

ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК 661.1586: 547.631.7 (54.021)

ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ ПРЕПАРАТУ БІОВІР

І.Я. Коцюмбас, д.вет.н., професор, членкор НААН, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

В.І. Кушнір, здобувач, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

Г.В. Кушнір, к.вет.н., Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

Г.П. Ривак, к.с.-г.н., Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

О.В. Коваленко, к.тех.н., генеральний директор НВП "Аріадна" м. Одеса

Н.К. Черно, д.тех.н., професор, Одеська національна академія харчових технологій

А.І. Капустян, к.тех.н., Одеська національна академія харчових технологій

У статті наведено результати досліджень якісного та кількісного вмісту органічних кислот у біологічно активному засобі на основі пептидоглікану кисломолочних бактерій методом капілярного електрофорезу з використанням приладу Капель-105/105М. За результатами досліджень складових компонентів препарату встановлено, що до його складу входить щавелева, лимонна, оцтова, молочна, бензойна і сорбінова кислоти. При визначенні кількісного вмісту цих кислот встановили найвищу концентрацію оцтової та молочної кислот, які у відсотковому еквіваленті становили, відповідно – 6,0 та 2,5 %.

Ключові слова: органічні кислоти, пептидоглікани молочнокислі бактерії, метод капілярного електрофорезу.

Впровадження нових лікарських засобів природного походження є надзвичайно актуальними, оскільки вони характеризуються високою біологічною активністю, ефективністю та безпечністю. Одним із важливих класів біологічно активних речовин, які регулюють численні процеси організму та виявляють антимікробну і протизапальну дію, є органічні кислоти. Вони є проміжними продуктами окисації вуглеводів, жирів, амінокислот і білків, крім того беруть участь у синтезі амінокислот, алкалоїдів, стероїдів [1]. Органічні кислоти проявляють широкий спектр біологічної дії на організм як людини, так і тварин і відіграють важливу роль у підтриманні імунного статусу організму [2, 3]. Механізм дії органічних кислот із різною хімічною структурою полягає у зміні внутрішньоклітинного рН середовища бактерій, зниженні енергетичного потенціалу та руйнуванні мембран бактеріальної клітини, інгібуванні обмінних процесів. Однак, різні органічні кислоти мають індивідуальні протимікробні характеристики. Для глибшого вивчення зв'язку хімічного складу препаратів з їх біологічною активністю доцільно вивчати не тільки якісний склад, але і кількісний вміст органічних кислот.

У лабораторній практиці для контролю якості та стандартизації лікарських препаратів різних форм використовують хроматографічні методи, зокрема вискоефективну рідинну хроматографію [4] та газову хроматографію з масдетектуванням [5]. Однак, на сьогоднішній день особливу увагу до себе привернув метод розділення складних сумішей за допомогою

капілярного електрофорезу, який дозволяє одночасно аналізувати декілька компонентів різноманітної природи з високою ефективністю. Перевагами цього методу є: висока ефективність розділення зразка, невеликий об'єм аналізованої проби та буферів, при цьому практично не потрібне застосування вискоочистих, дорогих органічних розчинників, відсутність колонки та сорбенту та швидкість проведення досліджень. Відсутність твердого сорбенту в капілярі виключає можливість його "старіння", хімічної і фізичної деструкції та неспецифічного зв'язування з ним компонентів проби. При дослідженнях методом капілярного електрофорезу пробу вводять у кварцовий капіляр, який заповнений електролітом. Під дією електричного поля, що подається до кінця капіляру, проходить розділення заряджених компонентів складної суміші, яка виражається електрофореграмою у вигляді піків, за якими можна ідентифікувати і кількісно визначити органічні кислоти [6].

Метою нашої роботи було дослідження якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у препараті Біовір. Препарат розроблений науковцями НВП "Аріадна" (м. Одеса) і представляє собою унікальне поєднання пептидогліканів різних штамів молочнокислих бактерій.

Матеріали і методи досліджень. Визначення вмісту органічних кислот у дослідних зразках проводили методом капілярного електрофорезу за допомогою системи капілярного електрофорезу "Капель-105/105М", яка забезпечена спеціальним програмним забезпеченням на ос-

нові персонального комп'ютера. З органічних кислот визначали щавелеву, мурашину, фумарову, янтарну, яблучну, лимонну, оцтову, пропіонову, молочну, бензойну, сорбінову, мурашину та оцтову. При проведенні електрофорезу були отримані такі умови: ввід проби здійснювали при 30 мбар/15 с, напрузі мініс 17 кВ, довжині хвилі 190 нм та температурі 20 °С. Екстракцію органічних кислот у дослідному зразку проводили бідистильованою водою [7].

