

УДК 619:616.576.8:636.084.7:636.5

ТУРКО Я. І., аспірант
2008pik@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького

УШКАЛОВ В. О., д-р вет. наук, чл.-кор. НААН
Національний університет біоресурсів і природокористування України

СТАН АНТИОКИСНОГО ЗАХИСТУ ЗА ВИКОРИСТАННЯ НАНОКОБАЛЬТУ І ПРОБІОТИКІВ В ГОДІВЛІ КУРЕЙ

Досліджено вплив наночасток Кобальту та пробіотику на основі асоціації мікроорганізмів роду *Lactobacillus* на процеси перекисного окиснення ліпідів у курей.

Задавання пробіотику разом з добавками Кобальту у макро- і нанодисперсній формах, особливо у надвисокій дозі (0,8 мг/кг маси тіла), сприяло утриманню інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів на фізіологічному рівні впродовж всього експерименту завдяки використанню власних антиоксидантних ресурсів у організмі дослідної птиці, що є прикладом втручання адаптаційно-компенсаторних реакцій.

Потенціалу власних ресурсів антиокиснювальної системи організму птиці виявилось достатньо за умов впливу пробіотику разом із добавками Кобальту у різних дисперсних формах і дозах для запобігання надлишковому утворенню токсичних продуктів ліпопероксидації та відповідного включення протективних антиоксидантних механізмів.

Ключові слова: наночастки Кобальту, пробіотик, плазма крові, антиокиснювальна система, кури.

Постановка проблеми. Сучасне птахівництво неможливо уявити без застосування продукції, що відповідає найвищим вимогам якості. Зважаючи на велику чисельність поголів'я птахів на птахофабриках, навіть незначне зростання якісних показників птиці суттєво впливає на економічні показники підприємств, що спеціалізуються на птахівництві. Тому впровадження технологічних корецій, застосовуючи пробіотики, імуномодулятори, ферменти, підкислювачі, мікроелементи тощо, є актуальним і дає можливість збільшити збереженість поголів'я, природи та якість продукції.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Однією із ланок наукових досліджень в галузі птахівництва є корекція метаболічних процесів, зокрема, функціонування антиокиснювальної системи, основним завданням якої є знешкодження вільних радикалів ще до моменту реалізації їх руйнівної дії на організм та зменшення кількості вільних радикалів до мінімально можливого рівня [1, 8]. Потрібно враховувати, що за відносно невеликих кількостей активних метаболітів кисню буде спостерігатися вплив на експресію генів, метаболічні та біосинтетичні процеси [4, 12]. Відомо, що у разі порушення цього процесу цитоплазматична мембрана ушкоджується у першу чергу, оскільки вона слугує бар'єром між поза- та внутрішньоклітинним оточенням, що забезпечує селективний транспорт речовин [11]. Активні метаболіти кисню, утворені в клітині, у великих концентраціях можуть модифікувати макромолекули та приводити до деструктивних змін їх важливих компонентів – білків і ліпідів мембран [12].

Корегуючими в цьому плані можуть бути пробіотичні мікроорганізми, що нормалізують бактеріальний склад шлунково-кишкового каналу, мають здатність відновлювати і покращувати процеси травлення, засвоєння поживних речовин, перебіг метаболічних процесів у організмі й підвищувати його імунологічну резистентність [2, 9]; та мікроелемент кобальт, що стимулює еритропоез, покращує засвоєння заліза, активує кобальтозалежні ферменти – лужну фосфатазу, карбоангідразу, альдолазу, входить до складу вітаміну В₁₂, сприяє кращому засвоєнню вітамінів А, Е, С, покращує синтез білків, активує імунобіологічну реактивність організму, підвищує продуктивність птиці [7, 10].

