

в реакцію ацетилювання. С урахуванням цього обставини первичних кінцевих ГГ, вводимих гідроксильними радикалами, повинно бути $34,2 \cdot 0,75 = 25,6 \%$, що практично збігається з знайденим експериментально значенням. Цей факт є додатковим доказом правильності полімеризаційної схеми, запропонованої в [11], згідно з якою в ініціюванні полімеризації бере участь розчинник. В даному випадку це ізопропіловий спирт, α -радикал якого вводить неактивні третичні ГГ.

6. Висновки

Таким чином, отримані дані дають інформацію про реакційну здатність ГГ різних типів, що важливо при проведенні реакцій олігомерів при їх отриманні з отриманими полімерними композиційними матеріалами. Розподіл груп по типам дозволяє зробити певні висновки про механізм синтезу олігомерів, зокрема, про участь розчинника в ініціюванні полімеризації.

Література

1. Patai, S. The chemistry of hydroxyl, ether and peroxide groups [Text] / Ed. S. Patai // PATAI'S Chemistry of Functional Groups. — Vol. 2., Ch. 16. — 1993. — P. 905–916.
2. Boiko, V. P. Determination of hydroxyl groups in polymers [Text] / V. P. Boiko, V. K. Grishchenko // Acta Polym. — 1985. — Vol. 36, No. 9. — P. 459–472.
3. Атовмян, Е. Г. Исследование ассоциации ОН-групп в α - и ω -гидроксиполитиенах [Текст] / Е. Г. Атовмян, С. М. Батурич, В. П. Лодыгина // Высокомолекулярные соединения. — 1982. — Т. 24, № 2. — С. 131–134.
4. Бойко, В. П. Пероксид водороду в хімії каучука [Текст] / В. П. Бойко, В. К. Грищенко // Хімічна промисловість України. — 2011. — № 3. — С. 65–79.
5. Siggia, S. Use of Differential Reaction Rates to Analyse Mixtures of Organic Materials Containing the Same Functional Group. Application to Mixtures of Alcohols Including Mixtures of Isomeric Primary and Secondary Alcohols and to Mixtures of Aldehydes and Ketones [Text] / S. Siggia, J. G. Hanna // Analyt. Chem. — 1961. — Vol. 33, No. 7. — P. 896–900.
6. Hanna, G. J. Primary and Secondary Hydroxyl Group Content of Propylene Glycols [Text] / G. J. Hanna, S. Siggia // J. Polym. Sci. — 1962. — Vol. 56, No. 164. — P. 297–304.
7. Бойко, В. П. Реакційна здатність гідроксильних груп в олігобутадієні, отриманому радикальною полімеризацією, ініційованою перекисом водовода [Текст] / В. П. Бойко, В. К. Грищенко, Т. С. Яцимирська // Український хімічний журнал. — 1982. — Т. 48, № 4. — С. 415–419.
8. Ермольчук, Л. В. Кінетика ацетилювання гідроксильних груп в олігодієні, отриманому модифікацією нефункціональних каучуків меркаптоетанолом і перекисом водовода [Текст] / В. П. Бойко, В. К. Грищенко, Е. В. Лебедєв, Ю. К. Гусєв, В. Н. Забористов // Полімерний журнал. — 2008. — Т. 30, № 1. — С. 76–80.
9. Бойко, В. П. Методика проведення розрахунків при отриманні герметиків на основі жидких каучуків шляхом взаємодії функціональних груп компонентів [Текст] // Композиційні полімерні матеріали. — 2002. — Т. 24, № 1. — С. 52–57.
10. Kine, B. V. Acrylic and Methacrylic esters [Text] / B. V. Kine, R. M. Novak // In Encyclopedia of Polymer Science and Technology. — Wiley: New York, 1985. — Vol. 1. — P. 234–305.
11. Grishchenko, V. K. Hydrogen-Peroxide-Initiated Polymerization of Isoprene in Alcohol Solutions [Text] / V. P. Boiko, E. I. Svistova, T. S. Yatsimirskaya, V. I. Valuev, T. S. Dmitrieva // J. Appl. Polym. Sci. — 1992. — Vol. 46, No. 12. — P. 2081–2087.