Для приготування градуированих сумішей використовували хімічні реактиви із вмістом основної речовини не менше 98 %, з яких потім готували контрольні суміші, з відомими концент-

раціями компонентів.

Отриманий цифровий матеріал опрацьовували методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента. Розраховували середні арифметичні величини (M) та похибки середніх арифметичних величин ($\pm m$).

Результати власних досліджень. Для контролю системи аналізували градуировальні суміші, реєструючи по три електрофореграми для кожної суміші. На отриманих електрофореграмах перевіряли правильність автоматичної розмітки піків і встановили, що відхилення у кожній точці градуировальної характеристики не перевищувало 8 % (табл. 1).

Таблиця 1

Стабільність градуировальної характеристики органічних кислот з використанням контрольних розчинів

Органічні кислоти	Номінальне значення масової концентрації, мг/дм ³	Уміст органічних кислот, мг/дм ³		
		розчин№ 1	розчин№ 2	розчин№ 3
Щавелева	30	29,2	28,7	31,2
Фумарова	5	5,3	4,8	5,1
Янтарна	50	52,5	51,7	52,7
Яблучна	50	50,9	51,8	51,6
Лимонна	50	50,8	50,6	52,6
Пропіонова	100	98,1	99,2	98,3
Молочна	120	118,6	125,3	115,9
Бензойна	5	5,2	4,8	4,7
Сорбінова	25	24,1	24,3	26,3
Мурашина	150	142,9	144,9	148,1
Оцтова	100	97,3	98,2	97,3

Як видно із результатів досліджень (табл. 1), відхилення значень за щавелевою кислотою становило 2,6-4,3 %, фумаровою — 2,0-6,0 %, янтарною — 3,4-5,4 %, яблучною — 1,84-3,6 %, лимонною — 1,2-5,2 %, пропіоновою — 0,8-1,9 %, молочною — 1,68-4,4 %, бензойною — 4,0-6,0 %, сорбіновою — 2,8-5,2 %, мурашиною — 1,2-4,7 %, оцтовою — 1,8-2,7 %. Отже, отримані значення

були задовільними, що дозволило у подальшому проводити визначення органічних кислот у дослідному зразку.

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у біологічно активному засобі на основі пептидоглікану кислотомолочних бактерій методом капілярного електрофорезу наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у препараті Біовір (M \pm m, n \pm 10)

№ п/п	Назва органічної кислоти	Уміст органічних кислот	
		Концентрація, мг/л	%
1	щавелева	1,59 \pm 0,87	0,016 \pm 0,009
2	лимонна	22,1 \pm 3,21	0,23 \pm 0,041
3	оцтова	575,8 \pm 39,5	6,05 \pm 0,327
4	молочна	236,3 \pm 33,4	2,47 \pm 0,315
5	бензойна	1,47 \pm 0,21	0,015 \pm 0,001
6	сорбінова	5,03 \pm 0,73	0,052 \pm 0,005

Як видно з даних, наведених у таблиці 2, у препараті Біовір виявили щавелеву, лимонну, оцтову, молочну, бензойну та сорбінову кислоти. Проте, концентрація оцтової та молочної кислот була найвища і становила, відповідно — 575,8 і 236,3 мг/л, що у відсотковому еквіваленті складало — 6,05 та 2,47 %. Значення оцтової кислоти в обміні речовин дуже велике, оскільки вона є джерелом ацетил-КоА, що використовується в циклі Кребса. Велике значення має також молочна кислота, яка використовується як джерело енергії

та бере участь у ліпогенезі. Також встановлено високу її антибактеріальну дію, активне стимулювання секреції ферментів підшлункової залози та процесів відновлення кишкових ворсинок. Одночасно її наявність створює сприятливі умови для розвитку лактобактерій. Останні активно заселяють слизову оболонку тонкого кишечника, перешкоджаючи колонізації її хвороботворними бактеріями [8].

При розрахунку лимонної та сорбінової кислот, їх вміст становив, відповідно — 0,23 та

0,05 %. Лимонна кислота бере участь у циклі трикарбонових кислот і сприяє всмоктуванню кальцію в організмі та поліпшує його використання. Крім того вона бере участь у процесах кровотворення та сприяє кращому засвоєнню заліза. Сорбінова кислота, в поєднанні з мурашиною та оцтовою, проявляє бактерицидну дію на *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp*[9].

