

УДК 619:579.22

DOI: 10.31073/vet_biotech35-13

ПРИТЫЧЕНКО А.В., канд. вет. наук, e-mail: vit.nauka@gmail.com,
КРАСОЧКО П.А., д-р вет. наук, д-р биол. наук, e-mail: krasochko@mail.ru,
ПРИТЫЧЕНКО А.Н., канд. вет. наук, e-mail: bievmvitebsk@gmail.com,
ПОНАСЬКОВ М.А., магистр вет. наук, e-mail: cool.mlhail@yandex.by,
ШАГАКО Н.М., магистр вет. наук, e-mail: natashashagako@mail.ru,
ВЕЛЕВА Е.Р., e-mail: kat-1987@mail.ru

*УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия
ветеринарной медицины»*

ГУДЗЬ Н.В., канд. вет. наук, ст. науч. сотр., e-mail: gudznataly@gmail.com
Институт ветеринарной медицины НААН

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ПРОДУКТОВ МЕТАБОЛИЗМА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

*Установлено, что культуры штаммов молочнокислых бактерий обладают выраженной биосинтетической активностью. В процессе культивирования микроорганизмов в молочном субстрате при оптимальной температуре происходит глубокий гидролиз молочных белков, что нашло выражение в многократном увеличении количества свободных аминокислот по сравнению с их содержанием в субстрате. Изучен качественный и количественный состав свободных аминокислот в продуктах метаболизма монокультур различных штаммов *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus salivarius*, а также смешанных культур, полученных совместным их культивированием в молочном субстрате.*

Ключевые слова: *молочнокислые бактерии, продукты метаболизма, аминокислоты, пробиотики.*

Введение. Интенсификация производства животноводческой продукции не возможна без повышения сохранности и выращивания здорового молодняка сельскохозяйственных животных. Заболевания являются сдерживающим фактором роста продуктивности и реализации их племенных качеств. Совершенствование способов повышения сохранности животных за счёт применения экологических средств и методов является на современном этапе актуальной задачей промышленного животноводства. В последние два десятилетия резко возрос интерес к препаратам, содержащим естественную микрофлору кишечника и продукты их метаболизма – пробиотикам [1, 3, 5]. Пробиотики представляют собой экологически безопасные средства для профилактики и лечения заболеваний посредством коррекции микробиоценоза

желудочно-кишечного тракта. При этом поступающие в кишечник пробиотики не только нормализуют количественный состав нормофлоры и её метаболическую активность, но и влияют на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма человека и животных. Пробиотики реализуют своё положительное действие посредством целого ряда регуляторных механизмов. Так, антагонистические свойства в отношении патогенных микроорганизмов пробиотики обеспечивают за счёт конкуренции за рецепторы на эпителиоцитах и питательные вещества, синтеза субстанций, ингибирующих рост патогенных микроорганизмов (цитокины, молочная, масляная, пропионовая, уксусная, муравьиная кислоты), а также выработки антибиотикоподобных веществ (ацидофилин, лактолин, ацидолин, колицин, лизоцим и др.) и бактериоцинов (белковые комплексы с бактерицидной активностью) [5–7].

Кроме того, компоненты пробиотических препаратов, содержащие продукты метаболизма микроорганизмов, помимо создания условий для роста нормальной микрофлоры являются источником питания кишечного эпителия, способствуют его регенерации и восстановлению функций. Благодаря этому нормализуется естественный синтез витаминов, незаменимых аминокислот, медиаторов, регулирующих пищеварение [1, 2, 4, 7].

Анализируя накопленный опыт применения данной группы препаратов, следует отметить их эффективность не только при лечении дисбактериоза кишечника, но и в сочетании с основной терапией при бактериальных и вирусных инфекциях желудочно-кишечного и респираторного тракта, в хирургической и гинекологической практике, заболеваниях кожи и аллергических состояниях, при нарушениях обмена веществ после гормональной и лучевой терапии, в косметологии [1–5, 8].

Создание и применение в животноводстве новых лечебных пробиотических препаратов, благодаря их безвредности и многогранности терапевтического и профилактического эффекта, направленного на поддержание и восстановление здоровья животных, является перспективным направлением, позволяющим совершенствовать схемы и методы их применения и обеспечить получение экологически чистой продукции.

Целью работы являлось изучение состава свободных аминокислот в продуктах метаболизма моно- и смешанных культур молочнокислых бактерий.

Материалы и методы исследования. Изучение состава свободных аминокислот проводили в продуктах метаболизма монокультур различных штаммов *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus salivarius*, а также смешанных культур, полученных совместным их культивированием в молочном субстрате. Культуры *Lactobacillus acidophilus* БИМ: 131 (получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов, г. Пущино, Россия), хранится в коллекции

непатогенных микроорганизмов ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» и *Streptococcus salivarius* (выделен сотрудниками отдела биотехнологии УП «Диалек» Анисимовой Н.И.), хранится в коллекции микроорганизмов УП «Диалек».