КІНЕТИЧНЕ АЦЕТИЛЮВАННЯ ГІДРОКСИЛЬНИХ ГРУП КОПОЛІМЕРУ ІЗОПРЕНУ ТА МОНОМЕТАКРИЛОВОГО ЕФІРУ ЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ

З метою диференціації гідроксильних груп проведено кінетичне ацетилювання кополімеру ізопрена і монометакрилового ефіру етиленгліколю, отриманого з перекисом водню як ініціатором полімеризації. Знайдено вміст двох типів гідроксильних груп, визначені константи швидкості їх ацетилювання. Отримані дані використані для оцінки розгалуженості кополімеру. Приведена детальна експериментальна і розрахункова методика.

Ключові слова: гідроксильні групи, метод кінетичного ацетилювання, реакційна здатність, олігомери.

Бойко Віталій Петрович, кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник, Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна.

Бойко Віталій Петрович, кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник, Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, Київ, Україна.

Boiko Vitaly, Institute of Macromolecular Chemistry (IMC) of the National Academy of Sciences (NAS) of Ukraine, Kyiv, Ukraine

УДК 579:636

Даниленко С. Г.

СТВОРЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ДОБАВКИ БК-П

Визначено тип взаємовідносин між штамами лакто- та біфідобактерій. Перевірено здатність до спільного росту у мікскультурах за показниками кислотоутворення та нагромадження життєздатних клітин кожного зі складників композиції. Визначено оптимальне співвідношення штамів при сумісному культивуванні. Створено функціональну добавку БК-П на основі штамів *Bifidobacterium infantis* : *B. longum* subsp. *Suis* : *Lactobacillus acidophilus* : *L. plantarum*.

Ключові слова: антагоністична активність, біфідобактерії, лактобацили, пробіотик, сумісне культивування, співвідношення штамів, функціональна добавка.

1. Вступ

Хвороби, пов'язані з порушеннями діяльності шлунково-кишкового тракту займають одне з основних місць

серед причин загибелі молодняку в господарствах. У цьому зв'язку, проблема профілактики шлунково-кишкових хвороб молодняку, збудниками яких є умовно-патогенні мікроорганізми, вважається однією з найактуальніших

завдань ветеринарної практики. Саме застосування пробіотиків істотно зменшує витрати на лікування захворювань у тварин, підвищує продуктивність останніх і покращує якість продукції. Тому необхідно впроваджувати пробіотики у систему вирощування тварин.

2. Аналіз літературних даних і постановка проблеми

Для створення пробіотиків частіше за все використовують молочнокислі та біфідобактерії, виділені з організму людей або тварин, а також із самоквасних харчових продуктів [1–4]. Шендеров Б. А. і співробітники вважають, що позитивний ефект пробіотиків на організм господаря здійснюється через нормалізацію мікробної екології господаря за рахунок пригнічення росту потенційно шкідливих мікроорганізмів в результаті продукції антимікробних субстанцій, конкуренції за рецептори адгезії і поживні речовини, активації імуні-компетентних клітин, стимуляції росту представників індигенної флори в результаті продукції вітамінів та інших ростостимулюючих факторів, нормалізації рН, еН – потенціалу, нейтралізації токсинів [5–7].

В більшості країн світу застосовують пробіотичні препарати для тварин, основані на монокультурах. В той же час, ветеринарні спеціалісти, які використовують пробіотики для профілактики і лікування різних захворювань, віддають перевагу комплексним біопрепаратам на основі декількох видів мікроорганізмів (стрептококи, лактобацили, бацили, біфідобактерії і ін.). Такі пробіотики, сприяють збереженню поголів'я великої рогатої худоби, овець, свиней, птиці [8–11].

