

2.2 Каротиновмісні препарати при А- гіповітамінозному стані у тварин та шляхи їх усунення

При сучасній інтенсивній технології у тваринництві гіповітамінози є провідним фактором порушення обміну речовин, зниження природної резистентності та імунної реактивності організму. При дефіциті вітамінів відбуваються функціональні зміни в органах та тканинах, що може призвести до розвитку в них патологічних процесів та різних захворювань. На організм тварин та птахів особливо негативно впливає нестача в кормах вітаміну А та його попередника каротину. Дефіцит вітаміну А та каротину в раціонах призводить до народження нежиттєздатного приплоду, гіпотрофії, підвищеного відходу. Ключовою ланкою у профілактиці А-гіповітамінозних станів є введення в раціони тварин біологічно активних речовин, що містять інгредієнти, що мають високу біологічну доступність, антиоксидантні властивості та підвищують природну резистентність організму [184-186]. До них відносяться бета-каротин, хлорофіл, вітамін Е та інші речовини. На тлі збалансованих за поживними та біологічно-активними речовинами раціонів, у молодняку часто зустрічаються А-гіповітамінози, причому додаткове введення різних вітамінних препаратів не призводить до усунення даної патології.

Високу ефективність мають каротинвміщуючі рослинні ресурси, застосування яких коригує А-вітамінне харчування тварин і птахів підвищуючи фактори неспецифічного захисту організму. Пошуки нових форм препаратів, що містять каротин, та мають високу біологічну доступність і фармакологічну ефективність, які могли б замінити дорогі імпорتنі аналоги, є одним з головних напрямів наукових досліджень теперішнього часу.

Мета роботи полягала у розробці нового каротино-хлорофілового препарату на основі рослинної сировини, вивченні її фармакологічних властивостей та лікувально-профілактичної ефективності при А-гіповітамінозі. Оскільки каротин дуже схильний до процесів окислення внаслідок чого його

фізіологічний вплив може падати, необхідно вирішити завдання захисту його від окислення.

Слід зазначити, що деякі рослинні продукти накопичують у собі, поряд з каротином, переважні кількості будь-якого або декілько каротиноїдів (наприклад, лікопін у томатах, кріптоксантин у жовтій кукурудзі та ін.) Кількість різних каротиноїдів, що утворюються в органах рослин, може бути різноманітною і іноді налічує кілька десятків окремих представників. Каротиноїди нині ще далеко не повністю вивчені. Більш-менш точні дані про будову та властивості відомі лише для основних пігментів цієї групи. Дані таблиці 1 свідчать про вплив вмісту вітаміну Е (токоферол) у оліях на біологічну цінність розчиненого в них каротину.

Таблиця 1

Біологічна активність каротину в залежності від присутності токоферолу

Масло	Вміст токоферолу в мг%	Біологічна цінність
Оливкове рафіноване.....	0,08	44
Кокосове нерафіноване.....	0,03	45
Сезамове нерафіноване.....	0,05	44
Хлопкове нерафіноване.....	0,92	72
Льняне нерафіноване.....	0,23	61

Крім всіх факторів, на засвоюваність каротину тваринним організмом помітно впливає і ступінь попереднього насичення цього організму провітаміном А, а також і розміри дозування. Ресорбція каротину та вітаміну А в масляних розчинах при різних умовах протікає, приблизно, з однаковим кінцевим ефектом, якщо це стосується помірних дозувань. Однак великі кількості каротину не засвоюються так добре, як вітамін А, особливо це правильно, коли каротин вводиться без жиру або за низької жирової дієти. Швидкість ресорбції каротину та вітаміну А також не однакова, що залежить, мабуть, від величини молекули [187-190]. Біологічна активність каротину, тобто. ступінь здатності його чинити на організм таку ж дію, як і вітамін А, залежить ефективність процесу його засвоєння та нормальної функції конвертуючого апарату. Вітамін А,

ресорбується в кишечнику швидше за каротин і в збільшених дозах досконаліше. До того ж вітамін А як препарат надходить в організм виключно в жировому розчині. Етап конверсії при застосуванні вітаміну повністю відпадає. Каротин може вводитися в організм у найрізноманітнішому вигляді, виходячи з різних джерел. Таким чином А-вітамінна активність каротинових препаратів – функція багатьох змінних факторів.

