

ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОГО ФІТОПРЕПАРАТУ НА АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС ТА ЛІПІДНИЙ СКЛАД ТКАНИН ЯПОНСЬКИХ ПЕРЕПЕЛІВ

Я. М. Сірко, В. О. Кисців, А. В. Гунчак, Б. Б. Лісна

Інститут біології тварин НААН

У статті наведені дані про вміст продуктів ПОЛ, активність антиоксидантних ферментів та концентрацію вітамінів А і Е у печінці, жовтках яєць та крові при застосуванні фітопрепарату. Застосування фітопрепарату сприяло підвищенню глутатіонпероксидазної та катклазної активності у крові за одночасного зменшення вмісту ТБК-активних продуктів. Встановлено збільшення кількості вітаміну А і каротиноїдів у жовтках яєць. При вигоюванні фітопрепаратів спостерігалось підвищення концентрації фосфоліпідів та зменшення рівня етерифікованого холестеролу і вільних жирних кислот у тканинах печінки за одночасного підвищення вмісту вільних жирних кислот у жовтку яєць обох дослідних груп.

Ключові слова: ПЕРЕПЕЛИ, ФІТОПРЕПАРАТ, АНТИОКСИДАНТНІ ФЕРМЕНТИ, ПРОДУКТИ ПОЛ, ЛІПІДИ

Велика кількість препаратів, які використовуються у птахівництві з метою стимуляції обмінних процесів, антиоксидантного, вітамінного, імунного статусу організму - хімічного походження. Деякі з них відзначаються побічними ефектами та певною токсичністю, а також вимагають тривалої каренції. Крім того, в Україні забороняється використовувати у годівлі тварин і птиці біологічні стимулятори, антибіотики, гормональні препарати та інші субстанції, що пригнічують або надмірно стимулюють функцію залоз внутрішньої секреції, зокрема мають тиреостатичну, естрогенну, андрогенну, бета-агоністичну та гестагенну дію.

У сучасному промисловому птахівництві відзначена тенденція до скорочення використання антибіотиків в якості як лікувального препарату, так і засобу підвищення продуктивності. У зв'язку з цим, в останні роки у птахівництві широко застосовують біогенні рослинні добавки, в тому числі і фітопрепарати. Фітопрепарати є натуральними продуктами, які за хімічним складом відповідають тканинам організму тварин, а тому легко перетравлюються, абсорбуються і засвоюються організмом, внаслідок чого забезпечується відповідний біологічний ефект. Речовини, що входять до їх складу – це природні біологічно активні складові, які стимулюють метаболічні процеси в організмі птахів, внаслідок чого підвищується їх продуктивність і покращується якість продукції. Натуральні компоненти, що містяться у фітопрепаратах, проявляють антиоксидантні і імуностимулюючі властивості на організм птахів і в меншій мірі викликають побічні ефекти. Пріоритет їх застосування зумовлений також невисокою вартістю і можливістю отримання екологічно безпечної продукції [1–4].

У численних працях досить детально описані антимікробний, противірусний, фунгіцидний, антиоксидантний і інші ефекти біологічно активних речовин рослинного походження *in vitro*. В той же час, зростає кількість досліджень, присвячених дії цих речовин на шлунково-кишковий тракт в умовах *in vivo*. Добавки рослинного походження впливають на склад мікрофлори, морфологічні параметри кишківника, перистальтику, активність травних ферментів, а також на продуктивні якості тварин [5, 6].

Листя евкалипту володіє антисептичною, протизапальною і заспокійливу дію. Для них характерна антибактеріальна активність стосовно антибіотикостійких мікроорганізмів, у зв'язку з чим їх застосовують у ветеринарії при лікуванні ряду захворювань у птиці [7].

Окремі дослідження свідчать про позитивний вплив додавання евкалипту до раціону птиці. Зокрема, додавання евкалипту до раціону курей-несучок покращувало їх продуктивність та позитивно впливало на стан їх імунної системи [8]. При додаванні евкалипту до раціону курчат-бройлерів виявили його ріст-стимулюючий ефект та підвищення ефективності засвоєння кормів [9].

