Nanoinkapsulaciju odabranih probiotičkih sojeva bakterija mliječne kiseline (kratica BMK u imenima datoteka), producenata egzopolisaharida (skraćenica EPS u imenima datoteka) (*Limosilactobacillus fermentum* MC1 i D12) i površinskih (S-) proteina (*Levilactobacillus brevis* MB1, MB2, MB13 i MB20), kao i njihovih purificiranih terapijskih molekula, „layer by layer“ metodom, primjenom otopine polielektrolita koja sadrži poli (dialil-dimetil-amonij klorid) (PDDA) i natrijev polistiren sulfonat (PSS), te liofilizaciju dobivenih nanokaspula i ispitivanje stabilnosti tijekom prolaska kroz simulirane uvjete gastrointestinalnog trakta u periodu od 22.01.-21.03.2023. provela je doktorandica zaposlena na HRZZ projektu, Nina Čuljak, mag.ing.biotechn. (inicijali NČ u naslovima datoteka) i suradnicama na projektu dr sc. Katarina Butorac Butorac (inicijali KB u naslovima datoteka). Uspješnost formiranja slojeva polielektrolita na površinama BMK provedena je mjerenjem zeta-potencijala u suradnji s dr.sc. Tanjom Jurkin (kratica TJ u naslovima datoteka) na Institutu Ruđer Bošković Zavoda za kemiju materijala u Laboratoriju za radijacijsku kemiju i dozimetriju, Zagreb, Hrvatska (protokol mjerenja prikazan u datoteci PRO-BIO\_2.0\_TJ\_eksperiment\_zeta\_potencijal\_BMK\_ZG\_2023.docx) čiji zbirni rezultati su prikazani u datoteci PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_nanoinkaspulacija\_BMK\_ZG\_2023\_v1.xlsx u sheet-u „ZETA“, a zasebni za sojeve producente S-proteina u datoteci PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_zeta-potencijal\_BMK\_S-proteini\_ZG\_2023\_v2.png, a za sojeve producente egzopolisaharida u datoteci PRO-BIO\_2.0\_KB\_rezultat\_zeta-potencijal\_BMK\_EPS\_ZG\_2023\_v2.png. Protokol nanoninkapsulacije, liofilizacije i prolaska kroz simulirane uvjete gastrointestinalnog trakta za odabrane sojeve BMK prikazan je u dokumentu PRO-BIO\_2.0\_NČ\_eksperiment\_BMK\_ZG\_2023.docx, za EPS-e u dokumentu PRO-BIO\_2.0\_NČ\_KB\_eksperiment\_EPS\_ZG\_2023.docx i za S-proteine u dokumentu PRO-BIO\_2.0\_NČ\_eksperiment\_S-proteini\_ZG\_2023.docx. Stabilnost dobivenih nanokaspula tijekom prolaska kroz simulirane uvjete gastrointestinalnog trakta provela je doktorandica zaposlena na HRZZ projektu, Nina Čuljak, zajedno sa suradnicom na projektu izv.prof.dr.sc. Andrejom Leboš Pavunc (inicijali ALP u naslovima datoteka). Protokol određivanja stabilnosti nanokapsula RAPD metodom proveden je u razdoblju od 03.04.-06.04.2023., a eksperimentalni dio je prikazan u datoteci PRO-BIO\_2.0\_NČ\_ALP\_eksperiment\_RAPD\_ZG\_2023.docx. Rezultati stabilnosti probiotičkih sojeva BMK producenata površinskih (S-) proteina i egzopolisaharida tijekom prolaska kroz simulirane uvjete gastrointestinalnog trakta, nakon liofilizacije i nakon mjesec dana čuvanja liofiliziranih nanokapsula prikazan je u datoteci PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_nanoinkaspulacija\_BMK\_ZG\_2023\_v1.xlsx u sheet-ovima „Početan broj“, „liofilizacija“, „GIT (liofilizirani)“ i „1.mjesec“. Prikaz liofiliziranih izoliranih S-proteina i egzopolisaharida prikazan je u datotekama PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_S-proteini\_ZG\_2023.png i PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_egzopolisaharidi\_ZG\_2023.png. Rezultati stabilnosti sojeva producenata egzopolisaharida i S-proteina RAPD metodom prikazan je u dokumentu PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_RAPD\_ZG\_2023. Stabilnost S-proteina tijekom prolaska kroz simulirane uvjete gastrointestinalnog trakta ispitana je primjenom BioSpec Nano uređaja (rezultati prikazani u dokumentima PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_S-proteini\_ZG\_2023\_v1.pdf i PRO-BIO\_2.0\_NČ\_rezultat\_S-proteini\_ZG\_2023\_v2.xlsx), a stabilnost egzopolisaharida NMR metodom (rezultati prikazani u dokumentu PRO-BIO\_2.0\_PC\_rezultat\_NMR\_EPS\_IT\_2023.png). Sve metode su provedene na Sveučilištu u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta na Zavodu za biokemijsko inženjerstvo u Laboratoriju za tehnologiju antibiotika, enzima, probiotika i starter kultura, osim NMR metode koju je provedela suradnica na projektu doc. dr. sc. Paola Cescutti (kratica PC u naslovima datoteka) na Svučilištu u Trstu, Italija, na Odjelu za prirodne znanosti.

Ovim rezultatima ispunjene su aktivnosti *A.4.1. Nanoinkapsulacija odabranih probiotičkih sojeva, producenata egzopolisaharida i S-proteina, kao i njihovih purificiranih terapijskih biomolekula, „layer by layer“ metodom, primjenom otopine polielektrolita koja će sadržavati poli (dialil-dimetil-amonij klorid) (PDDA) i natrijev polistiren sulfonat (PSS)* i *A.4.2. Liofilizacija nanokapsula i ispitivanje njihove stabilnosti tijekom prolaska kroz simulirane uvjete gastrointestinalnog trakta, primjenom RAPD i SDS-PAGE metode* vezane uz rezultat *D.4.1. Ustanovljen zaštitni učinak nanoinkapsulacije liofiliziranih probiotičkih sojeva BMK, producenata egzopolisaharida i S-proteina, i njihovih terapijskih biomolekula, tijekom prolaska kroz simulirane uvjete gastrointestinalnog trakta*