Авітамінози та гіповітамінози А надзвичайно різноманітні. Вони виражаються у затримці розвитку та зростання організму, падіння у вазі, ураженні шкірних покривів і слизових оболонок і у пов'язаному з цим зниженням опірності інфекційним захворюванням, діяльності статевого апарату, ураженням дихальних шляхів та слизових оболонок носа та гортані та ін. Спочатку каротин та вітамін А вважалися факторами зростання. Відомо, що відсутність в їжі вітаміну А спричиняє припинення зростання молодих тварин і падіння їх ваги. Однак подібні явища спостерігаються і за відсутності інших вітамінів, деяких мінеральних солей, амінокислот та ін. Виявлена згодом властивість каротину та вітаміну А сприяти стійкості організму проти інфекційних захворювань дало право назвати вітамін А “антиінфекційним” [191-195].

Не слід, вважати, що фізіологічна дія каротину пов'язана тільки з фактом переходу його у вітамін А. У ряді випадків каротин, мабуть, має і с В останні роки знайдено перспективні продуценти каротину серед водоростей, грибів, дріжджів, бактерій та розроблено технології їхнього промислового культивування. Найлегше доступним і практичнішим джерелом залишаються рослини. Каротини та каротиноїди виявлені в листі багатьох рослин, а також у корені моркви, плодах шипшини та ін. а моєї фізіологічну дію. В даний час запропоновані для практичного використання високопродуктивні штами каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodospiridium diobovatum*, встановлено вплив різних факторів на каротиногенез. Іншим перспективним продуцентом каротиноїдів можуть бути мікроводорості роду *Danuliella*, здатні накопичувати в клітинах від 57 до 69% лютеїну, 20% каротину, 11-24% ксантофілів віолосантинового циклу. Водорість *Danuliella salina*, пігменти якої, за деякими

даними, на 90% складаються з каротину, використовується як його джерело, а також для збагачення раціонів тварин каротином. *Spirulina platensis*, що культивується на спеціальних мінеральних середовищах, містить до 1700 мг/кг каротиноїдів. Крім того, перспективним джерелом каротиноїдів є мікрогриби *Blakeslea trispora* [196].

Суттєва властивість каротиноїдів - висока реакційна здатність. Вони дуже чутливі до дії світла, повітря, температури, при цьому каротиноїди руйнуються та утворюються їх окислені похідні. В організмі людини та тварин у процесі антиоксидантного захисту каротиноїди взаємодіють із вільними радикалами також із утворенням продуктів окислення. Частина продуктів, що утворюються в результаті цих процесів, була ідентифікована, проте біологічна активність цих речовин не досліджена. Також було показано, що, піддаючись в організмі людини і тварин дії ферментів діоксигеназ, провітамінні каротиноїди можуть розщеплюватися не тільки по центральному зв'язку з утворенням ретиналю, але й інших подвійних зв'язків з утворенням апо-р-каротиналей. Ферменти, що здійснюють окислювальне розщеплення каротиноїдів, знайдені у цитозолі клітин кишечника, печінки та нирок різних тварин [197-199].

Пошуки нових форм каротинвмісних препаратів, що мають високу біологічну доступність і фармакологічну ефективність, які повною мірою могли б замінити дорогі імпорتنі аналоги, є одним з головних напрямів досліджень теперішнього часу. Виходячи з цього, нами спільно з вченими-хіміками НТУ «ХП» був розроблений новий вітаміновмісний каротино-хлорофіловий препарат, до складу якого увійшли мікробіологічний каротин із мікрогрибу *Blakeslea trispora*, хлорофіл, біофлавоноїдний комплекс кропиви та жиророзчинні вітаміни, який отримав умовну назву полікрап. Необхідно було випробувати препарат в умовах виробництва та ефективність використання препарату як лікувально-профілактичний засіб при гіповітамінозі поросят і курчат, - це оригінальна однорідна композиція, що складається з β -каротину, хлорофілу, біофлавоноїдного комплексу кропиви дводомної та вітамінів А, Д3, Е. У такому поєднанні відзначається синергізм інгредієнтів, висока біологічна

