

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ЗА ВИКОРИСТАННЯ ПРЕБІОТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ОЛІГОЦУКРІВ В РАЦІОНАХ ПЕРЕПЕЛІВ

Вивчено вплив різних концентрацій пребіотичної композиції на гематологічні, біохімічні показники та показники неспецифічної резистентності японських перепелів м'ясної породи фараон. Встановлено, що згодовування м'ясним перепелам комбікорму з пребіотиками сприяє підвищенню антиоксидантного статусу організму та гальмуванню процесів пероксидного окиснення, покращення гематологічних показників та показників неспецифічної резистентності.

Ключові слова: перепели, пребіотики, фруктани, неспецифічна резистентність, антиоксидантний статус.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. З метою забезпечення екологічної безпеки продуктів харчування в країнах Євросоюзу заборонено використання антибіотиків при вирощуванні птиці і одержання продукції птахівництва [1,2].

Особливої уваги, як альтернатива антибіотикам, заслуговують пробіотики та пребіотики, дія яких адекватна механізмам захисту макроорганізму від патогенного впливу зовнішнього середовища, що склалися у процесі еволюції [3-5].

В останні роки ведуться дослідження з розробки технологій одержання різних класів пребіотиків, які застосовують з метою нормалізації мікрофлори кишечника. З погляду двох принципово важливих моментів – специфічної ферментації тільки бактеріальним пулом і зміною чисельності корисних популяцій мікроорганізмів – біфідо- і лактобактерій – ці критерії задовольняють: фруктами (інулін, фруктоолігоцукри) та деякі інші олігоцукри, зокрема ксилоолігоцукри [6,7]. Сучасними дослідженнями встановлено, що інулін, фруктоолігоцукри та ксилоолігоцукри селективно стимулюють ріст і метаболічну активність корисних та інгібують ріст потенційно патогенних бактерій [8]. Фруктоолігоцукри (ФОЦ) одержують за допомогою двох різних процесів, які призводять до дещо інших кінцевих продуктів. Олігофруктози (ОФ), які одержують за допомогою ферментативного гідролізу інуліну за участі ендоінуліназ містять фруктозні ланцюги (Fm) та ланцюги GFn з термінальною молекулою глюкози. Фруктоолігоцукри, які одержують шляхом синтезу із сахарози за допомогою ферменту трансфруктозидази містять лише GFn ланцюги [7]. Авторами нещодавнього огляду описано відмінності в ферментації коротколанцюгових фруктоолігоцукрів (клFOS) та довголанцюгових фруктолігосахаридів длFOS різними штамми біфідобактерій: всі штами ферментували клFOS, але лише деякі – длFOS. Різні методи ферментування клFOS та длFOS призвели до відмінності у складі КЛЖК (коротколанцюгових жирних кислот) в культурах фекальних мікроорганізмів людини: за додавання длFOS утворювався переважно бутират, а при додаванні клFOS – ацетат та лактат. Пребіотичну дію ФОЦ, вплив на склад КЛЖК описано для різних піддослідних тварин, включаючи мишей, шурів і бройлерів. Більша частина дослідів з визначення пребіотичних властивостей інуліну та ФОЦ, описаних в літературі, проводилась з необробленим інуліном цикорію, або фруктоолігоцукрами, штучно синтезованими з сахарози, які відрізняються за хімічною будовою і довжиною ланцюга та містять лише GFn ланцюги, на відміну від природних гідролізатів інуліну, що складаються з суміші коротколанцюгових фруктанів структури Fm та GFn [7]. Тому дослідження пребіотичних властивостей суміші фруктанів різної молекулярної маси, одержаних шляхом гідролізу інуліну, є актуальними. Світовий та вітчизняний ринки фруктанів досі ненасичені та можуть бути поповнені завдяки впровадженню новітніх біотехнологій [9]. Нещодавно з'явилися повідомлення, що комплекс нейтральних (фруктанів) та кислих полі- та олігоцукрів (пектинів), має синергічну дію та стимулює ріст і метаболічну активність корисних мікроорганізмів у кишечнику, посилює імунітет [10].

Виходячи з сучасного розширення концепції пребіотиків, максимально широкий спектр їх ефектів може бути одержаний при застосуванні, в першу чергу, пребіотичних комплексів. Такий пребіотичний комплекс забезпечує можливість реалізації складного каскаду метаболічних, імунобіологічних, антиоксидантних та інших властивостей, що характерні для нормально функціонуючого мікробно-тканинного комплексу кишечника.