Исследование проводили методом капиллярного электрофореза с использованием прибора «Капель-105М» (ГК «Люмэкс», Россия). Капиллярный электрофорез представляет собой интенсивно развивающийся метод разделения сложных смесей, который позволяет анализировать ионные и нейтральные компоненты различной природы с высокой экспрессностью и уникальной эффективностью.

Результаты исследований и их обсуждение. Для получения продуктов метаболизма *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus salivarius* их культивировали на молочных средах в течение 48 часов как отдельно, так и в смеси, после чего отделяли микробные клетки и неферментированные среды центрифугированием при 3000 об. мин. с дальнейшей осветляющей фильтрацией с использованием фильтров «Миллипор» с порами 400–500 нм.

Результаты анализа состава и количественного определения содержания свободных аминокислот в продуктах метаболизма жидкости моно- и смешанных культур молочнокислых бактерий представлены в таблице 1.

Таблица 1

Состав свободных аминокислот продуктов метаболизма культуральной жидкости моно- и смешанных культур молочнокислых бактерий, мкг/мл

Аминокислоты	Фильтраты монокультур			Фильтрат смешанных культур	Субстрат
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>		<i>Streptococcus salivarius</i>		
	штамм 1	штамм 2			
Аланин	14,0	12,3	7,5	31,6	4,5
Аргинин	7,1	7,0	3,8	8,7	следы
Аспарагиновая кислота	11,2	10,5	7,1	6,8	1,4
Валин	21,3	22,0	11,3	18,6	2,6
Гистидин	7,6	6,8	3,8	9,5	следы
Глицин	4,5	3,9	3,8	10,6	4,9
Глутаминовая кислота	104,3	105,0	80,6	109,8	17,8
Изолейцин+лейцин	170,0	170,4	87,9	156,3	1,5
Лизин	8,7	7,8	4,5	26,6	4,7
Метионин	5,2	5,0	4,4	следы	следы
Пролин	74,8	68,3	58,3	75,3	2,8
Серин	16,8	16,5	8,2	17,2	0,9
Тирозин	13,8	13,5	7,8	15,2	1,7
Треонин	11,6	11,2	9,6	5,2	0,7
Фенилаланин	18,2	17,7	9,6	13,7	1,6
Сумма свободных аминокислот	489,1	477,9	308,2	505,1	45,1

Из приведённых в таблице 1 данных, очевидно, что культуры штаммов молочнокислых бактерий обладают выраженной биосинтетической активностью. В процессе культивирования микроорганизмов в молочном субстрате при оптимальной температуре происходит глубокий гидролиз молочных белков, что нашло выражение в многократном увеличении количества свободных аминокислот по сравнению с их содержанием в субстрате. Так же отмечено более высокое содержание исследуемых компонентов продуктов метаболизма жидкостей, полученных при культивировании смешанных штаммов, по сравнению с их содержанием в культуральных жидкостях монокультур. При этом в фильтратах *Lactobacillus acidophilus* количественное содержание аминокислот выше по сравнению с таковыми в фильтрате *Streptococcus salivarius*. Сумма свободных аминокислот продуктов метаболизма смешанных культур была выше, чем в культуральных жидкостях лактобактерий штамма 1 – на 3,17%, лактобактерий штамма 2 – на 5,38%, стрептококка – на 38,98%. Увеличение суммы свободных аминокислот в поликомпонентном фильтрате обусловлено приростом содержания отдельных аминокислот: аланина, аргинина, гистидина, глицина, глутаминовой кислоты, лизина, пролина, серина и тирозина. В тоже время отмечается снижение содержания некоторых аминокислот по сравнению с их количеством в монокультуральной жидкости бактерий. В смешанном фильтрате установлено пониженное содержание аспарагиновой кислоты, валина, изолейцин+лейцина, треонина, метионина обнаружены лишь следы.

Выводы и перспективы дальнейших исследований. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой биосинтетической активности культуры штаммов *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus salivarius*, которая выражается в 6–11 кратном увеличении количества свободных аминокислот по сравнению с их содержанием в субстрате. Продукты метаболизма моно- и смешанных культур, полученные после отделения молочнокислых бактерий-продуцентов, могут быть с успехом использованы в качестве высокоактивной экологически безопасной субстанции при конструировании пробиотических препаратов, либо в качестве самостоятельного лечебно-профилактического средства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Красочко П.А. Пробиотики и аминокислоты как альтернатива антибиотикам в лечении животных / П.А. Красочко, Т.В. Снитко // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сборник научных трудов / Гродненский государственный аграрный университет. – Гродно, 2015. – Т. 30: Ветеринария. – С. 85–91.
2. Куликова Л.Е. Пробиотики: средство альтернативной медицины / Л.Е. Куликова // Молодежный научный форум: Естественные и медицинские науки: электр. сб. ст. по мат. VI междунар. студ. науч.-практ. конф. № 6(6). Режим доступа: [https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/6\(6\).pdf](https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/6(6).pdf).