доступність бета-каротину, вітаміну А в організмі тварин, який має лікувально-профілактичну дію при А-гіповітамінозі молодняку свиней та птиці [200-202]. Робота виконувалась у 2004-2011 роках. в умовах лабораторії кафедри біотехнології Харківського зооветеринарної академії (нині біотехнологічний університет) спільно з кафедрою органічного синтезу та нанотехнологій НТУ «ХПІ». В експериментальній частині роботи було використано 30 курчат, 20 курей-несучок, у виробничих дослідках –16 поросят. • Про характер впливу каротинвмісного препарату на організм тварин судили щодо змін білкового, вуглеводного та мінерального обміну, інтенсивності росту та продуктивності тварин. Препарат є сипучою порошкоподібною масою або пастою оранжево-зеленого кольору, специфічного запаху, містить у своєму складі: хлорофіл кропиви – 1,5 мг/г; бета-каротин – 3,3 мг/г; біофлаваноїди кропиви – 0,02 мг/г; вітамін А – 500 МО/г; вітамін Дз – 250 МО/г; вітамін Е – 0,2 мг/г.

Вивчення гепатопротекторних властивостей препарату

Гострий токсичний гепатит вивчали на моделі з щурами. Його викликали внутрішньочеревним введенням білим щурам чотирьохлористого вуглецю на вазеліновому маслі з розрахунку 4,0 мл/кг маси тіла протягом 3-х діб одноразово. При цьому визначали профілактичну та лікувальну дію п Для проведення дослідів було відібрано 4 групи білих безпородних щурів по 10 голів у кожній. Досліджуваний препарат додавали в корм з розрахунку 1 г/кг маси тіла, або у воду з розрахунку 1 мл/л води. Надходження чотирьохлористого вуглецю в організм щурів призводило до розвитку підвищення в сироватці крові AST та ALT, активності лужної фосфатази, зниження загального білка та альбумінів – синдромів ураження печінки (табл. 1-2).

Таблиця 2.
Біохімічні показники крові щурів

Досліджені показники	контроль		дослід	
	1	2	3	4
	позитивний контроль (Вазелинове масло)	негативний контроль 4-х хлористий вуглевод	Препарат + 4-х хлористий вуглевод	карокрап + 4-х хлористий вуглевод
Загальний білок г/л	60,5±1,0	61,6±0,76	63,9±0,86*	61,0±0,87
Мочевина Mmol/L	5,7±0,62	6,9±0,59	6,3±0,74	4,9±0,80
Креатинін Мг/дл	0,4±0,31	0,34±0,29	0,3±0,36	0,3±0,33
Билирубін Мг/дл	2,7±0,54	2,48±0,39	2,45±0,44	2,5±0,42
Холестерин Mmol/L	1,49±0,13	1,2±0,12	1,3±0,15	1,38±0,11
Мочева кислота Мг/дл	4,3	3,1	2,9	3,3

Отримані дані свідчать про посилення процесів перекисного окислення ліпідів та послаблення функціонування антиоксидантної системи організму

Застосування щурам препарату в дозі 1,0 г/кг маси тіла на фоні експериментального токсичного гепатиту чинило виражену гепатопротекторну дію, що виявлялося зменшенням порушень функціонального стану печінки (ферменти переамінування та лужна фосфатаза знаходилися в межах фізіологічної норми та їх значення були достовірно нижчими за показник (на 11,4 та 26,7%, при $p \leq 0,05-0,01$), де щурам вводили чотирихлористий вуглець). Застосування препарату, що містить каротин, практично повністю зупинило розвиток токсичного гепатиту в печінці тварин. Гепатопротекторну ефективність препарату можна пояснити наявністю в ньому антиоксидантів – рослинних біофлавоноїдних комплексів, бета-каротину та вітаміну Е.