Мета роботи – дослідити вплив наночасток Кобальту та пробіотику на основі асоціації мікроорганізмів роду *Lactobacillus* на процеси перекисного окиснення ліпідів у курей.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведені на 50 курях кросу *Хайсекс браун* м'ясо-яєчного напрямку продуктивності, які перед дослідом за принципом аналогів розподілили на п'ять груп, а саме:

- кури контрольної групи отримували комбікорм основного раціону;
- кури I дослідної групи отримували комбікорм основного раціону та з водою пробіотик на основі асоціації мікроорганізмів роду *Lactobacillus* (1,0 см³/дм³);

- кури II дослідної групи отримували комбікорм основного раціону, пробіотик та до комбікорму додавали кобальту хлорид у дозі 0,08 мг/кг маси тіла (1,0 мг/кг корму) (в перерахунку на метал);

- курям III дослідної групи у комбікорм основного раціону додавали наночастки Кобальту (НчСо) у дозі 0,08 мг/кг маси тіла (1,0 мг/кг корму) та пробіотик;

- птиці IV дослідної групи до комбікорму додавали НчСо у дозі 0,8 мг/кг маси тіла (10,0 мг/кг корму) та пробіотик.

У роботі використовували дослідний зразок наночасток Кобальту (НчСо) середнього розміру (~100,0±10,0 нм).

Відбір проб крові проводили до задоволення препаратів (n=5) по одній птиці з кожної групи, через 14, 28 діб після початку та через 14 діб після закінчення задоволення препаратів (n=3).

Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) досліджували за визначенням у плазмі крові рівня утворення його продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) – у гептан-ізопропанольних екстрактах за методикою Гаврилової В. Б. і Мішко-рудної М. І. [3].

Стан антиокиснювальної системи (АОС) в організмі курей оцінювали за визначенням активності каталази (КФ 1.11.1.6) з використанням H₂O₂ спектрофотометрично за довжини хвилі 410 нм та рівня показника загальної АОА ліпідів, як описано в роботах Королюка М. О. і Клебанова Г. І. [5, 6].

Результати досліджень обробляли статистично з використанням пакету програм Microsoft Excel 2003 (for Windows XP), вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента.

Основні результати дослідження. Дослідженнями встановлено, що тривале задоволення пробіотику та пробіотику разом з добавкою НчСо у обох дозах не викликало вірогідних змін у інтенсивності процесів ПОЛ за рівнем утворення його продуктів у плазмі крові дослідних курей. Так, з результатів, наведених у таблиці 1, видно, що рівень продуктів ліпопероксидації – МДА і ДК у плазмі крові курей I–IV дослідних груп вірогідно не змінювався відносно контрольних значень даних показників.

Таблиця 1 – Рівень інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів у плазмі крові курей-несучок за умов впливу добавок Кобальту та пробіотику у динаміці 42 діб (M±m; n=3)

№ п/п, група тварин	Термін дослідження	Інтенсивність ПОЛ, продукти	
		ДК, мкмоль/дм ³	МДА, ΔД
Контроль	I	26,06±1,23	5,92±0,42
	II	24,88±2,32	6,00±0,37
	III	25,58±1,18	6,22±0,60
	IV	27,26±2,06	5,98±0,25
I дослід	I	24,92±2,16	5,86±0,26
	II	25,68±2,40	6,23±0,48
	III	24,74±1,42	6,18±0,42
	IV	23,82±1,24	6,78±1,80
II дослід	I	24,88±2,05	6,04±0,86
	II	25,05±2,12	5,96±0,53
	III	23,76±1,84	6,24±0,82
	IV	26,20±4,02	6,03±0,48
III дослід	I	25,12±1,60	6,12±0,24
	II	24,64±3,18	6,06±0,38
	III	23,92±3,55	6,02±0,42
	IV	26,64±3,06	5,97±0,51
IV дослід	I	24,74±2,18	6,14±0,82
	II	25,15±1,78	5,96±0,57
	III	26,06±1,82	6,02±0,52
	IV	25,18±4,02	6,04±0,62

Надлишкове утворення мембран-альтеруючих токсичних продуктів ПОЛ відображає зрушення збалансування ферментативної та неферментативної ланок АОС, якій відводиться ви-

значальна регуляторна та прогностична роль в захисті мембран клітин. Так, було досліджено рівень показників, що характеризують стан ферментативної ланки та загальної АОА у організмі експериментальних курей-несучок (табл. 2).