3. Методические рекомендации для врачей ветеринарной медицины и слушателей ФПК: Использование пробиотиков для профилактики заболеваний желудочно-кишечного тракта и терапии животных / П.А. Красочко [и др.]. – Витебск: Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2006. – 56 с.
4. Панин А.Н. Пробиотики в животноводстве – состояние и перспективы / А.Н. Панин, Н.И. Малик, О.С. Илаев // Ветеринария. – 2012. – №3. – С. 3–8.
5. Рекомендации по изучению микрофлоры желудочно-кишечного тракта животных / Красочко П.А. [и др.]. – Витебск: Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2008.
6. Тараканов Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных / Б.В. Тараканов // Ветеринария. – 2000. – №1. – С. 47–54.
7. Шендеров Б.А. Медицинская микробиологическая экология и функциональное питание: в 2 т.: Т.1 Микрофлора человека и животных и её функции / Б.А. Шендеров. – Москва: ГРАНТЪ, 1998. – 288 с.
8. Corcionivoschi N. The Effect of Probiotics on Animal Health / N. Corcionivoschi // Scientific Papers. Animal Science and Biotechnologies. – 2010. – №43(1). – P. 35–41.

АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ПРОДУКТІВ МЕТАБОЛІЗМУ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ / Прітиченко А.В., Красочко П.А., Прітиченко А.Н., Понаськов М.А., Шагако Н.М., Велева О.Р., Гудзь Н.В.

*Встановлено, що культури штамів молочнокислих бактерій мають виражену биосинтетическую активність. У процесі культивування мікроорганізмів в молочному субстраті при оптимальній температурі відбувається глибокий гідроліз молочних білків, що знайшло вираження в багаторазовому збільшенні кількості вільних амінокислот у порівнянні з їх вмістом в субстраті. Вивчено якісний і кількісний склад вільних амінокислот в продуктах метаболізму монокультур різних штамів *Lactobacillus acidophilus* і *Streptococcus salivarius*, а також змішаних культур, отриманих спільним їх культивуванням в молочному субстраті.*

Продукти метаболізму моно- і змішаних культур, отримані після відділення молочнокислих бактерій-продуцентів, можуть бути з успіхом використані в якості високоактивної екологічно безпечної субстанції при конструюванні пробіотичних препаратів, або в якості самостійного лікувально-профілактичного засіб.

Ключові слова: молочнокислі бактерії, продукти метаболізму, амінокислоти, пробіотики.

AMINO ACID COMPOSITION OF THE FILTRATE OF THE CULTURE FLUID OF LACTIC ACID BACTERIA / Pritychenko A.V., Krasochko P.A., Pritychenko A.N., Ponaskov M.A., Shagako N.M., Veleva E.R., Hudz N.V.

***Introduction.** Improvement of methods to increase animal safety is an urgent task of industrial animal husbandry. Creation and application of new medical probiotic preparations is a*

perspective direction, allowing to improve schemes and methods of their application and to provide manufacture of ecologically pure products.

The goal of the work was to study the composition of free amino acids in products of metabolism of mono- and mixed cultures of lactic acid bacteria.

Materials and methods. The composition of free amino acids was studied by capillary electrophoresis in products of monocultures metabolism of different strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus salivarius*, as well as mixed cultures obtained by their joint cultivation in a dairy substrate.

Results of research and discussion. It has been established that cultures of strains of lactic acid bacteria have a pronounced biosynthetic activity. In the process of cultivation of microorganisms in the dairy substrate at the optimum temperature, deep hydrolysis of milk proteins occurs, which is expressed in a manifold increase in the amount of free amino acids compared to their content in the substrate. The qualitative and quantitative composition of free amino acids in the products of the metabolism of monocultures of various strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus salivarius*, as well as in mixed cultures, obtained by culturing them together in a dairy substrate, was studied. The metabolic products of mono- and mixed cultures, obtained after the separation of lactic acid bacteria-producers, can be successfully used as a highly active environmentally friendly substance when designing probiotic preparations, or as an independent therapeutic and prophylactic agent.

Conclusions and prospects for further research: the obtained results indicate a high biosynthetic activity of the culture of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus salivarius* strains. Products of metabolism of mono- and mixed cultures obtained after separation of lactic acid-producing bacteria can be successfully used as a highly active environmentally safe substance in the design of probiotic drugs, or as an independent therapeutic and prophylactic agent.