Актуальним завданням біотехнології є одержання різних класів пребіотиків – речовин для підтримки нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту тварин та птиці. Важливим напрямом є розробка біотехнології одержання пребіотичних компонентів з топінамбуру (*Helianthus tuberosus*) – вітчизняного інуліноносу, та відходів виробництва кукурудзи для одержання інуліну, низькомолекулярних олігофруктозидів, пектину та ксилоолігоцукрів для подальшого застосування для підвищення резистентності та продуктивності тварин і птиці.

В лабораторії НДІ екології та біотехнології БНАУ розроблена ресурсозберігаюча біотехнологія одержання фруктанів різної молекулярної маси, пектину та ксилоолігоцукрів з використанням мембранних технологій та екологічно нешкідливих біокаталізаторів спрямованої дії для одержання кінцевого продукту із заданими властивостями [11]. Таким чином розробка та застосування нових пребіотичних препаратів для профілактики та лікування сільськогосподарських тварин і птиці є актуальним питанням сьогодення.

Метою досліджень було визначення впливу одержаної пребіотичної композиції нейтральних та кислих олігоцукрів (ПКНКО) у раціонах перепелів на біохімічні показники організму птиці.

Завданням досліджень було визначення впливу одержаної пребіотичної композиції нейтральних та кислих олігоцукрів (ПКНКО) у раціонах перепелів на біохімічні показники організму птиці.

Методика досліджень. Дослідження на перепелах породи фараон проведено в умовах віварію БНАУ в період їх вирощування з 1 до 56-денного віку. Утримання перепелів було клітковим з вільним доступом до корму і води. Температурний і світловий режими відповідали рекомендованим нормам. Перепелят у добовому віці розподілили на 6 груп за принципом аналогів. У кожній групі було по 100 голів. Перепелятам контрольної групи згодовували повнораціонний комбікорм; 1 дослідній групі – повнораціонний комбікорм, до якого додавали 0,2 % ПКНКО (інулін: ОФ: КОС: пектин = 1:1:1:0,5); 2 – 0,4 % ПКНКО; 3 – 0,6 % ПКНКО; 4 – 0,8 % ПКНКО; 5 дослідній групі – 1,0 % ПКНКО.

Для досліджень у птиці брали зразки крові шляхом декапітації. У пробах крові перепелів концентрацію білка визначали за Лоурі, підрахунок еритроцитів проводили у камері Горяєва. Гемоглобін у крові визначали гемоглобін-ціанідним методом. У сироватці крові визначали активність аспартат (АсАТ) і аланінамінотрансфераз (АлАТ) – уніфікованим динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля [12]. Вміст ТБК-активних продуктів (переважно малонового діальдегіду (МДА) в крові визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [13]. Концентрацію церулоплазміну (ЦП) у досліджуваних зразках сироватки визначали за реакцією з орто-фенілєндіаміном (ОФД) [14]. Активність каталази – за реакцією з молібдатом амонію [15]. Сульфогідрильні та дисульфідні групи визначали за методом Елмана [16]. Кальцій визначали в реакції з комплексом арсеназо-III [12]. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. Важливим інтегральним показником, безпосередньо пов'язаним з рівнем метаболізму та інтенсивністю проходження окисно-відновних процесів в організмі є морфологічний склад крові. У крові перепелів дослідних груп ці показники знаходяться в межах фізіологічної норми і перевищують їх значення у контрольній групі (табл. 1). На 28 добу вирощування рівень гемоглобіну в крові перепелів 1-ї, 2, 3, 4 та 5-ї дослідних груп мав тенденцію до збільшення відповідно на 1,7; 3,0; 4,9; 3,8 та 2,2 %. Показники кількості гемоглобіну в крові перепелів дослідних груп більші відносно показників контрольної групи, що свідчить про більш високий рівень окисно-відновних процесів у їх організмі. Кількість еритроцитів у крові перепелів дослідних груп зросла на 0,9 ; 4,7; 5,9; 3,4 та 1,9 % відповідно.

Включення композиції пребіотиків у раціон перепелів позитивно вплинуло на білковий обмін в їх організмі. Загальний вміст білка в крові у птиці 1, 2, 3, 4 та 5-ї груп був більшим відповідно на 2,1 ; 4,1; 10,8; 6,7 та 2,6 %. Дана тенденція вказує на посилення білоксинтезуючої функції печінки. Вірогідними були зміни у перепелів 3 групи ($p < 0,05$).