Концентрація щавелевої та бензойної кислот була майже на одному рівні і становила відповідно — 0,016 та 0,015 %. Відомо, що щавелева та бензойна кислоти проявляють протимікробну дію, крім того щавелева кислота має ще й виражену імуностимулюючу дію[9].

Визначення якісного і кількісного складу органічних кислот у препараті Біовір дозволяє глибше розкрити механізм його імуностимулюючої дії.

Висновки. До складу препарату Біовір входять щавелева, лимонна, оцтова, молочна, бензойна і сорбінова кислоти. Концентрація оцтової та молочної кислоти була найвища і у відсотковому еквіваленті становила, відповідно — 6,05 та 2,47 %.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу препарату "Біовір" на організм лабораторних тварин.

Список використаної літератури:

1. Черных В.П. Органическая химия. В 3-х кн. / В.П. Черных, Б.С. Зименковский, И.С. Гриценко. Кн. 3. Гетероциклические и природные соединения. — Х.: Основа, 1997. — 248 с.
2. Effect of dietary supplementation of organic acids and essential oils on immune function and intestinal characteristics of experimentally infected rabbits / R. Cardinali, P.G. Rebollar, A. Dal Bosco et al. // 9th World Rabbit Congress. — June 10-13, 2008 — Verona — Italy. — 2008. — P. 573-578.
3. Effects of diets supplemented with organic acids and nucleotides on growth, immune responses and digestive tract development in weaned pigs / D.N. Lee, S.R. Liu, Y.T. Chen [et al.] // J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). — 2007. — Vol. 91 (11-12). — P. 508-518.
4. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». — [1-е вид.] — Доп. 2. — Х.: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — С. 59-62.
5. Применение хромато-масс-спектрометрии для изучения компонентного состава фармакопейных видов лекарственного растительного сырья / Р.В. Разживин, В.Ю. Решетняк, А.Н. Кузьменко [и др.] // Вестник Московского Университета. — Сер. 2. — Химия. — 2009. — Т. 50, № 1. — С. 67-70.
6. Визначення вмісту органічних кислот у порошкоподібних кормових добавках методом капілярного електрофорезу / Т.Р. Левицький, Г.П. Ривак, Г.В. Кушнір [та ін.] // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — Львів. — 2014. — Вип. 15, № 1. — С. 72-76.
7. Корми, комбікорми, кормові добавки. Визначення вмісту органічних кислот методом капілярного електрофорезу з використанням системи капілярного електрофорезу "Капель-105/105М" / І.Я. Коцюмбас, Т.Р. Левицький, Г.П. Ривак [та ін.] // Методичні рекомендації. — Львів, 2013. — 29 с.
8. Отченашко В.В. Використання молочної кислоти у тваринництві // В.В. Отченашко // Науково-практичні рекомендації розглянуті та схвалені на засіданні проблемної вченої ради НДІ технологій та якості продукції тваринництва і рибництва Національного університету біоресурсів і природокористування України (м. Київ), протокол № 9 від 10.12.2012. — Київ. — 2012. — 46 с.
9. Скларов О.Я. Клінічна біохімія / Скларов О.Я. — Київ "Медицина", 2006. — 432 с.

Коцюмбас І.Я., Кушнір В.І., Кушнір Г.В., Ривак Г.П., Коваленко О.В., Черно Н.К., Капустян А.І. Качественный и количественный состав органических кислот препарата Биовир

В статье приведены результаты исследований качественного и количественного содержания органических кислот в биологически активном средстве на основе пептидогликана кисломолочных бактерий методом капиллярного электрофореза с использованием прибора Капель-105/105М. По результатам исследований составляющих компонентов препарата установлено, что в его состав входит щавелевая, лимонная, уксусная, молочная, бензойная и сорбиновая кислоты. При определении количественного содержания этих кислот установили более высокую концентрацию уксусной и молочной кислоты, которые в процентном эквиваленте составили соответственно — 6,0 и 2,5%.

Ключевые слова: органические кислоты, пептидогликаны кисломолочных бактерий, метод капиллярного электрофореза.

Kotsyumbas I.Ya., Kushnir V.I., Kushnir G.V., Ryvak G.P., Kovalenko A.V., Cherny N.K., Kapustyan A.I. The Qualitative and quantitative composition of organic acids preparation Biovir

The results of the study of qualitative and quantitative content of organic acids in a biologically active product containing peptidoglycan of lactic acid bacteria by capillary electrophoresis using equipment Capel-

105/105M. According to the research components we found that it consists of oxalic, citric, acetic, lactic, benzoic and sorbic acid. The determination of quantitative content of these acids, have set the highest concentration in acetic and lactic acid, which in percentage terms was 6,0 and 2,5 %.