Keywords: lactic acid bacteria, metabolic products, amino acids, probiotics.

REFERENCES

1. Krasochko, P.A. & Snitko, T.V. (2015). Probiotiki i aminokisloty kak alternativa antibiotikam v lechenii zhivotnykh [Probiotics and amino acids as an alternative to antibiotics in the treatment of animals]. *Selskoye khozyaystvo – problemy i perspektivy: sbornik nauchnykh trudov – Agriculture – problems and prospects: a collection of scientific papers*, 30, 85-91 [in Russian].
2. Kulikova, L.E. (n.d.). Probiotiki: sredstvo alternativnoj mediciny [Probiotics: an alternative remedy] *nauchforum.ru* Retrieved from [https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/6\(6\).pdf](https://nauchforum.ru/archive/MNF_nature/6(6).pdf) [in Russian].
3. Krasochko, P.A. et al. (2006). *Metodicheskiye rekomendatsii dlya vrachey veterinarnoy meditsiny i slushateley FPK: Ispolzovaniye probiotikov dlya profilaktiki zabolevaniy zheludochno-kishechnogo trakta i terapii zhivotnykh* [Methodical recommendations for doctors of veterinary medicine and students of FPK: Usage of probiotics for the prevention of gastrointestinal tract diseases and treatment of animals]. Vitebsk: State Academy of Veterinary Medicine [in Russian].
4. Panin, A.N., Malik, A.N. & Ilaev, O.S. (2012). *Probiotiki v zhivotnovodstve – sostoyanie i perspektivy* [Probiotics in animal husbandry – the state and prospects]. *Veterinariya – Veterinary medicine*, 3, 3-8 [in Russian].
5. Krasochko, P.A. et al. (2008). *Rekomendatsii po izucheniyu mikroflory zheludochno-kishechnogo trakta zhivotnykh* [Recommendations for the study of animals gastrointestinal tract microflora]. Vitebsk: State Academy of Veterinary Medicine [in Russian].
6. Tarakanov, B.V. (2000). *Mehanizmy deistvia probiotikov na mikrofloru pishhevaritelnogo trakta i organizm zhivotnykh* [Mechanisms of action of probiotics on the

microflora of the digestive tract and the animal organism]. *Veterinarija – Veterinary medicine*, 1, 47-54 [in Russian].

7. Shenderov, B.A. (1998). *Mikroflora cheloveka i zhivotnyh i ee funkci* [Microflora of human and animals and its functions] (Vol. 1). Minsk: Grant [in Russian].

8. Corcionivoschi, N. (2010). The effect of probiotics on animal health. *Scientific papers. Animal science and biotechnologies*, 43(1), 35-41.

УДК 636.064: 636.084:616.155.194.8:615.273.2

DOI: 10.31073/vet_biotech35-14

РЄЗНІЧЕНКО Л.С., канд. біол. наук, e-mail: lrieznichenko@gmail.com,

ДИБКОВА С.М., канд. біол. наук, ст. наук сп., e-mail: sdybkova@gmail.com

Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України

Інститут ветеринарної медицини НААН України

ДОРОШЕНКО А.М., канд. мед. наук, e-mail: andrew.m.doroshenko@gmail.com

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

НАНОЧАСТИНКИ ЗАЛІЗА ЯК ЕФЕКТИВНИЙ ЗАСІБ ПРОФІЛАКТИКИ І ЛІКУВАННЯ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ТВАРИН

В статті наведені результати визначення in vivo ефективності наночастинок заліза у лікуванні модельної залізодефіцитної анемії щурів за умов перорального введення. Встановлено, що вже після десятиденного курсу лікування спостерігається нормалізація маркерних показників крові (концентрація гемоглобіну, концентрація сироваткового заліза крові, % насичення трансферину), яка є більш вираженою порівняно із терапевтичною дією препарату порівняння. Показано, що під впливом досліджених наночастинок спостерігається також нормалізація стану кишкової мікрофлори тварин та стимуляція росту пробіотичних клітин.

Ключові слова: наночастинок заліза, дефіцит заліза, дисбіоз, нормалізація, протианемічна активність.

Вступ. Наноматеріали, зокрема наночастинок металів, з огляду на їх високу біологічну активність, зайняли одну з провідних позицій у розробці нових високоефективних засобів терапії і діагностики різних захворювань людини [1]. Останнім часом, поряд із гуманною медициною, все більш активно наноматеріали і нанотехнології впроваджуються у практику ветеринарної медицини [2, 3]. Так, для наночастинок срібла доведена їх висока антимікробна активність проти штамів-збудників широкого спектру захворювань домашніх та сільськогосподарських тварин [4, 5]. Наночастинок золота широко застосовуються при створенні високочутливих діагностиків вірусних