Таблиця 1 – Морфологічні та біохімічні показники крові перепелів за дії композиції пребіотиків (M±m, n=6)

Група	Гемоглобін, г/л	Еритроцити 10 ¹² /л	Загальний білок, г/л	АсАт, ммоль/год	АлАт, ммоль/год
К	107,4± 3,64	3,21 ± 0,09	34,2 ± 0,84	1,54 ±0,08	0,52 ± 0,04
1	109,2± 4,82	3,24 ± 0,05	34,9 ± 1,18	1,47 ±0,06	0,55 ± 0,06
2	110,6± 3,74	3,36 ± 0,09	35,6 ± 0,96	1,52 ±0,12	0,47 ± 0,03
3	112,7± 5,92	3,40 ± 0,08	37,9 ± 0,74*	1,43 ±0,16	0,48 ± 0,05
4	111,5± 4,19	3,32 ± 0,14	36,5 ± 1,23	1,56 ±0,09	0,51 ± 0,08
5	109,8± 6,18	3,27 ± 0,05	35,1 ± 1,12	1,52 ±0,08	0,49 ± 0,03

Примітка: Різниця вірогідна * p < 0,05; ** p < 0,01.

Аналізуючи результати визначення показників активності аспартат- та аланінамінотрансферази слід зауважити, що вірогідних різниць між перепелами контрольної та дослідних груп не встановлено (p > 0,05).

Аналіз вмісту ТБК-активних продуктів (табл. 2) виявив зменшення цього показника у перепелів дослідних груп відносно контрольної групи на 3,8; 9,4; 22,6 (p < 0,05); 16,8 (p < 0,05) та 11,3 % відповідно.

По результатах біохімічних досліджень крові перепелів відмічено, що показники були в межах фізіологічної норми, одночасно слід також відзначити зміни вмісту церулоплазміну – збільшення показника на 13,9; 17,2; 20,4; 22,6 та 9,7 % на тлі зменшення показників ТБК-активних продуктів, що свідчить про більш ефективну елімінацію продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) порівняно з контрольною групою. У крові перепелів 3-ї та 4-ї дослідних груп вірогідно підвищується вміст церулоплазміну, який є основним зовнішньоклітинним антиоксидантом плазми і має здатність нейтралізувати найбільш реакційноздатні гідроксильні радикали. Відомо, що Fe²⁺ окиснюється до Fe³⁺ за дії церулоплазміну, який функціонує у крові як оксидаза. Ферум (III) у складі трансферину транспортується в кістковий мозок, де включається до складу гему гемоглобіну. Таким чином, церулоплазмін опосередковано, за участю трансферину, стимулює кровотворення. Підвищення активності ЦП у крові перепелів дослідних груп сприяє переходу прооксидної форми Феруму у транспортну – у складі трансферину і зменшенню пулу низькомолекулярного Феруму у крові, гальмуючи його взаємодію з H₂O₂, який шляхом дифузії з клітин надходить у кров і вступає у реакцію Фентона з утворенням високотоксичного продукту пероксидного окиснення ліпідів – гідроксильного радикала [18].

Таблиця 2 – Показники ПОЛ, антиоксидантного захисту та вмісту кальцію у крові перепелів (M±m, n=6)

Група	ТБК-активні продукти, мкмоль/л	Церулоплазмін, мг/л	Каталаза, мкат/л	Кальцій загальний, ммоль/л
К	5,3±0,23	93±5,2	1,64±0,06	2,13±0,16
1	5,1±0,22	106±8,6	1,58±0,09	2,30±0,24
2	4,8±0,25	109±7,4	1,41±0,05	2,36±0,09
3	4,1±0,28*	112±4,1*	1,37±0,07	2,58±0,21
4	4,4±0,24*	114±6,3*	0,45±0,05	2,65±0,27
5	4,7±0,31	102±10,2	1,65±0,06	2,44±0,19

Примітка: Різниця вірогідна * p < 0,05.

Активність каталази сироватки крові в усіх групах достовірно не відрізнялася (p > 0,05). Каталаза локалізована в пероксисомах клітин і має високу молекулярну масу, що утримує її проникнення крізь клітинні мембрани. Максимальна активність каталази виявлена в еритроцитах, клітинах печінки, нирок, її активність у плазмі крові в нормі незначна і підвищується при активації ПОЛ [18].