Таблиця 2 – Рівень показників функціональності антиокиснювальної системи у плазмі крові курей-несучок за умов впливу добавок Кобальту та пробіотику у динаміці 42 діб (M±m; n=3)

№ п/п, група тварин	Термін дослідження			
	I	II	III	IV
Активність каталази, нмоль H ₂ O ₂ /сек мг білка				
Контроль	35,28±1,92	34,90±3,33	35,19±2,62	38,20±1,66
I дослід		35,48±2,52	36,07±2,05	36,84±3,54
II дослід		35,30±1,75	37,00±3,00	38,14±2,77
III дослід		33,96±3,64	35,50±3,48	37,80±2,85
IV дослід		43,60±2,20	37,55±3,25	38,20±1,45
Загальна АОА, % інгібіції				
Контроль	58,8±2,5	59,6±4,2	61,0±3,8	60,3±4,8
I дослід		50,2±3,1	59,7±2,2	58,4±5,0
II дослід		52,6±5,4	56,7±5,3	60,0±3,2
III дослід		58,8±3,4	58,0±4,4	59,8±3,5
IV дослід		51,4±1,8	56,2±6,7	59,0±5,6

Дослідженнями встановлено, що внаслідок аліментарного потрапляння препаратів пробіотику та Кобальту різних дисперсних форм у дозі 0,08 мг/кг маси тіла (III дослід) у плазмі крові курей не реєстрували суттєвих змін активності каталази відносно її контрольного рівня впродовж всього експерименту.

Тоді як під впливом сумісного задавання пробіотику з добавкою НчСо у більшій дозі (0,80 мг/кг маси тіла) відбувалось вірогідне зростання активності каталази на 14-ту добу після початку експерименту, що складало у середньому 24,9 % відносно її контрольного рівня. Вже на 28-му добу після початку застосування препаратів спостерігали лише тенденцію до підвищення активності цього ферменту, а у подальшому – нормалізацію значень її активності до контрольного рівня.

Зміни рівня показника стану наповнення природного пулу антиоксидантних ресурсів за рівнем показника загальної АОА у організмі дослідних курей були більш вираженими під впливом препаратів.

Так, реєстрували витрачання антиоксидантних ресурсів у організмі курей I, II і IV дослідних груп через 14 діб після початку задавання препаратів, а зниження рівня показника загальної АОА у плазмі крові птиці складало у середньому 15,8, 11,7 і 13,8 % (p≤0,05) відносно його значення у контролі. Через 28 діб після початку задавання препаратів спостерігали лише тенденцію до зниження показника загальної АОА тільки в крові курей II і IV дослідних груп, значення якого наближались до контрольних (фізіологічних) наприкінці експерименту (через 14 діб після припинення задавання препаратів).

Висновки. 1. Задавання пробіотику разом з добавками Кобальту у макро- і нанодисперсній формах, особливо у надвисокій дозі, сприяло утриманню інтенсивності процесів ПОЛ на фізіологічному рівні впродовж всього експерименту завдяки використанню власних (природних) антиоксидантних ресурсів у організмі дослідної птиці, що є прикладом втручання адаптаційно-компенсаторних реакцій.

2. Потенціалу власних ресурсів АОС організму курей виявилось достатньо за умов впливу пробіотику разом із добавками Кобальту у різних дисперсних формах і дозах для запобігання надлишковому утворенню токсичних продуктів ліпопероксидації та відповідного включення протективних антиоксидантних механізмів.

Перспективою подальших досліджень буде вивчення мікробіоценозів кишечника птиці за вказаних умов.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, Ю. І. Губський [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 3. – С. 24–30.
2. Бойко Н. Безпека кормів: біотехнологічні рішення / Н. Бойко, А. Карганян, А. Петенко // Пропозиція. – 2008. – № 2. – С. 124–136.