Тому метою нашої роботи є створення функціональної добавки БК-П за спектром антагоністичної активностей відносно патогенних мікроорганізмів методом *in vitro* та підбір композиційного співвідношення молочнокислих та біфідобактерій.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні основні задачі:

1. Визначити тип взаємовідносини між штамами лакто- та біфідобактерій.

2. Перевірити здатність до спільного росту у міксокультурах за показниками кислотоутворення та нагромадження життєздатних клітин кожного із складників композиції

3. Підібрати композиційні співвідношення молочнокислих та біфідобактерій для функціональної добавки БК-П за спектром антагоністичної активності відносно патогенних мікроорганізмів методом *in vitro*.

3. Результати досліджень зі створення функціональної добавки БК-П

Об'єктами досліджень були чисті культури молочнокислих бактерій (МКБ) *L. paracasei* ssp. *paracasei* (шт. 3800 та 3801), *L. brevis* (шт. 3900), *L. plantarum* (шт. 3203, та 3204), *L. casei* (шт. 3323), *L. rhamnosus* (шт. 3333), *L. acidophilus* (шт. 3137) та біфідобактерії (ББ) виду *Bifidobacterium longum* subsp. *suis* (шт. 4600), *B. longum* (шт. 4206), *B. infantis* (шт. 4300 та 4302), а також польові ізоляти збудників хвороб з патогенного матеріалу поросят, різних свинарських господарств України: *Escherichia coli*, *Salmonella cholerae suis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*. Було проведено визначення типу

взаємовідносин між штамами лакто- та біфідобактерій. Для цього було відібрано 10 штамів роду *Lactobacillus* та 4 штами роду *Bifidobacterium*.

Із вказаних штамів було створено 32 двокомпонентні комбінації (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристика спільного культивування штамів

ББ МКБ	<i>B. longum</i>		<i>B. infantis</i>	
	4600	4206	4302	4300
<i>L. paracasei</i> 3800	⊕ ⁺	+ -	- +	⊕ ⁺
<i>L. paracasei</i> 3801	+ -	⊕ ⁺	+ -	⊕ ⁺
<i>L. casei</i> 3323	⊕ ⁺	+ ⊕	⊕ ⁺	+ +
<i>L. brevis</i> 3900	+ -	⊕ ⁺	⊕ ⁺	+ -
<i>L. plantarum</i> 3203	+ +	⊕ ⁺	⊕ ⁺	- +
<i>L. plantarum</i> 3204	⊕ ⁺	- -	+ -	⊕ ⁺
<i>L. rhamnosus</i> 3333	⊕ ⁺	+ ⊕	⊕ ⁺	+ ⊕
<i>L. acidophilus</i> 3137	+ -	⊕ ⁺	⊕ ⁺	+ +

Примітка. Взаємне стимулювання штамів забарвлено сірим кольором. ⊕ — інтенсивний ріст за умов спільного культивування, «+» — наявність росту, «-» — відсутність росту

Взаємне стимулювання росту (синергізм) було зафіксовано у 46,9 % комбінацій (табл. 1). Інша форма симбіотичних взаємовідносин — коменсалізм — була виявлена у 21,9 % комбінацій. Штами *L. casei* та *L. rhamnosus* стимулювали біфідобактерії у трьох композиціях. Для 11 комбінацій було зафіксовано прояв активного антагонізму. При цьому пригнічення росту біфідобактерій лактобактеріями виявлено у 10 варіантах. Взаємне пригнічення культур було зафіксоване у 1 комбінації (*L. plantarum* 3204 + *B. longum* 4206). Для однієї композиції було також помічено пригнічення *L. plantarum* 3203 штамом *B. infantis* 4300. За результатами проведених досліджень було відібрано 7 двокомпонентних комбінацій культури лакто- та біфідобактерій, які за спільного культивування є не тільки сумісними, а й стимулюють одна одну.