Поодинокі дослідження, проведені на птиці, показали, що додавання до корму птиці препаратів кропиви у вигляді екстрактів або сухого порошку позитивно впливають на продуктивність. У той же час, досліджень, які б стосувалися вивчення впливу препаратів кропиви на різні сторони обміну речовин відсутні. У доступній нам літературі ми не зустрічали даних щодо можливості використання препаратів кропиви в годівлі перепілок, зокрема, невідомі дози добавок різних форм препаратів кропиви дводомної до раціону цього виду птахів, а також їх вплив на обмінні процеси, продуктивність та якість отримуваної продукції. Саме ці питання і були предметом наших досліджень.

Враховуючи дані літератури про хімічний склад фітопрепарату який нами був застосований ми поставили мету - вивчити його вплив на стан системи антиоксидантного захисту, що забезпечує природний захист клітин організму птиці, а також продуктивність.

Матеріали і методи

Дослідження проводились в умовах віварію інституту біології тварин НААН України на трьох групах статевозрілих перепелів (контрольна і дві дослідні) протягом трьох місяців. Утримання перепелів відповідало існуючим технологічним нормам. Вся птиця отримувала стандартний повнораціонний комбікорм. Перепелам першої дослідної групи впоювали з водою фітопрепарат евкаліпту, а другої дослідної групи – комплексний фітопрепарат евкаліпту і кропиви. У кінці досліду проводили забій птиці (по десять голів з кожної групи) і відбирали біологічний матеріал для біохімічних досліджень.

У тканинах визначали вміст гідроперекисів ліпідів за методом В. В. Мирончика, малонового діальдегіду за методом В. П. Мартинюка, відновленого глутатіону, активність каталази КФ 1.11.1.6 за методом Корольок М. А., глутатіонпероксидази КФ 1.11.1.9 за методом В. М. Моїна [10]. У печінці та жовтках яєць визначали вміст загальних ліпідів ваговим методом після екстракції їх сумішшю хлороформ-метанол 2:1 за методом Фолча [11]. Загальні ліпіди розділяли на класи шляхом одномоірної тонкошарової хроматографії на силікагелі у системі гексан-діетиловий ефір-льодяна оцтова кислота у відношенні 70:30:1 з наступним визначенням їх кількості біхроматним методом [12]. Цифрові дані опрацьовували статистично.

Результати й обговорення

Наші дослідження показали, що використання в раціоні перепелів комплексного фітопрепарату позитивно впливає на стан САЗ (система антиоксидантного захисту). Встановлено, що в крові перепелів дослідної групи збільшилася активність каталази в 1,47 раза ($P < 0,01$) і глутатіонпероксидази в 1,13 раза ($P < 0,05$), у порівнянні з птицею контрольної групи (табл. 1). Як відомо, ферменти містяться в клітині, а їх активність у плазмі зумовлена виходом ферментних білків під час руйнування клітин крові при їх оновленні.

Підвищення каталітичної активності глутатіонпероксидази в еритроцитах крові перепелів дослідної групи можна пояснити підвищенням інтенсивності синтезу в них ферменту, внаслідок збільшення вмісту біологічно-активних речовин (вітамінів С, Е та каротиноїдів), які містяться в препараті. Активність глутатіонпероксидази в клітині тісно пов'язана з регенерацією глутатіону. Відновлений глутатіон разом з глутатіонпероксидазою утворюють глутатіонову систему, яка захищає клітини від пероксидного стресу. Вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові перепелів дослідної групи, у порівнянні з контрольною, був вищий. Ці дані свідчать про стимулюючий вплив фітопрепарату на регенерацію глутатіону в еритроцитах крові перепелів дослідної групи.