Дослідженнями вмісту кальцію встановлено, що показники знаходяться в межах фізіологічної норми, найвищий вміст кальцію спостерігався в крові перепелів 3-ї та 4-ї груп. Порівняно з аналогічним показником контрольної групи у перепелів 1, 2, 3, 5 та 6-ї груп він був відповідно на 7,9; 10,8; 21,1; 24,4 та 14,6 % вищий. Підвищення вмісту кальцію у крові перепелів дослідних груп узгоджується з результатами досліджень [18], в яких встановлено, що за використання комбінації коротколанцюгових (клФОЦ) та довголанцюгових фруктолігоцукрів (длФОЦ) підвищується засвоєння кальцію в організмі. Доведено, що вуглеводні промотори корисної

мікрофлори з групи нейтральних олігоцукрів виконують подвійну функцію: слугують енергетичним субстратом і не засвоюються патогенними мікроорганізмами; продуктами ферментації цих олігоцукрів є коротколанцюгові жирні кислоти (ацетат, лактат, бутират), які знижують рН у кишечнику, що сприяє засвоєнню Кальцію, Магнію та Феруму [17].

Об'єктивною оцінкою антиоксидантного стану і неспецифічної резистентності організму є характеристика тіол-дисульфідної системи, зокрема, тіол-дисульфідне співвідношення. Багато процесів у регулюванні клітинних процесів у прокариотичних та еукаріотичних клітинах, наприклад фосфорилування білків (у тому числі регуляторних), активація факторів транскрипції та їх зв'язування з регуляторними сайтами ДНК, контролюються фізіологічними змінами окисно-відновного стану і перш за все тіол-дисульфідним балансом. При порушенні обміну речовин, зумовлених різними зовнішніми факторами, спостерігається зниження SH-груп і збільшення кількості SS-груп [19].

У таблиці 3 наведено результати дослідження концентрації сульфогідрильних, дисульфідних груп та тіол-дисульфідного співвідношення у крові перепелів різних груп. Результати досліджень дозволили встановити, що у перепелів дослідних груп, які отримували пребіотичні добавки, на 28-у добу досліду спостерігали підвищення сульфогідрильних груп (-SH), зменшення дисульфідних груп (-SS-) та підвищення тіол-дисульфідного співвідношення (SH/SS). У перепелів 3-ї дослідної групи підвищення сульфогідрильних груп та тіол-дисульфідного співвідношення були достовірними ($p < 0,05$).

Таблиця 3 – Концентрація сульфогідрильних та дисульфідних груп у крові перепелів ($M \pm m$; $n=6$)

Група	Біохімічний показник		
	-SH, мкмоль/л (сульфогідрильні групи)	-SS-, мкмоль/л (дисульфідні групи)	SH/ SS (тіол-дисульфідне співвідношення)
Контрольна	117,8±5,14	71,4±3,21	1,65±0,16
1	121,5±4,85	69,4±6,18	1,75±0,07
2	130,8±4,12	65,9±4,48	1,99±0,11
3	138,6±5,81*	68,8±5,17	2,21±0,09*
4	134,7±4,21*	69,1±4,12	2,10±0,14
5	122,4±7,12	67,2±3,94	1,82±0,08

Примітка: Різниця вірогідна * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Таким чином, окиснювально-відновна рівновага у тіол-дисульфідній системі: $R-SH \leftrightarrow R-S-S-R$ зміщується в сторону відновних форм тіолів ($R-SH$), що сприяє підвищенню адаптаційних можливостей організму перепелів.

Висновок. Отже, використання в годівлі перепелів комбікорму з вмістом композиції пребіотиків (суміші полі- та олігомерів структури GF_n і F_m , ксилоолігоцукрів та низькоетерифікованого пектину) сприяє підвищенню антиоксидантного статусу організму перепелів та гальмуванню процесів пероксидного окиснення, покращенню гематологічних показників, показників неспецифічної резистентності. Оскільки є дані, що пребіотики позитивно впливають на мікробіоценоз кишечника та продуктивність птиці, то дослідження з використання цього препарату в годівлі м'ясних перепелів слід продовжити.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hajati H. The Application of Prebiotics in Poultry Production / H. Hajati // International Journal of Poultry Science. – 2010. – Vol. 9, № 3. – P. 298–304.
2. Засекін Д. У СОТ та ЄС – без антибіотиків у кормах і продукції тваринництва! / Д. Засекін, В. Прус, О. Рева // Ветеринарна медицина України. – №4.–2006.–С.30–31.
3. Стегній, Б. Т. Застосування пробіотиків у тваринництві / Б. Т. Стегній, С. О. Гужвинська // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 5. – С. 39–41.
4. Бількевич В.В. Інтенсивність росту курчат-бройлерів за згодовування на старті різних доз препарату НуПро / В.В. Бількевич, Л.С. Дяченко // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – Біла Церква, 2010. – Вип. 4(77). – С. 36–39.
5. Roberfroid M.B. Prebiotics: concept, definition, criteria, methodologies and products / M.B. Roberfroid, B.R. Gibson // editors. Handbook of prebiotics. Boca Raton, Fla.: CRC Press, Taylor and Francis Group. – 2008. – P. 39–68.