Вивчалася можливість застосування препарату у свинарстві, як препарату, що стимулює зростання та продуктивність тварин, що підвищує деякі показники клітинного та гуморального імунітету. Про характер впливу на організм судили за клінічними показниками, змінами білкового, вуглеводного та мінерального обміну, загальної неспецифічної резистентності організму поросят, імунітету та

усунення гіповітамінозу-А. Показники визначали загальноприйнятими методами: кількість загального білка визначали за допомогою рефрактометра, кальцію та неорганічного фосфору методом рентгенофлюоресцентного аналізу [202-204]. Розробка та використання в раціонах поросят нових засобів, що мають високу біологічну доступність і дозволяють усунути проблему А-гіповітамінозу. Для оцінки фармакологічної дії препарату та визначення його оптимальних доз було сформовано 2 групи поросят 30-добового віку, по 10 голів у кожній. Перша група була контрольною. Дослідній групі додатково до раціону протягом 30 днів додавали досліджуваний препарат (табл.2). Після годування поросят у максимальних дозах препарату відзначалося збільшення середньодобових приростів (на 21,0 та 21,6% вище контрольних показників, при $p < 0,05$), що говорить про високу біологічну доступність діючих речовин препарату та насамперед каротину, який під вплив хлорофілу перетворюється на вітамін А в організмі тварин.

Таблиця 3.
Вміст вітаміна А в печінці поросят-молочного віку

Показники	Групи	
	Контроль	Дослід
Вітамін А, $мкг\%$	$8,78 \pm 0,40$	$9,63 \pm 0,49$

Дослідження, проведені з метою визначення оптимальної дози препарату для поросят-молочників, показали, що більш високу біологічну доступність та ростостимулюючий вплив має препарат, який застосовується в дозі 1,0 та 2,0 г/кг маси тіла, проте оптимальною, як економічно вигіднішою, все ж таки слід вважати дозу 1,0 г/кг. Дослідні поросята відрізнялися рухливістю, гарним апетитом, у них не відзначалося клінічних ознакою А-гіповітамінозу. Стан їх шкірного покриву, середньодобові прирости та конверсія корму були кращими, ніж у поросят контрольної групи. Як контроль з каротином застосовували бетавітон табл.4

Таблиця 4.

Вплив карокрапту на деякі показники поросят⁴

Показатели	Групи		
	1-контрольна	2-дослідна	3-дослідна
Застосований препарат	-	карокрап	бетавітон
Вихідні данні			
Фосфор, ммоль/л	2,12±0,23	2,06±0,14	2,09±0,13
Кальцій, ммоль/л	2,34±0,17	2,21±0,25	2,16±0,15
Вітамін А, мкмоль/л	0,69±0,33	0,69±0,27	0,68±0,17
Після застосування препаратів			
Фосфор, ммоль/л	2,19±0,27	1,97±0,29	1,95±0,26
Кальцій, ммоль/л	2,48±0,21	2,78±0,24	2,56±0,19
Вітамін А, мкмоль/л	0,87±0,15	1,64±0,17**	1,04±0,23

Після застосування препарату рівень вітаміну А у печінці поросят дослідної групи достовірно перевищив контрольні показники на 29,8%. Оптимальною добавкою все ж таки слід вважати дозу 1,0 г/кг, оскільки її підвищення вдвічі збільшує витрати корму на приріст, підвищення вдвічі збільшує витрати корму.

Дані про зміну показників крові говорять про високу біологічну доступність діючих речовин препарату і, насамперед, каротину, який, мабуть, під дією хлорофілу більш інтенсивно перетворюється в організмі тварин на вітамін А. вітамін А. Таким чином, проведені дослідження свідчать про гепато-протекторну дію нового препарату. Після застосування середньодобові прирости тварин зросли на 56,0%, тоді як у контрольній групі, на 43,6%. Високий фармакологічний ефект препаратів можна пояснити наявністю у них хлорофілу. Як відомо, у будові молекули хлорофілу та гемоглобіну є подібність [204-207] . Єдина відмінність у тому, що у центрі хелатного комплексу в хлорофілі перебуває атом магнію, а гемоглобіні - залізо. Тому, можна вважати, що хлорофіл здатний якимось чином впливати на кров, східно з гемоглобіном: підвищувати рівень кисню, сприяти підвищенню росту та розвитку тварин.

