

## ИЗУЧЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО СООТНОШЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ОДНОКЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ *PARAMECIUM CAUDATUM*

<sup>1</sup>Долгов Е.П., <sup>1</sup>Кузьмина Е.В., <sup>1</sup>Семененко М.П., <sup>1</sup>Василиади О.И.

<sup>1</sup>Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, г. Краснодар, Российская Федерация

**Аннотация.** В статье приведены данные о влиянии кормовой добавки на мембраностабилизирующее действие у инфузорий. Представлены различные комбинации компонентов кормовой добавки и наиболее оптимальное соотношение компонентов, обеспечивающих выраженный стабилизирующий эффект, описаны биологические свойства растительных волокон, усиленных гепатопротекторными и десенсибилизирующими веществами. Установлена биологическая активность кормовой добавки, которая подтверждалась длиной остановочной дозы и целостностью мембраны клеток.

**Ключевые слова.** Кормовая добавка, растительные волокна, фосфолипиды, лецитин, расторопша пятнистая, инфузории.

## STUDY OF THE OPTIMUM RATIO OF COMPONENTS AND THE SPECIFIC ACTIVITY OF THE FEED ADDITIVE ON SINGLE-CELLULAR CULTURES *PARAMECIUM CAUDATUM*

<sup>1</sup>Dolgov E.P., <sup>1</sup>Kuzminova E.V., <sup>1</sup>Semenenko M.P., <sup>1</sup>Vasiliadi O.I.

<sup>1</sup>Krasnodar Scientific Center for Animal Science and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russian Federation

**Annotation.** The article presents data on the effect of feed additives on the membrane-stabilizing effect in ciliates. Various combinations of feed additive components and the most optimal ratio of components providing a pronounced stabilizing effect are presented, the biological properties of plant fibers enhanced with hepatoprotective and desensitizing substances are described. The biological activity of the feed additive was established, which was confirmed by the length of the stopping dose and the integrity of the cell membrane.

**Keywords.** Feed additive, vegetable fibers, phospholipids, lecithin, milk thistle, ciliates.

**Введение.** Прогресс в науке, а также популяризация гуманного отношения к высшим животным привел к принятию международной конвенции по защите животных методов по изучению биологической оценки активности лекарств и кормовых добавок без участия лабораторных животных (морские свинки, кролики, крысы). В настоящее время многие лаборатории перешли к исследованиям экспериментальных образцов на одноклеточных культурах инфузорий (парамеции, стилонихии и др.). Существует ряд преимуществ в исследованиях на простейших, к числу которых можно отнести: низкая стоимость проведения экспериментов, высокая стандартизация и чувствительность объектов исследования, а также короткий срок наблюдения за опытом.

В настоящее время Российский рынок кормовых добавок, предназначенных для лечения и профилактики токсикозов у сельскохозяйственных животных, представлен в основном продукцией зарубежных производителей, при этом доля отечественных добавок незначительна. Нами предложена добавка, которая будет - объединять сорбционный, общий антитоксический и гепатопротекторный эффекты. В состав добавки входят преимущественно природные продукты переработки растительного сырья: жом, лецитин, расторопша пятнистая; а также синтетические компоненты: тиосульфат натрия и урсодезоксихолевая кислота.

Растительные волокна жома способствуют выведению различных чужеродных веществ, за счет сорбционных свойств грубой клетчатки и пектинов. Фосфолипиды лецитина, флаволиганы расторопши и урсодезоксихолевая кислота, обладают выраженными гепатопротекторными свойствами, обеспечивающими восстановление клеточной стенки гепатоцитов, выведение желчи и нормализации обменных процессов в печени, а тиосульфат натрия связывает токсичные комплексы ксенобиотиков и в совокупности с компонентами добавки обеспечивает антиоксидантное и антитоксическое действие

Целью данного исследования являлось установить оптимальное соотношение компонентов кормовой добавки при оценке мембраностабилизирующего действия на фоне интоксикации клеток перекисью водорода.

Для проведения опыта применяли суточную культуру инфузорий, которую культивировали при 24°C на специальной среде, состоящей из дистиллированной воды, жидкости Лозина-Лозинского и пекарских дрожжей.

Опыт осуществляли на 9 моделях с применением 8 комбинаций компонентов кормовой добавки и контроля. В качестве токсиканта, повреждающего липидный слой мембраны клеток, применяли перекись водорода (1%-й раствор). Концентрация и доза повреждающего агента подбирались экспериментально.

В качестве мембраностабилизирующих веществ использовали водные вытяжки с различным соотношением компонентов. Эффективные дозы компонентов были получены на основании токсикологического исследования каждого из компонентов по отдельности, а также на основании литературных данных. В результате проведенных исследований были исследованы композиции с различным соотношением компонентов (г) – растительные волокна: лецитин: расторопша пятнистая: тиосульфат натрия: урсодезоксихолевая кислота. (1 – 60г:20г:10г:9г:1г; 2 –50г:30г:8г:11г:1г; 3–40г:30г:12г:17г:1г; 4–70г:10г:10г:8г:2г; 5–65г:15г:9г:9г:2г; 6 –40г:40г:10г:7г:3г; 7–60г:10г:20г:9г:1г; 8–30г:40г:10г:15г:5г; 9- (контроль) – получал дистиллированную вода, в эквивалентных объемах).

Основными показателями жизнеспособности инфузорий являлись сохранность, двигательная активность, направление движений, целостность мембраны клеток и их форма. Критериями нарушения жизнедеятельности считалось беспорядочное движение или остановка перемещений. В данном исследовании обращали внимание на изменение формы и остановку движения клеток.