6. Achary A.A. Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications / A.A. Achary and S.G. Prapulla // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2011. – V. 10 – I. 1. – P. 2–16.
7. Zhen-ming Chi Biotechnological potential of inulin for bioprocesses/ Zhen-Ming Chi, Tong Zhang, Tian-Shu Cao [et al] // *Bioresource Technology* 102 – 2011. – P. 4295–4303.
8. Singh R.S. Fructooligosaccharides from inulin as prebiotics / R.S. Singh // *Food Technol. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 48, № 4. – P. 435–450.
9. Матвеева Н.А. Фруктани. Біосинтез у природі та в трансгенних рослинах / Н.А. Матвеева // *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* – 2010. – Том 8, № 2 – С.312–319.
10. Westerbeek E. The effect of acidic and neutral oligosaccharides on fecal IL-8 and fecal calprotectin in preterm infants / E. A. Westerbeek, E. Morch, H. N. Lafeber [et al] // *Pediatric Research* – 2011. – Vol. 69. – P. 255–450.
11. Маляр Д.Д. Спосіб одержання інуліну, фруктоолігоцукрів та пектину шляхом біоконверсії рослинної сировини / Д.Д. Маляр, В.С. Бітюцький // Заявка на винахід (корисну модель) № u 2011 11231 – 04. 10. 2011.
12. Левченко В.І. Біохімічні методи дослідження крові тварин / В.І. Левченко, Ю.М. Новожицька, В.В. Сахнюк та ін. – Київ, 2004. – 104 с.
13. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // *Лаб. дело.* – 1989. – № 7. – С. 8–10.
14. Метод количественного определения церулоплазмينا / О.Б. Сиверина, В.В. Басевич, Р.В. Басова и др. // *Лаб.дело.* – 1986. – № 10. – С. 618–621.
15. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
16. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 391 с.
17. Abrams S.G. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents / S.G. Abrams, I.J. Griffin, K.M. Hawthorne [et al] // *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* – 2011 – Vol. 5, № 5. – P. 1297–1309.
18. Бітюцький В.С. Біотехнології одержання комплексних антианемічних препаратів та їх застосування для корекції адаптивних систем організму поросят в постнатальному онтогенезі: дис... доктора с.-г наук: 03.00.20 – біотехнологія / В.С. Бітюцький. – Біла Церква, 2007. – 362 с.
19. Войтеха М.А. Иммуный и тиол-дисульфидный статус свиней, содержащихся на низкопротеиновых рационах с различной обменной энергией и аминокислотами / М.А. Войтеха, А.А. Гаглошвили // *Сельскохозяйственная биология.* – 2010. – Т. 4. – С. 66–72.

Биохимические показатели крови при использовании пребиотической композиции олигосахаров в рационе перепелов

Д.Д. Маляр

Изучено влияние разных концентраций пребиотической композиции на гематологические, биохимические показатели и показатели неспецифической резистентности японских перепелов мясной породы фараон. Установлено, что скармливание мясным перепелам комбикорма с пребиотиками способствует повышению антиоксидантного статуса организма и торможению процессов перекисного окисления, улучшению гематологических показателей и показателей неспецифической резистентности.

Ключевые слова: перепела, пребиотики, фруктаны, неспецифическая резистентность, антиоксидантный статус.

Blood biochemical indices for use composition olihotsukriv prebiotic in the diet of quail

D. Malyar

The effect of different concentrations prebiotical songs on hematological, biochemical indices and indices of nonspecific resistance of Japanese quail meat breed Pharaon. Found that the feeding of meat quail feed with prebiotics enhances the antioxidant status of the organism and inhibition of peroxidation processes, improve performance and hematological indices of nonspecific resistance.

Key words: quails, prebiotics, fructans, nonspecific resistance, antioxidant status.