Встановлено, що оптимальною дозою препарату на основі каротину та кропиви для поросят-від'ємів є 1,0 г/кг маси тіла. Більш висока доза (2,0 г/кг) не мала перед нею переваг щодо приросту маси поросят та насичення їх організму вітаміном А. Низька доза (0,5 г/кг) суттєво поступалася оптимальною за цими показниками.

Захист каротину від окиснення

β -каротин має властивості антиоксиданту, які дозволяють нейтралізувати вільні радикали - реактивні активовані молекули, що утворюються в ході певних нормальних біохімічних реакцій або з екзогенних джерел, – наприклад, таких, як забруднене повітря. β -каротин захищає макромолекули та біомембрани клітин від пошкодження і тим самим забезпечує підвищення резистентності організму до дії вільних радикалів та різноманітних патогенних вірусів. Вільні радикали можуть пошкоджувати ліпіди в клітинних мембранах так само, як і генетичний матеріал у клітинах. Також β -каротин може блокувати атомарний кисень, який утворюється, зокрема, у шкірі під впливом ультрафіолетового опромінення [208-214].

В ряді досліджень на тваринах показано, що додавання β -каротину в їжу підсилює імунні реакції [210-212]. Але сам каротин може окислюватися, втрачаючи при цьому свою фізіологічну функцію тому потребує додавання антиоксидантів. Ми обрали сезамол та сезамін.

З цією метою було вирішено створити купажовану олію для захисту каротину від окиснення. Визначення β -каротину проводили методом з використанням спектрофотометра СФ-46 при довжині хвилі 450 нм, в кварцевих кюветах з товщиною шару 1 см відносно розчинника – етанолу[191]. Була вироблена купажована олія підвищеної харчової цінності (рецептура №2), що збалансована за складом поліненасичених жирних кислот ω -3 та ω -6 груп, що може використовуватися у якості самостійного продукту (салатна олія), а також з метою виготовлення продуктів на її основі. Купажована олія підвищеної харчової цінності має регламентований вміст β -каротину при звичайному рівні її споживання (або споживання продуктів на її основі). В оліях присутній

антиоксидант – токоферол. Визначення токоферолу проводили за методом спектрофотометричного аналізу на спектрофотометрі СФ-46 при $\lambda = 500$ нм [192]. Визначення вмісту фосфоліпідів за допомогою колориметричного методу.

Визначення вмісту мікроелементів - заліза, міді та цинку проводили за допомогою методу рентгено-флуоресцентної спектроскопії.

Метод кількісного визначення сезамолу і сезаміну

Аналіз олій, що містять вільний сезамол, зв'язаний сезамол (сезамолін) і сезамін включає екстракцію вільного сезамолу з олії водним розчином луку, проведення колориметричної реакції з водною сірчаною кислотою у присутності фурфуролу для визначення вільного сезамолу в лужному екстракті і зв'язаного в розчині олії, вимірювання спектру поглинання розчину олії в інтервалі 255-320 нм для визначення змісту сезаміну, що не дає пурпурно забарвленого продукту колориметричної реакції, з вказаними реактивами згідно [189].

Вміст вільного сезамолу в зразку у відсотках (x_1) визначають за формулою:

$$X_1 = \frac{100 \cdot D}{C \cdot d \cdot K_{ст}} \quad (1)$$

де: D – оптична щільність при $\lambda = 518$ нм;

C – концентрація розчину, що досліджується, г/л;

d – товщина шару, см;

$K_{ст}$ – коефіцієнт поглинання продукту колориметричної реакції при $\lambda=518$ нм (при роботі на спектрофотометрах СФ-46 його приймають рівним 160).

Вміст сезаміну в олії у відсотках (x_3) визначають за формулою

$$x_3 = 4,541 K_{288} - 0,953 x_2 - 2,271 (K_{255} + K_{320}) \quad (2.2)$$

де K_{288} , K_{255} і K_{320} – коефіцієнти поглинання аналізованої проби при 288, 255 і 320 нм.

Коефіцієнти поглинання обчислюють за формулою

$$K_\lambda = \frac{D_\lambda}{C \cdot d} \quad , \quad (2.3)$$

де D_λ – оптична щільність при відповідній довжині хвилі;

d – товщина шару, см;

C – концентрація аналізованого розчину, г/л.

