfactin Shows Relatively Low Antimicrobial Activity against Bacillus subtilis and Other Bacterial Model Organisms in the Absence of Synergistic Metabolites* 2022 Apr; 10(4): 779
17. Mnif I., Chaabouni E. S. & Ghribi D. 2013a *Economic production of Bacillus subtilis SPB1 biosurfactant using local agroindustrial wastes and its application in enhancing solubility of diesel. Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 88, 779–787.
18. Ghribi D., Abdelkefi-Mesrati L., Mnif I., Kammoun R., Ayadi I., Saadaoui I., Maktouf S. & Chaabouni-Ellouze S. 2012a *Investigation of antimicrobial activity and statistical optimization of Bacillus subtilis SPB1 biosurfactant*

- production in solid-state fermentation. *Journal of Biomedecine and Biotechnology*. doi:10.1155/2012/373682doi:10.1155/2012/373682.
19. Mnif I., Maktouf S., Fendri R., Kriaa M., Ellouze S. & Ghribi D. 2016b Improvement of methyl orange dye biotreatment by a novel isolated strain, *Aeromonas veronii* GRI, by SPB1 biosurfactant addition. *Environmental Science and Pollution Research* 23(2), 1742–1754.
 20. Zouari R., Moalla-Rekik D., Sahnoun Z., Rebai T., Ellouze-Chaabouni S. & Ghribi-Aydi D. 2016 Evaluation of dermal wound healing and in vitro antioxidant efficiency of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant. *Biomedical Pharmacology* 84, 878–891.
 21. Mnif I., Chaabouni E. S. & Ghribi D. 2013a Economic production of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant using local agroindustrial wastes and its application in enhancing solubility of diesel. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 88, 779–787.
 22. Bouassida M., Fourati N., Krichen F., Zouari R., Ellouz-Chaabouni S. & Ghribi D. J. 2017 Potential application of *Bacillus subtilis* SPB1 lipopeptides in toothpaste formulation. *Journal of Advanced Research* 28(4), 425–433.
 23. Whang LM, Liu PW, Ma CC, Cheng SS. Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *J Hazard Mater*. 2008; 151(1): 155–163.
 24. Zouari O, Lecouturier D, Rochex A, Chataigne G, Dhulster P, Jacques P, et al. Bio-emulsifying and biodegradation activities of syringafactin producing *Pseudomonas* spp. strains isolated from oil contaminated soils. *Biodegradation*. 2019; 30(4): 259–272.
 25. Vaz DA, Gudina EJ, Alameda EJ, Teixeira JA, Rodrigues LR. Performance of a biosurfactant produced by a *Bacillus subtilis* strain isolated from crude oil samples as compared to commercial chemical surfactants. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2012; 89: 167–174.
 26. Basit M., Rasool M. H., Naqvi S. A. R., Waseem M. & Aslam B. 2018 Biosurfactants production potential of native strains of *Bacillus cereus* and

- their antimicrobial, cytotoxic and antioxidant activities. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* 31(1), 251–256.
27. Bouassida M., Fourati N., Krichen F., Zouari R., Ellouz-Chaabouni S. & Ghribi D. J. 2017 Potential application of *Bacillus subtilis* SPB1 lipopeptides in toothpaste formulation. *Journal of Advanced Research* 28(4), 425–433.
28. Загальні технології харчової промисловості: Метод. вказівки до вик. лаб. практикуму студ. заоч. форми навчання напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія» спец. «Технологія продуктів бродіння і виноробства» / Укл.: А.М. Куц, М.В. Бондар, Ю.В. Булій. – К: НУХТ, 2011. – 53.
29. Drakontis CE, Amin S. Biosurfactants: formulations, properties, and applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2020; 48: 77–90.
30. Henkel M, Hausmann R. Diversity and classification of microbial surfactants. In: DG Hayes, DKY Solaiman, RD Ashby, editors. *Biobased surfactants*. United Kingdom: AOCS Press; 2019. p. 41–63.
31. Fei D, Zhou GW, Yu ZQ, Gang HZ, Liu JF, Yang SZ, et al. Low-toxic and nonirritant biosurfactant surfactin and its performances in detergent formulations. *J Surfactant Deterg.* 2019; 23(1): 109–118.
32. Kikuchi T, Hasumi K. Enhancement of plasminogen activation by surfactin C: augmentation of fibrinolysis in vitro and in vivo. *Biochem Biophys.* 2002; 1596: 234–245.
33. Hoffmann M, Muck D, Grossmann L, Greiner L, Klausmann P, Henkel M, et al. Surfactin from *Bacillus subtilis* displays promising characteristics as O/W-emulsifier for food formulations. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2021; 203:111749.
34. Abdollahi S, Tofighi Z, Babae T, Shamsi M, Rahimzadeh G, Rezvanifar H, et al. Evaluation of anti-oxidant and anti-biofilm activities of biogenic surfactants derived from *Bacillus amyloliquefaciens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Iran J Pharm Res.* 2020; 19(2): 115–126.

