

**БІТЮЦЬКИЙ В.С., МЕЛЬНИЧЕНКО О.М.**, доктори с.-г. наук  
**ШАДУРА Ю.М., МАЛЯР Д.Д., СОЛОМОНЮК Я.В.**, аспіранти  
*Білоцерківський національний аграрний університет*

### **ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕБІОТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ОЛІГОЦУКРІВ**

Вивчено в умовах гострого дослідження параметри токсичності пребіотичної композиції олігоцукрів рослинного походження: ступінь токсичності (величини токсичних доз); орієнтовні дози (концентрації) для проведення хронічного дослідження. Дослідженнями встановлено, що комплекс нейтральних та кислих олігоцукрів належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин. Досліджувана композиція олігоцукрів належить до препаратів зі слабо вираженими властивостями до кумуляції.

**Ключові слова:** пребіотики, олігоцукри, гостра токсичність, кумулятивні властивості.

**Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій.** Останнім часом вплив екологічного стану середовища, яке погіршується, безконтрольне застосування хімічних препаратів, зокрема антибіотиків загострює питання щодо способів відновлення корисної мікрофлори, тобто мікроекології макроорганізму. Пробиотики, пребіотики та синбіотики є єдиною альтернативою антибіотикам і дає змогу знизити захворювання шлунково-кишкового тракту й підвищити продуктивність тварин [1–3]. Проблема їх використання для підвищення резистентності, збереження та продуктивності тварин є актуальною та потребує подальшого вивчення.

На сучасному етапі продовжується пошук засобів, що спрямовані на профілактику виникнення дисбактеріозу і збільшують опірність організму до несприятливих чинників зовнішнього середовища. Цим обумовлена поява на ринку пробіотиків, пребіотиків та синбіотиків (комплекс пробіотиків і пребіотиків). Ефективність синбіотиків базується на синергізмі пробіотиків і пребіотиків, за рахунок якого стимулюється зростання і розвиток власної мікро-флори тварин.

В лабораторії НДІ екології та біотехнології БНАУ розроблена біотехнологія одержання пребіотичної композиції олігоцукрів рослинного походження для використання у птахівництві разом з пробіотиками для формування оптимального мікробіоценозу кишечника, пригнічення патогенної мікрофлори, кращого засвоєння мінеральних елементів, підвищення резистентності та продуктивності птиці. Перехід від традиційних хімічних до біотехнологічних методів одержання пробіотиків – шлях до створення екологічно чистих виробництв – екобіотехнологій.

**Мета і завдання досліджень.** Метою досліджень було вивчити токсичність одержаного комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів відповідно до методичних рекомендацій “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” [4]. Відповідно до методики завданням НДР було: встановити токсичність комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів на лабораторних тваринах за одноразового введення (гостра токсичність); дослідити кумулятивні властивості препарату на білих щурах. Дослідження проводили відповідно до методичних рекомендацій “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” і “Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів” (2006) [5].

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили в умовах віварію Науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок (м. Львів) при надходженні препарату для проведення експертизи та одержання ТУУ на пребіотичну добавку. В умовах гострого дослідження визначали: а) ступінь токсичності (величини токсичних доз); б) орієнтовні дози (концентрації) для проведення хронічного дослідження.

Гостру токсичність комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів вивчали на білих мишах 3-4-місячного віку, масою тіла 19-22 г та білих щурах 3-4-місячного віку, масою тіла 170-180 г. Препарат вводили у шлунок піддослідним тваринам за допомогою металевого зонду для лабораторних тварин натще, одноразово. Перед введенням препарат розчинили у воді та ретельно перемішали. Всього в досліді було використано по 36 білих щурів і мишей.

Комплекс нейтральних та кислих олігоцукрів вводили лабораторним тваринам, у дозах 5, 50, 500, 5000 і 10000 мг/кг. Препарат у великих дозах вводили дрібними порціями з інтервалом від двох до чотирьох годин. Максимальна введена доза склала 10000 мг/кг маси тіла тварини. Дану дозу препарату вводили двічі. Спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 14 діб.

При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм, частоту дихання, час виникнення та характер інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання. Під час досліду враховували загибель лабораторних тварин та, залежно від дози препарату, вираховували середньосмертельні дози ( $LD_{50}$ ) даної лікарської форми [6].

Властивості комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів щодо кумуляції вивчали на 12 білих щурах масою 90-110 г. Щури були поділені на 2 групи: контрольну і дослідну. Для визначення ступеня кумуляції препарату використали метод К.С. Ліма та співавторів (1961) [7,8]. Препарат вводили дослідним тваринам щоденно, натще, внутрішньошлунково одноразово за допомогою металевого зонду для лабораторних щурів. Препарат у великих дозах вводили щоденно дрібними порціями з інтервалом від 2 до 4-х годин між введеннями. Дослід тривав 20 діб.