Дослідження окислювальної стабільності олій та олійних розчинів β -каротину проводили при різних режимах зберігання:

1) прискореним методом "активного кисню". Метод засновано на окисленні рослинної олії при температурі 85 ± 2 °C у реакторі барботажного типу з постійною швидкістю подачі повітря при перемішуванні. Вимірюючи час у хвилинах і значення пероксидних чисел в $\frac{1}{2}\text{O}$ ммоль/кг, будують залежність зміни пероксидних чисел олії від часу (рисунок 2), по якій графічно визначають період індукції τ .

2) В якості контролю використовували зразок рафінованої дезодорованої соняшникової олії. У процесі зберігання через певні проміжки часу відбирали проби для визначення пероксидного, кислотного та анізидинового чисел за кімнатної температури при вільному доступі світла та повітря (автоокислення).

Окислення олій припиняли, коли пероксидне число досягало значення більше 10 $\frac{1}{2}\text{O}$ ммоль/кг, анізидинове число - більше 4 у.о., кислотне число - більше 3 мгКОН/г.

Для встановлення антиокислювальної активності антиоксидантів рослинних олій розраховували період індукції окислення зразків - час, протягом якого відбувалось значне підвищення концентрації продуктів окислення. Антиокислювальною активністю є сумарний ефект гальмування окислення, обумовлений сукупністю елементарних реакцій ініціювання, подовження і обривання ланцюгів.

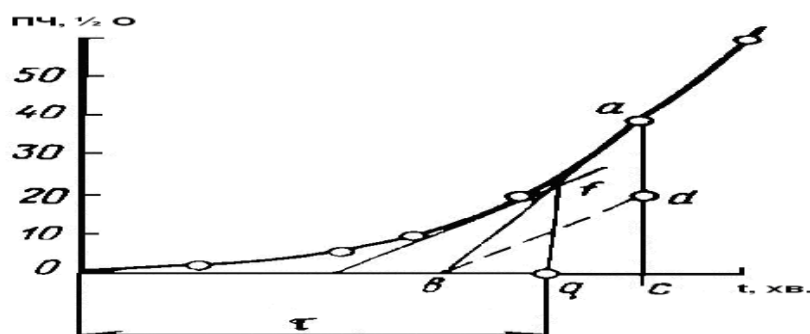


Рисунок 1 - Графічне визначення періоду індукції з кінетичної кривої
окислення

Показником закінчення періоду індукції є вміст пероксидів на рівні 2,5 ½Оммоль/кг (за пероксидним числом), початок накопичення вільних жирних кислот (за кислотним числом) та підвищення концентрації продуктів вторинного окислення (за анізидиновим числом). По встановленому періоду індукції окислення дослідних зразків визначали ефективність антиокислювальної дії антиоксидантів (табл.5).

Таблиця 5 - Зміна природних антиоксидантів у кунжутній олії в процесі прискореного окислення

№ точк и на граф іку	ПЧ, ммоль ½О/кг	Вміст антиоксидантів					
		токоферол		сезамол вільний		сезамін	
		мг%	ступінь втрати, %	%	ступінь втрати, %	%	ступінь втрати, %
1	1,10	84 ± 0,70	–	148±0,001	–	1,10±0,1	–
2	1,60	23 ± 0,30	72,6±0,4	0,0130±0,0005	12,2±3,3	1,00±0,0	9,0±0,9
3	3,12	22 ± 0,10	73,8±0,1	0,0125±0,0002	15,1±1,5	0,99±0,9	10,0±0,9
4	4,18	8 ± 0,10	90,5±0,1	0,02±0,001	83,1±0,1	0,23±0,2	79,1±0,9
5	5,94	2 ± 0,05	97,6±0,1	0,01±0,001	99,3±0,1	0,11±0,1	90,0±0,9

Механізм дії сезамолу та сезаміну, виходячи з їх хімічної структури, полягає в обриві реакційних ланцюгів: молекули антиоксидантів взаємодіють з активними радикалами з утворенням малоактивних радикалів.