На основі вищезазначених комбінацій було скомпоновано чотирьохкомпонентні композиції зі співвідношенням штамів 1:1:1:1. Здатність до спільного росту у міксокультурах було перевірено за показниками кислотоутворення та нагромадження життєздатних клітин кожного із складників композиції за умов культивування на середовищі МРС з глюкозою та лактозою (рН 7,0). Після 16 год культивування у всіх створених варіантах композиції спостерігали збільшення активної кислотності середовища за відповідними змінами рН з 6,5 до 3,44–4,03 од. Найменші зміни кислотності зафіксовано для композицій, які складаються з двох штамів ББ і однієї сумісної з ними культури МКБ та варіант з двома штамами МКБ і одним штамом ББ.

Упродовж культивування для всіх варіантів позначилась тенденція до збільшення чисельності життєздатних МКБ та ББ. Так, у 72 % композицій через 16 год відбувалось зростання кількості лактобацил на 1,5–2,0 порядки. За нагромадженням життєздатних біфідобактерій між варіантами встановлено значні розбіжності. У складі п'яти композицій спостерігали незначний приріст ББ, їхня чисельність збільшилася

в межах (0,5–0,8) lg КУО/см³. У решті варіантів приріст ББ був дещо вищим і становив (1,38–1,94) lg КУО/см³. Для однієї композиції нагромадження ББ проходило інтенсивніше ніж лактобацил.

За результатами проведених досліджень було відібрано для наступної роботи одну композицію *B. infantis* 4302 : *B. longum* subsp. suis 4600 : *L. paracasei* 3800 : *L. plantarum* 3204, яка характеризувалася підвищенням чисельності: МКБ — на 2,23 lg КУО/см³, ББ — 1,94 lg КУО/см³, та зростанням кислотності середовища на 3,06 од.

Для створення бактеріальних препаратів з двох чи більше бактеріальних культур необхідною умовою для їх подальшого ефективного застосування є правильний добір їх композиційних співвідношень. Було відібрано 7 комбінацій штамів, які є сумісними за спільного культивування. Ці комбінації характеризуються взаємним стимулюванням штамів та перевірена їхня антагоністична активність, щодо патогенних тест-культур.

Встановлено, що показники антагоністичної активності композиції зі співвідношенням штамів 1:1:1:1, отриманої в процесі роздільного культивування штамів бактерій з подальшим поєднанням двох об'ємів біфідобактерії і по одному об'єму кожного з штамів лактобацил, були достовірно вищі за активність композиції з співвідношенням культур 0,5:0,5:1:1 щодо тест культур, зони затримки росту яких становили 26 мм, 23 мм, 24 мм, 32 мм та 22 мм відповідно). Однак влив композиції зі співвідношенням 2:1:1 на ріст *S. aureus* та *S. perfringens* (зона затримки росту 24 мм та 22 мм) був меншим в порівнянні з активністю композиції зі співвідношенням 1:1:1:2 (зона затримки росту становила 27 мм та 26 мм відповідно).

Збільшення кількості молочнокислих бактерій (зі співвідношенням 0,5:0,5:2:2) призводило до послаблення антагоністичної дії цієї композиції, зони затримки росту яких дорівнювали 16 мм, 15 мм, 17 мм, 18 мм, 15 мм та 20 мм відповідно, через більш різке зниження рН середовища.

Таким чином, у створених нами композиціях, окрім композиції зі співвідношенням 0,5:0,5:2:2, досліджувані штами взаємодоповнювали одна одну за спектром специфічної активності щодо тест-культур мікроорганізмів. При цьому антагоністична активність, яка характерна для кожного окремо взятого штаму, не втрачалася при їх поєднанні, що може забезпечити більш широкий спектр антагоністичної активності створених композицій.

4. Висновки

1. На основі проведених досліджень було відібрано 7 двокомпонентних комбінацій культур лакто- та біфідобактерій, які за спільного культивування є не тільки сумісними, а й стимулюючими одна одну.

2. Відібрано одну композицію, яка характеризувалася підвищенням чисельності: МКБ — на 2,23 lg КУО/см³, біфідобактерій — 1,94 lg КУО/см³.