Таблиця 1

Вплив фітопрепаратів на активність ферментів САЗ у крові, печінці і жовтку яєць перепелів ($M \pm m, n=5$)

Тканини	Групи		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
<i>Кров</i>			
Каталазна активність, ммоль H_2O_2 /г/с $\times 10^{-7}$	2,31 \pm 0,19	2,67 \pm 0,18	3,41 \pm 0,15**
Глутатіонпероксидазна активність, мкмоль GSH/г/хв.	19,53 \pm 0,63	19,47 \pm 1,13	22,21 \pm 0,71*
Відновлений глутатіон, мкмоль/мл	0,825 \pm 0,03	0,864 \pm 0,09	0,846 \pm 0,11
<i>Печінка</i>			
Каталазна активність, ммоль H_2O_2 /г/с $\times 10^{-7}$	3,66 \pm 0,19	3,34 \pm 0,27	3,63 \pm 0,28
Глутатіонпероксидазна активність, мкмоль GSH/г/хв.	20,33 \pm 1,09	24,70 \pm 1,02*	25,62 \pm 1,05**
Відновлений глутатіон, мкмоль/мл	0,342 \pm 0,02	0,322 \pm 0,08	0,341 \pm 0,09
<i>Жовток</i>			
Каталазна активність, ммоль H_2O_2 /г/с $\times 10^{-7}$	5,72 \pm 0,11	6,47 \pm 0,49	6,93 \pm 0,55
Глутатіонпероксидазна активність, мкмоль GSH/г/хв.	14,17 \pm 0,64	15,56 \pm 0,88	15,74 \pm 1,02
Відновлений глутатіон, мкмоль/мл	0,389 \pm 0,09	0,421 \pm 0,14	0,417 \pm 0,13

Примітка: у таблиці позначена вірогідність різниць в досліджуваних показниках у курей контрольної групи, порівняно до курей дослідної групи: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$.

При дослідженні ферментативної ланки антиоксидантного захисту організму перепелів в тканинах печінки птахів першої і другої дослідних груп активність глутатіонпероксидази зростає, відповідно, на 17,7 % ($P < 0,05$) і 26,01 % ($P < 0,01$), у порівнянні з птицею контрольної групи.

У жовтку яєць птиці, як першої так і другої дослідних груп, спостерігається тенденція до підвищення активності ферментів САЗ. Зростання ферментної активності САЗ у тканинах перепелів можна пояснити, на нашу думку, зменшенням кількості продуктів ПОЛ та збільшенням вмісту вітамінів А і Е та каротиноїдів, які володіють антиоксидантними властивостями, а отже проявляють позитивний вплив на організм птиці.

Впоювання перепілкам препаратів евкаліпту та евкаліпту з кропивою, впливало на вміст каротиноїдів і вітаміну А в жовтках яєць (табл. 2).

У перепілок першої дослідної групи під впливом 2-місячного випоювання евкаліпту збільшувався вміст каротиноїдів в жовтку яєць на 27,2 %, а евкаліпту та кропиви (2 дослідна група) – на 29,6 %. У жовтку яєць перепілок 1 дослідної групи збільшувався вміст вітаміну А на 34,7%, а 2 дослідної групи – на 52,2 %.

Таблиця 2

Вміст каротиноїдів, вітамінів А і Е в жовтку яєць перепілок за дії фітопрепаратів, мкг/г (M±m, n=5)

Показники	Групи		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
<i>Після 2-місячного випоювання</i>			
Каротиноїди	13,5±0,5	17,17±0,67**	17,5±0,76
Вітамін А	5,13±0,29	6,91±0,10***	7,81±0,33***
Вітамін Е	56,24±2,32	56,11±5,23	49,49±5,94
<i>Після 3-місячного випоювання</i>			
Каротиноїди	14,5±0,10	19,5±0,5***	21,00±0,5***
Вітамін А	5,52±0,22	7,33±0,52**	8,42±0,56***
Вітамін Е	52,51±5,69	50,21±3,30	50,50±1,62

Спостерігалось збільшення вмісту вітаміну А і каротиноїдів в жовтку яєць перепілок в період з 2 до 3 місячного випоювання обох фітопрепаратів. Так, через 3 місяці випоювання препарату у перепілок 1-ї дослідної групи вміст каротиноїдів в жовтку яйця збільшився на 34,5 %, а 2 дослідної групи – на 44,8 %. При цьому рівень вітаміну А в жовтку яєць перепілок 1 дослідної групи збільшувався на 32,8 %, а у перепілок 2 дослідної групи – на 52,5 %.