3. Гаврилова В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилова, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1985. – № 3. – С. 33–35.
4. Zenkov N. A. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспект / Н. А. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньшикова. – М.: Маик, 2001. – 343 с.
5. Корольюк М. А. Определение активности каталаз / М. А. Корольюк // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
6. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопропротеидов / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59–62.
7. Нетухайло Л. Г. Водно-солевой обмін / Л. Г. Нетухайло, В. Л. Філатова, О. В. Філатова // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 2, т. 1 (92). – С. 7–10.
8. Оксидативний стрес у патогенезі вазотоксичної дії свинцю / О. Л. Апіхтіна, А. В. Коцюрба, Ю. П. Коркач [та ін.] // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2011. – № 2. – С. 19–21.
9. Панин А. Н. Пробиотики в животноводстве – состояние и перспективы / А. Н. Панин, Н. И. Малик, О. С. Илаев // Ветеринария. – 2012. – № 3. – С. 3–8.
10. Патрєва Л. С. Технологія виробництва продукції птахівництва / Л. С. Патрєва, О. А. Коваль. – Миколаїв: МДАУ, 2008. – 281 с.
11. Ajayan P. M. Drug delivery and biomolekular transport / P. M. Ajayan, O. Z. Zhou // Carbon. – 2005. – Vol. 43. – P. 389–415.
12. Role of oxidative damage in toxicity of particulates / P. Moller, N. R. Jacobsen, Janne K. Folkmann [et al.] // Free Radical Research. – 2010. – Vol. 44, iss. 1. – P. 1–46.

REFERENCES

1. Antyoksydantna systema zahystu organizmu / I. F. Bjelenichev, Je. L. Levyc'kyj, Ju. I. Gubs'kyj [ta in.] // Sovremennye problemy toksikologii. – 2002. – № 3. – С. 24–30.
2. Bojko N. Bezpeka kormiv: biotehnologichni rishennja / N. Bojko, A. Karganjan, A. Petenko // Propozycja. – 2008. – № 2. – С. 124–136.
3. Gavrilova V. B. Spektrofotometricheskoe opredelenie soderzhaniya gidroperekisej lipidov v plazme krovi / V. B. Gavrilova, M. I. Mishkorudnaja // Lab. delo. – 1985. – № 3. – С. 33–35.
4. Zenkov N. A. Okislitel'nyj stress: biokhimicheskij i patofiziologicheskij aspekt / N. A. Zenkov, V. Z. Lankin, E. B. Men'shikova. – М.: Маик, 2001. – 343 с.
5. Koroljuk M. A. Opredelenie aktivnosti katalaz / M. A. Koroljuk // Lab. delo. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
6. Ocenka antiokislitel'noj aktivnosti plazmy krovi s primeneniem zheltochnyh lipoproteidov / G. I. Klebanov, I. V. Babenkova, Ju. O. Teselkin [i dr.] // Lab. delo. – 1988. – № 5. – С. 59–62.
7. Netjuhajlo L. G. Vodno-sol'ovyj obmin / L. G. Netjuhajlo, V. L. Filatova, O. V. Filatova // Visnyk problem biologii i medycyny. – 2012. – Vyp. 2, t. 1 (92). – С. 7–10.
8. Oksydatyvnyj stres u patogenezi vazotoksychnoi' dii' svyncju / O. L. Apyhtina, A. V. Kocjuruba, Ju. P. Korkach [ta in.] // Zdobutky klinichnoi' i eksperymental'noi' medycyny. – 2011. – № 2. – С. 19–21.
9. Panin A. N. Probiotiki v zhivotnovodstve – sostojanie i perspektivy / A. N. Panin, N. I. Malik, O. S. Iljev // Veterinarija. – 2012. – № 3. – С. 3–8.
10. Patrjeva L. S. Tehnologija vyrobnyctva produkcii' pthivnyctva / L. S. Patrjeva, O. A. Koval'. – Mykolai'v: MDAU, 2008. – 281 s.
11. Ajayan P. M. Drug delivery and biomolekular transport / P. M. Ajayan, O. Z. Zhou // Carbon. – 2005. – Vol. 43. – P. 389–415.
12. Role of oxidative damage in toxicity of particulates / P. Moller, N. R. Jacobsen, Janne K. Folkmann [et al.] // Free Radical Research. – 2010. – Vol. 44, iss. 1. – P. 1–46.

Состояние антиокислительной защиты при использовании нанокобальта и пробиотиков в кормлении кур Я. И. Турко, В. А. Ушкалов

Исследовано влияние наночастиц Кобальта и пробиотика на основе ассоциации микроорганизмов рода *Lactobacillus* на процессы перекисного окисления липидов у кур.

