УДК 602.4:582.232:636.085

МЕРЗЛОВА Г.В., аспірантка
МЕЛЬНИЧЕНКО О.М., д-р с.-г. наук
Білоцерківський національний аграрний університет

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ ЗА ВВЕДЕННЯ БІОМАСИ СПІРУЛІНИ ЗБАГАЧЕНОЇ КОБАЛЬТОМ

Досліджено вплив Кобальту у складі біомаси спіруліни на біохімічні показники крові та печінки білих мишей. Експериментально встановлено, що стократна концентрація введення Кобальту за рахунок кормової добавки Spirulina platensis не викликала токсичної дії в організмі білих мишей і була нешкідливою. Введення біомаси спіруліни збагаченої Кобальтом не мало вірогідного збільшення вмісту глюкози у крові, активності аспартат-амінотрансферази і аланінамінотрансферази у печінці та вірогідного зменшення вмісту гемоглобіну, загального Кальцію у крові та активності лужної фосфатази і концентрації білка у печінці білих мишей.

Ключові слова: азотнокислий Кобальт, аспартатамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза, біомаса, білі миші, гемоглобін, глюкоза, загальний білок, Кальцій, лужна фосфатаза, спіруліна.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. В сучасній літературі є багато даних про застосування синьо-зеленої водорості спіруліни в гематології. Завдяки високому вмісту вітаміну B_{12}, Феруму, Купруму, Кобальту та Мангану її використовують під час лікування гіпохромних анемій. При цьому спостерігали нормалізацію рівня гемоглобіну та збільшення засвоєння Феруму еритроцитами [5, 9].

Спіруліна містить речовини антиоксидантного ряду (бета-каротин, фікобіліпротеїни, глутатіон, глютамінову кислоту) і завдяки оптимальному співвідношенню ненасичених і насичених жирних кислот забезпечує високу антиоксидантну й мембранно-протекторну активність [8].

Для посилення позитивних властивостей спіруліни в лабораторіях світу здійснюється селекція нових штамів спіруліни, що мають здатність накопичувати значно більшу кількість тих або інших біологічно активних компонентів [2, 7].

Spirulina platensis має властивість акумулювати із середовища на якому вона розвивається розчинні форми макро- і мікроелементів. Використовуючи такі можливості культури, нами було розроблено біотехнологічний процес збагачення біомаси спіруліни Кобальтом для подальшого використання її у годівлі сільськогосподарських тварин.

Метал проникає через стінки кишечнику тварин та птиці в обох напрямках. Неорганічні солі Кобальту всмоктуються у зобі, тонкому і меншою мірою у товстому відділі кишечнику [1].

В організмі всмоктується лише 7–30 % Кобальту, що міститься у кормі. Шляхи екскреції елемента з організму залежать від способу його введення. Основна маса ендогенного (введеного парентерально) Кобальту екскретується через нирки; елемент, введений per os, виділяється, основним чином, через шлунково-кишковий канал [3].

Фізіологічний ефект Кобальту обумовлений, в першу чергу, його присутністю у молекулі ціанкобаламіну. Наявність металу в складі цього органічного комплексу в багато разів збільшує біологічну активність мікроелементу за одночасного зниження його токсичності. Кобальт необхідний для тварин навіть за наявності достатньої кількості вітаміну B_{12} в комбікормах.

Під дією Кобальту в організмі тварини підвищується синтез специфічного фактора росту – еритропоетину, який є головним регулятором еритропоезу [4].

Кобальт блокує сульфогідрильні групи цистеїну, зумовлюючи тим самим порушення тканинного дихання з наступним утворенням еритропоетичних факторів, які у кінцевому підсумку забезпечують нормальний синтез гемоглобіну та підвищення дозрівання еритроцитів у кістковому мозку. Однією з умов нормального біосинтезу вітамінів комплексу В є наявність у раціонах солей Кобальту [3].

Враховуючи те, що одержана нами біомаса спіруліни із підвищеним вмістом Кобальту є новою кормовою добавкою, тому доцільно, за умов біобезпеки, усі нові синтезовані сполуки вивчати щодо біологічної їх активності та нешкідливості.

Мета роботи – вивчення біохімічних показників у організмі білих мишей за умов дослідження на них нешкідливості біомаси спіруліни збагаченої Кобальтом.