Слід відмітити, що збільшення вмісту вітаміну А і каротиноїдів було більш помітним у перепелів другої дослідної групи, яким випоювали препарат евкаліпту і кропиви протягом трьох місяців, ніж у перепелів першої дослідної групи, яким протягом цього періоду випоювали лише евкаліпт. Ці дані свідчать про синергічну дію кропиви та евкаліпту, які випоювали перепілкам другої дослідної групи.

Загалом, більший вміст каротиноїдів та вітаміну А у плазмі крові, печінці та жовтках яєць перепілок під впливом випоювання фітопрепаратів пояснюються споживанням ними комплексу біологічно активних речовин, у тому числі каротиноїдів та вітамінів з антиоксидантною дією, які входять в склад евкаліпту і кропиви.

З даних таблиці 3 видно, що застосування екстракту евкаліпту істотно не впливало на вміст як гідроперекисів ліпідів, так і ТБК-активних продуктів у досліджуваних тканинах.

Таблиця 3

Вміст гідроперекисів ліпідів та ТБК-активних продуктів у крові, тканинах печінки та жовтку яєць перепілок за дії фітопрепаратів, (M±m, n=5)

Показники	Групи		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
<i>Печінка</i>			
Гідроперекисі ліпідів, од. Е 480 /г	2,86±0,06	2,92±0,04	2,78±0,05
ТБК-активні продукти, мкмоль/г	3,03±0,07	3,33±0,13	2,44±0,05***
<i>Кров</i>			
Гідроперекисі ліпідів, од. Е 480 /мл	1,28±0,02	1,25±0,03	1,14±0,01***
ТБК-активні продукти, мкмоль/мл	0,33±0,01	0,33±0,01	0,29±0,01*
<i>Жовток яєць</i>			
Гідроперекисі ліпідів, од. Е 480 /г	1,50±0,04	1,62±0,04	1,42±0,02
ТБК-активні продукти, мкмоль/г	0,67±0,05	0,62±0,07	0,51±0,04*

При застосуванні екстракту кропиви з евкаліптом було відзначено зниження концентрації ТБК-активних продуктів у плазмі крові, тканинах печінки та жовтках яєць, що очевидно, пов'язано з високим вмістом вітамінів А та Е у даних добавках, які виступають природними антиоксидантами. Слід зауважити, що зменшення рівня продуктів ПОЛ у жовтках яєць позитивно впливає на харчову та біологічну якість одержаної продукції.

У результаті дослідження впливу екстрактів фітопрепаратів встановлено певні зміни вмісту загальних ліпідів та співвідношення їх класів у тканинах печінки та жовтках яєць (табл. 4).

Вміст загальних ліпідів та співвідношення їх класів у тканинах печінки та жовтках яєць перепілок за дії фітопрепаратів, % (M±m, n=5)

Класи ліпідів, %	Групи		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
<i>Печінка</i>			
Загальні ліпіди, г %	7,44±0,48	7,34±0,621	9,46±0,181**
Фосфоліпіди	33,53±0,25	38,96±0,40***	39,31±0,38***
Моно- і диацилгліцероли	7,88±0,19	8,88±0,26*	8,51±0,26
Вільний холестерол	11,16±0,33	10,48±0,39	13,78±0,27***
ВЖК	10,13±0,16	8,20±0,23***	6,82±0,18***
Триацилгліцероли	22,74±0,42	26,08±0,54**	23,66±0,43
Ефіри холестеролу	14,57±0,24	7,41±0,52***	7,92±0,24***
<i>Жовток яєць</i>			
Загальні ліпіди, г %	26,08±0,26	24,40±0,713	24,84±0,476
Фосфоліпіди	22,51±0,52	22,47±0,53	20,84±0,43*
Моно- і диацилгліцероли	8,64±0,25	10,81±0,39**	8,89±0,35
Вільний холестерол	15,43±0,64	12,77±0,36**	14,56±0,51
ВЖК	10,63±0,20	12,53±0,44**	13,75±0,54***
Триацилгліцероли	28,50±0,51	27,88±0,38	28,73±1,06
Ефіри холестеролу	14,28±0,38	13,53±0,12	13,22±0,24*