На підставі літературного огляду обрано три рослинні олії, що мають низьку здатність до окислення, які увійдуть до складу купажованої олії підвищеного терміну зберігання.

Специфічні антиоксиданти – сезамол (3,4-метилендіоксифенол) та його похідне – сезамін – речовини фенольної природи, що обумовлюють високу стійкість до окислення олії при зберіганні. Крім того, у складі кунжутної олії присутні токоферолі, основним ізомером яких (97%) є стабільний до високих

температур γ -токоферол, по відношенню до якого сезамол та сезамін проявляють синергетичний ефект при гальмуванні окислення олій.

Сезамол (3,4-метилендіоксифенол) – природна органічна сполука фенольної природи. У чистому вигляді він є білою кристалічною речовиною з температурою плавлення 62-65°C, помірно розчинною у воді, змішується з більшістю олій, стабільний в звичайних умовах. Сезамол є антиоксидантом, який при вживанні у їжу в складі продуктів харчування захищає організм від дії вільних радикалів на молекулярному рівні. Продовження терміну придатності харчових рослинних олій, в які додано сезамол кунжуту, підтверджено їх більшою термальною стабільністю.

Суміш рослинних олій із сезамолом має вищий антиоксидантний потенціал, ніж суміш з синтетичними антиоксидантами подібної концентрації (табл.6). Деякі дослідники вважають, що це відбувається за рахунок синергізму між сезамолом та негліцеридними компонентами соняшникової олій (фітостероли).

Сезамін (5,5'-(1S,3R,4S,6R)-тетрагідро-1H,3H-фуоро[3,4-с]фуран-1,4-ди-біс (1,3-бензодіоксол)) включає в себе 4 функціональні ОН-групи, а отже має вищі антиокислювальні властивості у порівнянні з сезамолом, який має дві ОН-групи.

Таблиця 6.

Вміст антиоксидантів і вологи в зразках кунжутної олії

Продукт, що досліджувався	Вміст сезамолу, %		Вміст сезаміну, %	Масова частка вологи та летких речовин %
	вільний	зв'язаний		
Нерафінована кунжутна олія	0,0140±0,0005	0,32±0,01	1,08±0,01	0,14
Рафінована кунжутна олія	0,0103±0,0005	0,17±0,01	0,14±0,01	0,10
нерафінована кунжутна олія, що пройшла фільтрування через бельтінг	0,0148±0,0005	0,30±0,01	1,10±0,01	0,11
Нерафінована кунжутна олія виробництва ООО «Агросельпром»	0,0116±0,0005	0,24±0,01	0,86±0,01	0,22

Оскільки вміст у кунжутній олії антиоксидантів сезамолу та його похідних знижується у процесі рафінації, для розробки олійної основи для β -каротину обрано нерафіновану кунжутну олію, що пройшла фільтрування через бейтинг.

Таблиця 7.

Вміст токоферолів у зразках досліджуваних олій

Олія	Загальний вміст, мг%	Ізмери, % загального вмісту			Сумарний вміст, мг% (за Codex Alimentarius)
		α	β	$\gamma+\delta$	
Кунжутна нерафінована	$84 \pm 0,70$	$51,4 \pm 0,55$	$43,0 \pm 0,40$	$5,6 \pm 0,05$	50,4-114,0
Соняшникова високоолеїнова рафінована	$96 \pm 0,85$	$91,5 \pm 0,80$	$8,5 \pm 0,05$	-	40,3-102,1
Амарантова рафінована	$215 \pm 1,50$	$49,1 \pm 0,35$	$42,4 \pm 0,50$	$8,5 \pm 0,10$	31,4-347,2

Досліджено склад ізомерів антиоксиданту токоферолу в кунжутній, високоолеїновій соняшниковій та кукурудзяній оліях (таблиця 7), що ми застосуємо для захисту каротину від окиснення. З даних таблиці 7 видно, що найвищим вмістом токоферолів серед досліджуваних зразків характеризується кукурудзяна олія.