3. Підібрано композиційне співвідношення молочнокислих біфідобактерій для функціональної добавки БК-П за спектром антагоністичної активності відносно ряду патогенів — збудників гострих кишкових захворювань молодняка сільськогосподарських тварин *Escherichia coli*, *Salmonella cholerae* suis, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*.

Література

- Fuller, R. Probiotics in man and animals [Text] / R. Fuller // J Appl Bacteriol. — 1989. — № 66. — Р. 365–378.
- Литвин, В. Нові пробіотики для профілактики й терапії гострих шлунково-кишкових хвороб молодняка тварин і птиці [Текст] / В. Литвин, В. Поліщук, І. Кучеренко // Пропозиція. — 2000. — № 4. — С. 70–71.
- Бортнічук, В. А. До питання історії вивчення і конструювання пробіотиків та перспектива застосування їх у тваринництві [Текст] / В. А. Бортнічук, Н. Г. Сорочкіна, М. Г. Наконечна // Науковий вісник Національного аграрного університету. — 2005. — Вип. 89. — С. 115–120.
- Дімова, М. І. Пробиотичні властивості бактеріоциногенного штаму *Lactobacillus plantarum* ГЗ/3 (13) [Текст] / М. І. Дімова // Мікробіологічний журнал. — 2006. — № 4. — С. 47–54.
- Шендеров, Б. А. Пробиотики и функциональное питание [Текст] / Б. А. Шендеров, М. А. Манвелова, Ю. Б. Степанчук, Н. Э. Скиба // Антибиотики и химиотерапия. — 1997. — Т. 42, № 7. — С. 30–34.
- Антипов, В. А. Использование пробиотиков в животноводстве [Текст] / В. А. Антипов // Ветеринария. — 1991. — № 4. — С. 55–58.
- Егоров, Н. С. Основы учения об антибиотиках [Текст]: учеб. / Н. С. Егоров. — 6-е изд., перераб. и доп. — М.: МГУ, 2004. — 528 с.
- Глушанова, Н. А. Об антагонизме пробиотических лактобацилл [Текст] / Н. А. Глушанова, А. И. Блинова, В. В. Бахаева // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2004. — № 6. — С. 37–39.
- Лянная, А. М. Биологические и экологические особенности микробов рода *Bifidobacterium* [Текст] / А. М. Лянная, М. М. Интизаров, Е. Е. Донских // Бифидобактерии и их использование в клинике, медицинской промышленности и сельском хозяйстве. — М., 1986. — С. 32–38.
- Бовкун, Г. Ф. Результаты применения бифидобактерий при выращивании цыплят [Текст] / Г. Ф. Бовкун, Ж. Н. Богдановская, А. Н. Борисенкова // Сб. научн. тр. ВНИВИП. — 1993. — С. 73–77.
- Семченко, А. В. Совершенствование способа получения пробиотических препаратов [Текст] / А. В. Семченко, А. В. Казьянин, Е. В. Орлова, В. А. Несчислав // Фундаментальные исследования. — 2007. — № 12. — С. 350.

СОЗДАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДОБАВКИ БК-П

Определен тип взаимоотношения между штаммами лакто- и бифидобактерий. Проверено способность к общему росту в микскультурах по показателям кислотообразования и накопления жизнеспособных клеток каждого из составляющих композиции. Определено оптимальное соотношение штаммов при совместном культивировании. Создано функциональную добавку БК-П на основе штаммов *Bifidobacterium infantis* : *B. longum* subsp. Suis : *Lactobacillus acidophilus* : *L. plantarum*.

Ключевые слова: антагонистическая активность, бифидобактерии, лактобациллы, пробиотик, совместное культивирование, соотношение штаммов, функциональная добавка.

Даниленко Светлана Григорівна, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, отдел биотехнологий, Институт продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук, Київ, Україна, e-mail: svet1973@gmail.com.

Даниленко Светлана Григорьевна, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, отдел биотехнологии, Институт продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук, Киев, Украина.

Danylenko Svetlana, Institute of Food Resources of National Academy of Agricultural Science, Kyiv, Ukraine, e-mail: svet1973@gmail.com