Так, у печінці перепілок, яким до корму додавали екстракт кропиви та евкалипту підвищувався вміст загальних ліпідів, порівняно з їх вмістом у перепілок контрольної групи, тоді як при додаванні лише екстракту кропиви, кількість загальних ліпідів не зазнавала суттєвих змін.

Під впливом стосованих препаратів відзначено зміни у співвідношенні окремих класів ліпідів у тканинах печінки і жовтках яєць. В результаті досліджень встановлено підвищення концентрації фосфоліпідів відповідно на 5,43 % і 5,78 % та зменшення рівня етерифікованого холестеролу і вільних жирних кислот у тканинах печінки за одночасного підвищення вмісту вільних жирних кислот у жовтку яєць обох дослідних груп, у порівнянні з перепілками контрольної групи.

Це може свідчити про стимулювання використаними препаратами надходження вільних жирних кислот у жовток яйця з метою подальшого їх використання для побудови структурних ліпідів. Крім того, відзначено підвищення відносного вмісту моно- і диацилгліцеролів у тканинах печінки та жовтках яєць у перепілок другої дослідної групи, у порівнянні з контрольною групою. Використання добавки кропиви з евкалиптом викликало збільшення рівня вільного холестеролу на 2,62 % у тканинах печінки перепілок дослідної групи при одночасному зниженні ефірів холестеролу на 1,06 % у жовтку яєць.

Висновки

1. При застосуванні екстракту кропиви з евкалиптом, встановлено, що в крові перепелів збільшувалась активність каталази в 1,47 рази і глутатіонпероксидази в 1,13 рази з одночасним зниженням ТБК-активних продуктів. У тканинах печінки першої і другої дослідних груп активність глутатіонпероксидази зростає, відповідно, на 17,7 % і 26,01 %, у порівнянні з контрольною групою.
2. При застосуванні обох форм фітопрепарату спостерігались зміни щодо вмісту вітаміну А і каротиноїдів в жовтках яєць перепелів дослідних груп. Збільшення рівня вітаміну А і каротиноїдів було більш помітним у перепелів другої дослідної групи, яким випоювали препарат евкалипту і кропиви протягом трьох місяців, ніж у перепелів першої дослідної групи, яким протягом цього періоду випоювали лише евкалипт.
3. При випоюванні фітопрепаратів спостерігалось підвищення концентрації фосфоліпідів та зменшення рівня етерифікованого холестеролу і вільних жирних кислот у тканинах печінки за одночасного підвищення вмісту вільних жирних кислот у жовтку яєць обох дослідних груп.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати стануть основою для подальших досліджень на інших видах птиці з метою дослідження впливу на метаболічні процеси в їх організмі та продуктивні якості птиці.

Ja. M. Sirko, V. O. Kysciv, A. V. Gunchak, B. B. Lisna

PHYTOPREPARATION INFLUENCE ON ANTIOXIDATION STATUS AND LIPID COMPOSITION OF JAPANESE QUAIL'S TISSUES

S u m m a r y

Data about lipid peroxidation products content, antioxidant enzymes activity and vitamins A and E concentration in liver, egg yolk and blood under use of phytopreparation are presented in article. Phytopreparation use caused glutathione peroxidase and catalase activity increase and TBA-reactive substances level decrease in blood of Japanese quails. The increase of vitamin E and carotenoids content in egg yolk was established. Phospholipids level increase and cholesterol esters content and free fatty acids decrease in liver and free fatty acid rise in egg yolk in Japanese quails of both experimental groups under phytopreparation drinking was observed.