Щурам комплекс нейтральних та кислих олігоцукрів вводили, починаючи з дози 1000 мг/кг, що відповідно становило 0,1 від максимальної введеної дози препарату в дослідах з визначення  $LD_{50}$ , з послідовним збільшенням дози у 1,5 рази через кожні 4 доби. Під час досліду враховували загальний стан і загибель щурів. Залежно від дози препарату, вираховували коефіцієнт кумуляції за формулою:

$$K_{\text{кум}} = LD_{50n} / LD_{501},$$

де  $K_{\text{кум}}$  – коефіцієнт кумуляції;

$LD_{50n}$  і  $LD_{501}$  – середні смертельні дози за багаторазового та одноразового введення відповідно.

При вивченні хронічної токсичності керувалися результатами, отриманими під час проведення гострої токсичності. Комплекс нейтральних та кислих олігоцукрів застосовували щоденно, натще; всередину. У хронічному досліді препарат вводили щурам протягом 30 діб. Упродовж досліду проводили спостереження за клінічним станом та поведінкою тварин.

Хронічну токсичність комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів вивчали на 18 білих щурах масою 110-120 г. Було сформовано по 3 однакові за кількістю та масою групи, по 6 щурів кожна. Вводили препарат у дозах: тваринам I групи –  $1/20 DL_{50}$  – 500 мг/кг та II групи –  $1/50 DL_{50}$  – 200 мг/кг. III група тварин була контрольною, їм вводили дистильовану воду.

На наступну добу після закінчення введення препарату лабораторних тварин декапітували за легкого ефірного наркозу, відбирали кров для проведення гематологічних і біохімічних досліджень за загальноновизнаними методиками, розтинали і визначали коефіцієнти маси органів, порівняли з контрольною групою.

**Результати досліджень та їх обговорення.** В результаті проведених досліджень встановлено, що при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим мишам і щурам комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів усі лабораторні тварини залишалися живими. За умов перорального введення встановлено короточасне пригнічення лабораторних тварин, яким задавали препарат у дозі 10000 мг/кг, що пов'язано з великою кількістю препарату. На наступну добу змін в клінічному стані тварин дослідних груп не спостерігали. Такі ж результати було отримано і за повторного введення лабораторним тваринам комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів у дозі 10000 мг/кг. Дані досліджень подані в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1 – Результати гострого досліду за внутрішньошлункового введення білим мишам комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів

№ п/п	Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Кількість загиблих тварин		
			всього	у %	середній час загибелі
1	6	5	0	0	0
2	6	50	0	0	0
3	6	500	0	0	0
4	6	5000	0	0	0
5	6	10000	0	0	0
6	6	10000	0	0	0

Отже,  $DL_{50}$  комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів є більшою 10000 мг/кг маси тіла тварини, тому препарат можна віднести до малотоксичних речовин – 4 клас за ГОСТом 12.1.007-76.

Таблиця 2 – Результати гострого дослідження за внутрішньошлункового введення білим щурам комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів

№ п/п	Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Кількість загиблих тварин		
			всього	у %	середній час загибелі
1	6	5	0	0	0
2	6	50	0	0	0
3	6	500	0	0	0
4	6	5000	0	0	0
5	6	10000	0	0	0
6	6	10000	0	0	0

**Результати дослідження кумулятивних властивостей.** За умов дослідження властивостей комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів щодо кумуляції загибелі дослідних тварин спостерігалась з 13 доби дослідження. Сумарно введена середня доза препарату становила 222633 мг/кг маси тіла, а коефіцієнт кумуляції був відповідно – 3,7, що свідчить про слабо виражені кумулятивні властивості препарату. Результати проведених досліджень наведено в таблиці 3.

Таблиця 3 – Результати вивчення кумулятивних властивостей комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів

Вага тварини, г	Доба введення та доза від ЛД <sub>50</sub>						Доба загибелі
	1-4 (0,1)	5-8 (0,15)	9-12 (0,22)	13-16 (0,34)	17-20 (0,5)	21-24 (0,75)	
150	1,5	2,3	3,5	-	-	-	13
170	1,7	2,6	3,9	5,9	-	-	15
160	1,6	2,4	3,6	-	-	-	14
170	1,7	2,6	3,9	5,9	-	-	17
150	1,5	2,3	3,5	5,3	8	-	20
170	1,7	2,6	3,9	5,9	8,9	-	19

При проведенні дослідження з вивчення хронічної токсичності комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів загибелі лабораторних щурів не встановлено. На 30-ту добу дослідження, при введенні препарату у дозах 1/20 ЛД<sub>50</sub> та 1/50 ЛД<sub>50</sub> вірогідних змін коефіцієнтів маси внутрішніх органів, порівняно з контролем, не встановлено (табл.4).