Матеріал і методи досліджень. Експеримент проводили на 12 білих мишах масою 21-22 г, поділених на 3 групи по 4 тварини у кожній. І дослідна група – тварини, яким вводили (стократна концентрація за металом) внутрішньошлунково кормову добавку біомаси *Spirulina platensis* збагачену Кобальтом в об'ємі 1 мл за допомогою зонду (вихідний продукт мав вміст Кобальту 0,32 мг/г біомаси за вологості 9–12 %); ІІ дослідна група – тварини, яким вводили стократну концентрацію розчину сірчанокислого Кобальту в об'ємі 1 мл за допомогою зонду (доза металу за концентрацією була аналогічна як у І дослідній групі). Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин.

Досліджувані розчини вводили у шлунок через ротову порожнину одноразово за допомогою шприца з наплавленою олов'яною головкою. Спостереження за мишами проводили впродовж 10 діб. По завершенні дослідження мишей забивали і відбирали проби тканин та органів для проведення біохімічних досліджень. Гомогенати печінки мишей готували згідно з методикою [6].

Концентрацію гемоглобіну, загального білка, загального Кальцію та активності лужної фосфатази (ЛФ) визначали за допомогою інструкцій до наборів реактивів для їх визначення. Глюкозу визначали глюкозооксидазним методом, сечовину – діацетилмонооксидним методом, а активність аспартат-амінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ) визначали методом Райтмана-Френкеля. Оптичну щільність розчинів вимірювали за допомогою фотометричного обладнання за довжини хвилі (490-590) нм у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.

Результати досліджень та їх обговорення. Етологічні дослідження показали, що тварини всіх груп упродовж досліду постійно були рухливі, активно поїдали корм і пили воду, чітко реагували на зовнішні подразники – шум, світло, дотик тощо.

Під час розтину тварин і проведення патолого-анатомічних досліджень виявлено, що стан печінки, нирок, серця, легенів, селезінки, язика, стравоходу, шлунка, товстого і тонкого кишечнику дослідних тварин не відрізнявся від стану внутрішніх органів мишей контрольної групи.

Результати дослідження біохімічних показників крові білих мишей, за дії Кобальту, впродовж досліду свідчать про те, що вміст глюкози в крові І-ої дослідної групи був найвищим порівняно з ІІ-ою дослідною групою – на 4 % та контролем – 39,3 %. Проте різниця у обох випадках носила характер лише тенденції (табл. 1).

Таблиця 1 – **Біохімічні показники крові білих мишей за дії Кобальту**, M±m, n=4

Показник	Групи тварин		
	контрольна	І дослідна	ІІ дослідна
Вміст гемоглобіну, г/л	166,0±4,93	154,0±4,74	162,7±3,09
Вміст загального Кальцію, ммоль/л	10,4±0,46	8,5±0,73	9,5±0,56
Вміст глюкози, ммоль/л	5,6±0,70	7,8±1,05	7,5±1,21

Не встановлено вірогідної різниці між дослідними та контрольною групою за вмістом у крові гемоглобіну. Підвищені дози Кобальту у організмі мишей сприяли зниженню загального Кальцію у крові мишей І і ІІ дослідних груп, відповідно, на 18,2 та 8,6 % порівняно з контролем. Проте різниця була невірогідною.

Як видно із таблиці 2, введення білим мишам Кобальту у складі біомаси спіруліни не викликало вірогідного підвищення або зниження активності аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази у печінці тварин порівняно із ІІ дослідною групою та контролем.

Доведено, що введення мишам сірчанокислого Кобальту зумовлює тенденцію щодо підвищення активності лужної фосфатази в печінці тварин ІІ-ої дослідної групи.

Таблиця 2 – **Активність ферментів та вміст загального білка в печінці білих мишей**, M±m, n=4

Показник	Групи тварин		
	контрольна	I дослідна	II дослідна
Активність ЛФ, нмоль/г/с	4,5±1,01	4,3±0,72	6,8±0,66
Активність АсАТ, мкмоль/г/год	14,5±1,06	16,4±0,76	17,3±0,61
Активність АлАТ, мкмоль/г/год	21,1±0,82	23,0±0,96	22,2±1,53
Вміст загального білка, мг/г	96,5±1,80	95,7±8,06	117,7±17,32***

Примітка: *** – p≤0,001.