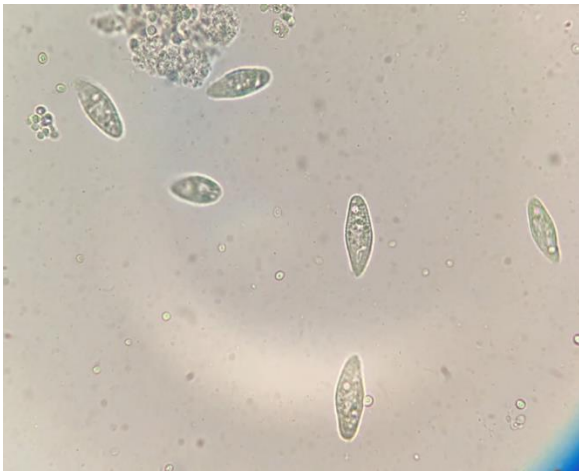
Наблюдение за парameциями проводили под микроскопом «Микромед-3» с видеоокуляром TourCam 10.0 MP. На предметное стекло наносили по 4 капли жидкости содержащей исследуемых инфузорий (в количестве не менее 5 штук) в общем объеме 0,05мл. К исследуемым средам с инфузориями тангенциально сбоку добавляли вытяжки опытных образцов (8 композиций и 9-я дистиллированная вода) в том же количестве 0,05 мл и следили за инфузориями в течение 10 мин. Затем к каждому образцу добавляли токсикант – 1% перекись водорода, 0,05 мл и определяли время остановочной дозы, а также характер изменения формы клеток.

В результате проведенных исследований установлено, что наибольшее сохранение двигательной активности наблюдалось в 1 исследуемом образце (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние соотношения компонентов кормовой добавки на продолжительность двигательной активности *Paramecium caudatum*

Время остановки парameций, мин.	Модель комбинации компонентов
<b>5,26</b>	<b>1– В-60:Л-20:Р-10:Т-9:У-1</b>
4,50	2 –В-50:Л-30:Р-8:Т-11:У-1
4,30	3–В-40:Л-30:Р-12:Т-17:У-1
3,25	4–В-70:Л-10:Р-10:Т-8:У-2
3,35	5–В-65:Л-15:Р-9:Т-9:У-2
2,38	6–В-40:Л-40:Р-10:Т-7:У-3
3,43	7–В-60:Л-10:Р-20:Т-9:У-1
1,54	8–В-30:Л-40:Р-10:Т-15:У-5
1,12	9 (дистиллированная вода)

Под влиянием перекиси водорода происходит повреждение липидного слоя клеток, в результате нарушается проницаемость мембраны клеток, и окружающая инфузорию жидкостная среда проникает внутрь клетки, идет усиленная сократительная активность вакуолей и в конечном итоге полная блокада функциональной активности. В 9 образце, где используется только дистиллированная вода и перекись водорода время остановки инфузорий наступило спустя 1,12 минут, что в 4,7 раза ниже показателей 1 образца, где соотношение компонентов максимально продлило время остановки инфузорий до 5,26 минут. При оценке формы клеток спустя 5 минут в образцах отмечались выраженные морфологические изменения инфузорий (Рис. 1). Инфузории без применения кормовой добавки в 9 образце имели набухшую, округлую форму с выраженным увеличением внутриклеточных вакуолей, местами прослеживалось нарушение целостности мембраны клеток.



Инфузории в 1 образце (с применением кормовой добавки)



Инфузории в 9 образце (без применения кормовой добавки)

Рисунок 1 – Сравнительная оценка формы инфузорий при изучении мембраностабилизирующего действия кормовой добавки (спустя 5 минут)

В 2 и 3 опытном образце двигательная активность инфузорий сохранялась дольше чем в контроле в 4 и 3,5 раза. В 4, 5 и 7 образцах двигательная активность инфузорий сохранялась дольше чем в контроле в среднем в 3 раза. А в 8 образце, время остановки инфузорий отличалось от контроля в 1,4 раза.

Таким образом, наибольшая биологическая активность комбинации компонентов установлена в 1 образце, где соотношение составляет (на 100 г продукта) – растительные волокна жома 60%, лецитин 20%, расторопша пятнистая 10 %, тиосульфат натрия 9%, урсодезоксихолевая кислота 1 %.

#### Список использованных источников

1. Бугаенко, И.Ф. Общая технология отрасли: Научные основы технологии сахара: Учебник для студентов вузов / И.Ф. Бугаенко, В.И. Тужилкин. – Ч.1 – СПб.: ГИОРД. – 2007 –512 с.
2. Викторова Е.П. Исследование функциональных и технологических свойств пищевых добавок из вторичных растительных ресурсов для создания продуктов здорового питания / Е.П. Викторова, Т.А. Шахрай, Н.Н. Корнен, М.В. Лукьяненко // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2018. – Т. 14. – С. 201-209
3. Долгов Е.П. Оценка мембраностабилизирующего действия кормовой добавки из вторичных растительных ресурсов на культуре *ragamesium caudatum* / Е.П. Долгов, Е.В. Кузьминова, Н.Н. Забашта // Материалы V Международной научно-практической конференции, посвященной 25-летию образования Майкопского государственного технологического университета. – 2018. – С. 166-169.
4. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и научной целью (ETS № 123, Страсбург, 18.03.1986). <http://docs.cntd 134>.
5. Тамова М.Ю., Барашкина Е.В., Журавлев Р.А. Детоксикационные свойства комбинированных пищевых волокон, полученных из вторичного сырья свеклосахарного производства / М.Ю. Тамова, Е.В. Барашкина, Р.А. Журавлев // Известия высших учебных заведений Пищевая технология. – 2019. – № 5-6 (371-372). – С. 107-110.

Исследования выполнены при финансовой поддержке «Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (Фонд содействия инновациям) в рамках научного проекта №17406ГУ/2022.