Таблиця 4 – Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 30-ту добу за вивчення хронічної токсичності комплексу нейтральних та кислих олігоцукрів (M±m, n=6)

Внутрішні органи	Доза препарату		
	контроль	1/20 ЛД <sub>50</sub>	1/50 ЛД <sub>50</sub>
Легені	11,6±1,13	8,87±0,46	9,48±1,14
Печінка	34,8±1,87	32,7±3,95	37,8±2,86
Серце	4,8±0,11	4,7±0,35	3,7±0,52
Селезінка	3,9±0,36	3,5±0,35	4,1±0,42
Нирка права	3,9±0,17	3,2±0,31	3,8±0,24
Нирка ліва	3,9±0,16	3,2±0,29	3,9±0,24

Отже, комплекс нейтральних та кислих олігоцукрів при введенні в дозах 1/20 ЛД<sub>50</sub>, та 1/50 ЛД<sub>50</sub> протягом 30 діб суттєво не впливає на функціональний стан внутрішніх органів дослідних тварин.

Таким чином встановлено, що досліджуваний комплекс нейтральних та кислих олігоцукрів пребіотичного спрямування (ПКНКО – інулін, фруктоолігоцукри, ксилоолігоцукри, пектин) належить до препаратів зі слабо вираженими кумулятивними властивостями. Коефіцієнт кумуляції для білих щурів складає 3,7. При проведенні дослідження з вивчення хронічної токсичності вірогідних змін коефіцієнтів маси внутрішніх органів, порівняно з контролем, не встановлено.

**Висновки.** Дослідженнями встановлено, що комплекс нейтральних та кислих олігоцукрів належить до 4-го класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин. Досліджувана композиція олігоцукрів належить до препаратів зі слабо вираженими властивостями до кумуляції.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гужвинська, С. О. Застосування пробіотиків у птахівництві / С. О. Гужвинська // Птахівництво: міжвід. темат. наук. зб – Х., 2003. – Вип. 53. – С. 552-556.
2. Стегній, Б. Т. Застосування пробіотиків у тваринництві / Б. Т. Стегній, С. О. Гужвинська // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 5. – С. 39-41.

3. Hajati H. The Application of Prebiotics in Poultry Production / H. Hajati // International Journal of Poultry Science. – 2010. – Vol. 9, № 3. – P. 298-304.
4. Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин: Методичні рекомендації / М.В. Косенко, О.Г. Малик, І.Я. Коцюмбас та ін. – К., 1997. – 34 с.
5. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / За ред. І. Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.
6. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Л., 1963. – 152 с.
7. Штабский Б.М. К оценке кумулятивных свойств химических веществ по индексу и стандартизованному коэффициенту кумуляции / Б.М. Штабский, Ю.С. Каган // Гигиена и санитария. – 1974. – №3. – С. 65-68.
8. Сидоров К.К. О некоторых методах количественной оценки кумулятивного эффекта. Токсикология новых промышленных химических веществ. – Л.: Медицина, 1967. – Вып. 9. – С. 19-27.

**Исследование токсичности пробиотической композиции олигосахаридов**

**В.С. Битюцкий, А.Н. Мельниченко, Ю.Н. Шадура, Д.Д. Маляр, Я.В. Соломонюк**

Изучено в условиях острого опыта параметры токсичности пробиотической композиции олигосахаридов растительного происхождения: степень токсичности (величины токсических доз); ориентировочные дозы (концентрации) для проведения хронического опыта. Исследованиями установлено, что комплекс нейтральных и кислых олигосахаридов относится к 4-му классу токсичности, то есть к малотоксичным веществам. Исследуемая композиция олигосахаридов относится к препаратам со слабо выраженными свойствами к кумуляции.

**Ключевые слова:** пробиотики, олигосахариды, острая токсичность, кумулятивные свойства.

**Toxicity prebiotic compositions oligosaccharides**

**V. Bityutsky, A. Melnichenko, J. Shadura, D. Malyar, Y. Solomonyuk**

A study in acute toxicity parameters experience prebiotic oligosaccharides composition of plant origin: toxicity (the toxic dose) the estimated dose (concentration) for chronic experience. Research has shown that a complex of neutral and acidic oligosaccharide refers to a class 4 toxicity, that is, the low-toxic substances. Studied composition oligosaccharide refers to drugs with mild properties to cumulation.

**Keywords:** probiotics, oligosaccharides, acute toxicity, cumulative properties.