Експериментально встановлено, що вміст білка у печінці мишей I дослідної групи був на одному рівні із контролем. Введення у шлунок суспензії сірчанокислого Кобальту викликає підвищення загального білка у печінці мишей. У II-ій дослідній групі цей показник був вищим, ніж у I-ій дослідній та контролі, відповідно, на 23 та 21,9 % (p≤0,001). Поясненням підвищення масової
частки білка є виникнення тенденції щодо зростання активності амінотрансфераз.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Біомаса спіруліни збагачена Кобальтом є нешкідливою для тваринного організму. Стократне введення внутрішлунково Кобальту у складі спіруліни не викликає негативного впливу на клінічний стан тварин. 2. Кобальт у складі біомаси *Spirulina platensis* є менш токсичним, ніж сірчанокислий Кобальт, що підтверджується результатами дослідження вмісту білка у печінці білих мишей.

Перспективним напрямом дослідження є вивчення гострої токсичності біомаси спіруліни збагаченої Кобальтом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Георгиевский В.И. Минеральное питание сельскохозяйственной птицы / В.И. Георгиевский. – М.: Колос, 1970. – 327 с.

2. Селекція мутантних штамів Spirulina platensis з підвищеним вмістом метіоніну в біомасі / С.Г. Каракіс, О.Г. Драгоєва, Т.І. Лавренюк та ін. // Вісник ОНУ. – 2005. – Т. 10, Вип. 3. – С. 55-62.

3. Кравців Р.Й. Фізіологічне значення міді та кобальту в організмі овець / Р.Й. Кравців, В.Я. Бінкевич, Л.Є. Микитин // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – 2009. – Вип. 9. – Ч.2. – С. 49–53.

4. Кряжева В.Л. Обмен кобальта у коров при подкормке синтетическим метионитом / В.Л. Кряжева // Зоотехния. – 2004. – № 11. – С. 12–13.

5. Лук'янова О.М. Особливості перебігу, діагностики та лікування не найбільш поширених захворювань у дітей, що постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС / О.М. Лук'янова // Лікування та діагностика. – 1996, № 2. – С. 6-12.

6. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Учеб. пособие под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – С. 272.

7. Brown I.I. Mutants strains of Spirulina platensis with improved food and pharmaceutical value of biomass / I.I. Brown, S.G. Karakis // 3-rd European Workshop. Biotechnology of Microalgae. Abstracts. – 1997. – June 16.17. – P. 28.

8. Majit K. Biochemical studies on Spirulina proteins / K. Majit, S. Dua, A.S. Ahluwalia // Spirulina ETTA Nat. symp. MCRC. – Madras, India, 1992. – P. 78-84.

9. Seshadri C.V. The study of haemoglobin levels in humans fed on Spirulina supplement / C.V. Seshadri, V. Villiammai // Mono. Ser. Photosyn. – 1990. – Vol. 30. – P. 8.12.

Биохимические показатели в организме мышей при введении биомассы спирулины обогащенной Кобальтом

Г.В. Мерзлова, О.М. Мельниченко

Исследовано влияние Кобальта в составе биомассы спирулины на биохимические показатели крови и печени белых мышей. Экспериментально установлено, что стократная концентрация введения Кобальта за счет кормовой добавки Spirulina platensis не вызывала токсического действия в организме белых мышей и была безвредной. Введение биомассы спирулины обогащенной Кобальтом не имело вероятного увеличения содержания глюкозы в крови, активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в печени и достоверного уменьшения содержания гемоглобина, общего кальция в крови и активности щелочной фосфатазы и концентрации белка в печени белых мышей.

Ключевые слова: азотнокислый Кобальт, АлАТ, АсАТ, белые мыши, биомасса, гемоглобин, глюкоза, Кальций, общий белок, спирулина, щелочная фосфатаза.

Biochemical parameters in the body mice for input biomass of spirulina enriched cobalt

G. Merzlova, O. Melnichenko

The influence of cobalt in the biomass of Spirulina on biochemical indices of blood and liver of white mice. Experimentally that the introduction of cobalt concentration hundredfold by Spirulina platensis feed additive did not cause toxic effects in the body of white mice and was harmless. Introduction Spirulina biomass rich cobalt had probable increase of glucose in the blood, and alaninaminortransferazy aspartataminortansferazy activity in the liver and the likely decrease in hemoglobin, total calcium in the blood and the activity of alkaline phosphatase and the concentration of protein in the liver of white mice.

Keywords: alaninaminotransferase, alkaline phosphatase, aspartataminotransferase, biomass, Calcium, Cobalt nitrate, glucose, hemoglobin, Spirulina, total protein, white mice.