35. Zouari R, Moalla-Rekik D, Sahnoun Z, Rebai T, Ellouze-Chaabouni S, Ghribi-Aydi D. Evaluation of dermal wound healing and in vitro antioxidant efficiency of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant. *Biomed Pharmacother.* 2016; 84: 878–891.
36. Emine YalçınÇavuşoğlu K. Structural analysis and antioxidant activity of a biosurfactant obtained from *Bacillus subtilis* RW-I. *Turk J Biochem.* 2010; 35(3): 243–247.
37. Yan L, Han K, Pang B, Jin H, Zhao X, Xu X, et al. Surfactin-reinforced gelatin methacrylate hydrogel accelerates diabetic wound healing by regulating the macrophage polarization and promoting angiogenesis. *Chem Eng J.* 2021; 414: 128836.
38. Seydlová G, Svobodová J. Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications. *Open Med.* 2008; 3(2): 123–133.
39. Zhang Y, Liu C, Dong B, Ma X, Hou L, Cao X, et al. Anti-inflammatory activity and mechanism of surfactin in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Inflammation.* 2015; 38(2): 756–764.
40. Chen X, Lu Y, Shan M, Zhao H, Lu Z, Lu Y. A mini-review: mechanism of antimicrobial action and application of surfactin. *World J Microbiol Biotechnol.* 2022; 38(8): 143.
41. Zouari O, Lecouturier D, Rochex A, Chataigne G, Dhulster P, Jacques P, et al. Bio-emulsifying and biodegradation activities of syringafactin producing *Pseudomonas* spp. strains isolated from oil contaminated soils. *Biodegradation.* 2019; 30(4): 259–272.
42. Adu S. A., Naughton P. J., Marchant R. & Banat I. M. J. 2020 Microbial biosurfactants in cosmetic and personal skincare pharmaceutical formulations. *Pharmaceutics* 12, 1099.
43. Peyrat, L.; Tsafantakis, N.; Georgousaki, K.; Ouazzani, J.; Genilloud, O.; Trougakos, I.P.; Fokialakis, N. Terrestrial Microorganisms: Cell Factories of Bioactive Molecules with Skin Protecting Applications. *Molecules* 2019, 24, 1836.

44. Patel, S.; Ahmed, S.; Eswari, J.S. Therapeutic cyclic lipopeptides mining from microbes: Latest strides and hurdles. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2015, 31, 1177–1193
45. Falk, N.A. Surfactants as Antimicrobials: A Brief Overview of Microbial Interfacial Chemistry and Surfactant Antimicrobial Activity. *J. Surfactants Deterg.* 2019, 22, 1119–1127.
46. Dreno B, Martin R, Moyal D, et al.. Skin microbiome and acne vulgaris: Staphylococcus, a new actor in acne. *Exp Dermatol* 2017; 26: 798-803.
47. Taheri M, Darabyan M, Izadbakhsh E, et al.. Exposure to visible light emitted from smartphones and tablets increases the proliferation of Staphylococcus aureus: can this be linked to acne? *J Biomed Phys Eng* 2017; 7: 163-8.
48. Jusuf NK, Putra IB, Sari L. Differences of microbiomes found in non-inflammatory and inflammatory lesions of acne vulgaris. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2020; 13: 773-80.
49. Alessandrini G, Mercuri SR, Martella A, et al. Topical application of bacteriocins from *Bacillus subtilis* promotes *Staphylococcus aureus* decolonization in acneic skin and improves the clinical appearance of mild-to-moderate acne. *Postepy Dermatol Alergol* 2023; 40: 115–18.
50. Colin R Harwood, Yoshimi Kikuchi The ins and outs of *Bacillus* proteases: activities, functions and commercial significance *FEMS Microbiol Rev.* 2022;46(1)
51. Ramita Taggar et al. *Front Microbiol.*2021. Deciphering the Antibacterial Role of Peptide From *Bacillus Subtilis* subsp *spizizenii* Ba49 Against *Staphylococcus aureus*
52. Jagadeeswara Reddy K., Karimakaran K. T. Purification and characterization of hyaluronic acid produced by *Streptococcus zooepidemicus* strain 3523-7. Research article // *J. BioSci. Biotech.* - 2013. - Vol. 2(3). - P. 173-179.

53. M.D. Shtenikov, A.M. Ostapchuk, V .O. Ivanytsia «COMPOSITION OF FATTY ACIDS, AMINO ACIDS AND MONOSACCARIDES OF BACILLUS GENUS BACTERIA ISOLATED FROM THE BLACK SEA BOTTOM SEDIMENTS» ISSN 2076–0558. Мікробіологія і біотехнологія. 2020. № 1. С 20–31
54. Mingya Zhang et al Proteomics 2023 Global landskape of lysine acylomes in *Baccilus subtilis*
55. Huan Fang, Jie Kang, Dawei Zhang ; Microbial Production o Vitamin B12 : a review and future perspectives; *Microb Cell Fact.* 2017;16;15
56. Min-Ji Kang, Kwang-Rim Baek, Ye-Rim Lee, Geun-Hyung Kim, Seung-Oh Seo. Production of Vitamin K by Wild-Type and Engineered Microorganisms *Microorganisms.* 2022;10(3):554
57. Yuan Su, Chuan Liu, Huan Fang, Dawei Zhang. *Baccilus Subtilis: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials medicine* *Microb Cell Fact* 2020 Sep 3.
58. Ястребова О.В, Коробкова К.С. «ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРОТЕОЛІТИЧНОГО КОМПЛЕКСУ *BACILLUS SPP*» Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія, Випуск 33, 2012: 174-178
59. Annaleigh Ohrt Felher, Thomas Beuchert Kallehauge, Jeppe Vinther Flagella disrupction in *Bacillus Subtilis* increase amylase production yield *Microbial Cell Factories* 21, Article number:131(2022)