Я. Н. Сирко, В. О. Кисцив, А. В. Гунчак, Б. Б. Лесная

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОПРЕПАРАТА НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС И ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ТКАНЕЙ ЯПОНСКИХ ПЕРЕПЕЛОВ

А н н о т а ц и я

В статье приведены данные о содержании продуктов ПОЛ, активность антиоксидантных ферментов и концентрацию витаминов А и Е в печени, желтках яиц и крови при применении фитопрепарата. Применение фитопрепарата способствовало повышению глутатионпероксидазной и каталазной активности в крови при одновременном уменьшении ТБК-активных продуктов. Установлено увеличение количества витамина А и каротиноидов в желтках яиц. При выпаивании фитопрепаратов наблюдалось повышение концентрации фосфолипидов и уменьшение уровня этерифицированного холестерина и свободных жирных кислот в тканях печени при одновременном повышении содержания свободных жирных кислот в желтках яиц обеих исследованных групп.

1. *Demir E.* The use of natural feed additives as alternative to an antibiotic growth promoter in broiler diets / Demir E., Sarica S., Ozcan M., et all // Arch. Geflugelkd. – 2005. – 69. – P. 110–116.
2. *Gill C.* Botanical feed additives/ Feed International / Gill C. – 2004. – April. – P. 14–17.
3. *Jamroz D.* Influence of phytogenic extracts on performance, digestibility and gut microbial status in broiler chickens / Jamroz D., Orda J., Kamel C., et all // Archiv fur Gflugelkunde; 11th European Poultry Conference. Abstracts / 96 (10 September, 2002). – Bremen, 2002. – P. 105.
4. *Витиня И.* Эффективность применения ботанической добавки в хозяйствах биологического направления на физиологическое состояние организма птицы / Витиня И., Крастиня В., Никаловска А. // Птахівництво. – 2007. – 58. – С. 233–238.
5. *Voljč M.* Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition tamara frankič / Voljč M., Salobir J., Vida R. // Acta argiculturae Slovenica. – 2009. – 94/2. – P. 95–102.
6. *Windisch W.* Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry / W. Windisch, K. Schedle, C. Plitzner, et all // J. Anim. Sci. – April, 2008. – Vol. 86, 14.– P. 140–148.
7. *Awaad, M. H. H.* Modulating effect of peppermint and eucalyptus oils in infectious bursal disease immunocompromised chickens / Awaad, M. H. H., Abdel-Alim, G. A., Shaaban, K. S. // Veterinary Medical Journal. – Giza, 2009. – Vol. 57. – 3. – P. 357-375.
8. *Abd El-Motaal A. M.* Productive Performance and Immunocompetence of Commercial Laying Hens Given Diets Supplemented with Eucalyptus / A.M. Abd El - Motaal , A.M.H. Ahmed , A.S.A. Bahakaim and M.M. Fathi // International Journal of Poultry Science. – 2008. – Vol.7 (5). – P. 445-449.
9. *Ahmed M. R. Osman.* Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chicks Fed Di Supplemented with Some Medicinal and Aromatic Plants / A. M. R. Osman, Hala M. Abd El Wahed and M. S. Ragab // International Journal of Poultry Science. – 2008. – Vol.7 (5). – P. 355-362.
10. *Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин* – Львів: ВКП «ВМС», 1998. – 131 с.
11. *Folch J.* A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / Folch J., Lees M., Stoane-Stanley G. H. // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, №1. – P. 497-509.
12. *Стефанік М. Б.* Тонкослойная и газожидкосная хроматография липидов: методические указания // Стефанік М. Б., Скорохид В. И., Елисеєва О. Г. и др. – Львов, 1985. – 27 с.

Рецензент: завідувач сектору інтелектуальної власності та маркетингу інновацій, кандидат біологічних наук, с. н. с. Грабовська О. С.