Использование пробиотика вместе с добавками Кобальта в макро- и нанодисперсных формах, особенно в сверхвысокой дозе (0,8 мг/кг массы тела), способствовало удержанию интенсивности процессов перекисного окисления липидов на физиологическом уровне в течение всего эксперимента благодаря использованию собственных антиоксидантных ресурсов в организме исследуемой птицы, что является примером вмешательства адаптационно-компенсаторных реакций.

Потенциала собственных ресурсов антиокислительной системы организма птицы оказалось достаточно в условиях воздействия пробиотика вместе с добавками Кобальта в различных дисперсных формах и дозах для предотвращения избыточного образования токсических продуктов липопероксидации и соответствующего включения протективных антиоксидантных механизмов.

Ключевые слова: наночастицы Кобальта, пробиотик, плазма крови, антиокислительная система, куры.

State of antioxidation defense by nanocobalt and probiotic using in chickens feeding

Ya. Turko, V. Ushkalov

In this work it was searched the influence of nanoparticles of cobalt and probiotic on the basis of genus *Lactobacillus* association on lipid peroxidation in chickens.

The research was carried out on 50 hens of cross Highsex Brown of meat and egg productivity direction, which are divided into five groups, namely: hens from the control group were fed with basic ration; chickens from the first search group

were given mixed fodder of the basic ration and probiotic on the basis of association of microorganisms of genus *Lactobacillus*; the chickens of the second experimental group were getting the basic mixed fodder, probiotic and cobalt chloride was added to the mixed fodder at a dose of 0.08 mg/kg; cobalt nanoparticles (NpCo) at a dose of 0.08 mg/kg of body weight and probiotic were added into the mixed fodder to chickens from the third search group, NpCo at a dose of 0.8 mg/kg of body weight and probiotic were added into the mixed fodder to chickens from the fourth search group.

In the work it was used the prototype of cobalt nanoparticles of average size ($\sim 100.0 \pm 10.0$ nm).

Blood sampling was carried before setting the preparations (n=5), one poultry of each group, in 14, 28 days after the beginning and in 14 days after setting the drugs (n=3).

The intensity of lipid peroxidation (LPO) processes was investigated by determining the level of formation of its products in plasma – diene conjugates (DC) and malondialdehyde (MDA), the state of antioxidant system (AOS) in the body of chickens was evaluated by determining the activity of catalase and total rate of AOA of lipids.

Research has established, that continued giving of probiotics and probiotics together with the addition of cobalt nanoparticles at both doses did not cause any significant alteration in the intensity of lipid peroxidation by the level of formation of its products in the blood plasma of research chickens.

It was also established, that because of alimentary probiotic preparations entering and cobalt of various dispersed forms at a dose of 0.08 mg/kg of body weight in the blood plasma of chickens did not register any significant changes of catalase activity relative to its control level throughout the experiment.

While under the influence of probiotic compatible setting with the addition of cobalt nanoparticles in greater dose (0.80 mg/kg of body weight) there was a significant increase of catalase activity on the 14th day after the beginning of the experiment, that is an average of 24.9 % relative to its control level. Already on the 28th day after starting the drug it was observed only tends to increase the activity of this enzyme and in the future – normalization of the values of its activity to control levels.

Changes in indicator of state filling with natural pool of antioxidant resources by the level of indicator due to the total oxidative activity in the body of research chickens were more severe under the influence of drugs.

Probiotics setting together with the addition of cobalt in macro and nanodispersed forms, especially at high dose (0.8 mg/kg body weight), contributed to the maintenance of intensity of lipid peroxidation at a physiological level throughout the experiment thanks to their antioxidant resources in the organism of search poultry, which is an example of interference of adaptive-compensatory reactions.

Potential of the poultry's own resources AOC was enough under conditions of the probiotics influence together with additives of cobalt in various dispersed forms and doses to prevent excessive formation of toxic products of lipid peroxidation and corresponding inclusion of projective antioxidant mechanisms.

Key words: cobalt nanoparticles, probiotic, blood plasma, antioxidant system, chickens.

Надійшла 20.05.2016 р.