Keywords: organic acid, peptidoglycan dairy bacteria by capillary electrophoresis.

Дата надходження до редакції: 25.03.2015 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Березовський А.В.

УДК 619:616-021:612.11:636.592

АКТУАЛЬНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕБІОТИКІВ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ СЕЧОКИСЛОГО ДІАТЕЗУ В ІНДИЧАТ

С.Г. Вишневський, асистент

М.І. Цвіліховський, д.біол.н., професор

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Встановлено, що пребіотик Триман-П у дозі 0,5 мг/л води підвищує життєздатність корисної шлунково-кишкової мікрофлори та сприяє її росту. Обґрунтовано актуальність застосування цього пребіотика для профілактики сечокиислового діатезу в індичат за екстенсивної технології їх вирощування.

Ключові слова: пребіотик, Триман-П, корисна мікрофлора, *Colpoda Stenii*, сечокислий діатез, індичата.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Успішний розвиток птахівництва може відбуватися лише за умови чіткого дотримання технологій вирощування та утримання сільськогосподарської птиці, оскільки тільки здорова і високопродуктивна птиця є основою рентабельності птахівничої галузі.

Екстенсивна технологія вирощування індичат важких кросів порівняно з вирощуванням курчат-бройлерів, характеризується більш тривалим періодом відгодівлі та значно більшою масою тіла птиці при забої. За тривалого порушення умов утримання та годівлі індичат у них спостерігається зниження апетиту, пригнічення загального стану організму, пір'я стає скуйовдженим, індичата мало рухаються та швидко втрачають масу тіла внаслідок тривалих проносів. Це, в свою чергу, призводить до порушення обмінних процесів в організмі індичат та появи у них захворювань незаразної етіології, найпоширенішим з яких є сечокислий діатез.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Сечокислий діатез діагностують у 20-30 % усього поголів'я індичат 2-х місячного віку при екстенсивній технології їх вирощування, оскільки в індичат цього віку починає інтенсивно формуватись кістковий скелет та пір'яний покрив [1-3]. Саме тому, актуальним питанням на сьогодні є розробка та застосування нових, більш ефективних, препаратів на основі екологічно чистих біогенних сполук макро- і мікроелементів та пребіотиків для профілактики сечокиислового діатезу і лікування індичат за цієї патології.

Метою роботи було дослідити *in vitro* вплив пребіотика Триман-П на життєздатність інфузорій *Colpoda Stenii* та обґрунтувати актуальність його застосування для профілактики сечокиислового ді-

атезу в індичат за екстенсивної технології їх вирощування.

Матеріали і методи досліджень. Робота виконувалась на кафедрі терапії і клінічної діагностики Національного університету біоресурсів і природокористування України (НУБіП України). Окремі лабораторні дослідження були проведені в науковій лабораторії якості і безпеки продукції АПК НУБіП України, навчально-науково-виробничій лабораторії екологічного та санітарно-гігієнічного моніторингу підприємств АПК кафедри гігієни тварин та санітарії ім. А.К. Скороходька НУБіП України та на базі науково-виробничого підприємства Біо-Тест-Лабораторія (м. Київ).

Передумовою визначення нами пребіотичних властивостей препарату Триман-П було врахування того, що нормальна мікрофлора кишечника має значний вплив на ріст і розвиток молодняку птиці, профілактику гіповітамінозів і активність ферментів; ендогенний синтез нуклеотидів, незамінних амінокислот (триптофан) і пептидів; регуляцію процесів адаптації; зниження ризику захворюваності кишковими інфекціями і формування захисного бар'єра слизової оболонки кишечнику.

Для визначення пребіотичної ефективності препарату Триман-П використовувалась жива культура інфузорії колподі (*Colpoda Stenii*), яка є невід'ємною складовою нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту птиці.

В контрольні проби (n=5) до активної культури інфузорії *Colpoda Stenii* вносили по 2 мл поживного середовища.

У дослідні проби (n=5) до активної культури інфузорії *Colpoda Stenii* добавляли по 2 мл препарату Триман-П у концентраціях: 0,05 мг/л, 0,5 мг/л, 1,0 мг/л, 5,0 мг/л та 10,0 мг/л.