Антиокислювальний ефект купажованої олії перевищує дію синтетичного антиоксиданту бутилоксіанізолу (БОА) в рафінованій соняшниковій олії, що використовується у нормованій кількості 0,02%. Результати дослідження окислювальної стабільності купажованої олії та її компонентів окремо наведено і відповідно на рис. 2

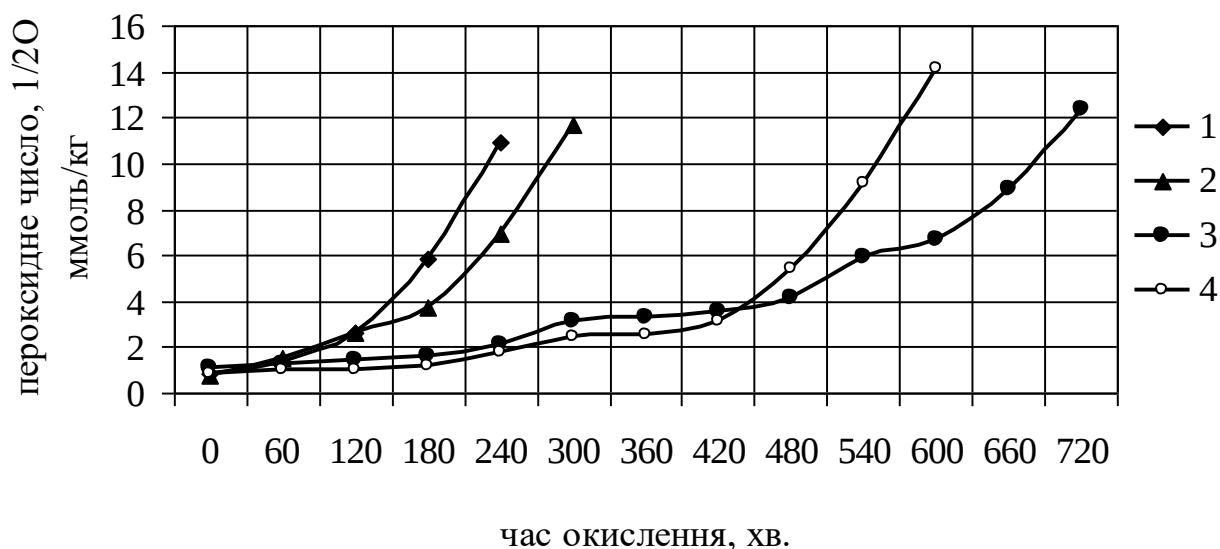


Рисунок 2. - Динаміка прискореного окислення: 1 – рафінована амарантова олія; 2 – рафінована високоолеїнова соняшникова олія; 3 - нерафінована кунжутна олія; 4 – купажована олія.

Результати дослідження стійкості до окислювального псування купажованої олії свідчать про помітне подовження терміну зберігання даної олії за рахунок антиоксидантів сезамолу та сезаміну.

Всі рослинні олії, що досліджувалися, мають антиоксиданти, які проявляють інгібуючі властивості щодо окислення олій. Найкращими кінетичними параметрами відзначається купажована олія з 0,02% токоферолу і 0,2% β -каротина. Розраховані величини k_{p2}/k_7 підтверджують синергітичний ефект антиоксидантів олійної основи (переважно сезамолу та сезаміну) для захисту β -каротину у гальмуванні окислювального псування.

Таблиця 8.
Кінетичні параметри окислення олій при 85 ± 2 °C, що досліджувалися

№	Зразок	$k_{p2}/k_7 \cdot 10^5$
1	Соняшникова олія (контроль)	0,71
2	Амарантова олія	0,68
3	Високоолеїнова соняшникова олія	0,64
4	Кунжутна олія	0,22
5	Купажована олія	0,41
6	Купажована олія з 0,02% токоферолу(рецептура №1)	0,20
7	Соняшникова олія з 0,2% β -каротина (контроль)	0,72
8	Купажована олія з 0,2% β -каротина	0,31
9	Купажована олія з 0,02% токоферолу і 0,2% β -каротина	0,15

Таким чином можна зробити висновок, що купажовані олії можуть бути використані як основи для сповільнення процесу окислювального псування мікробіологічного β -каротину. З метою створення купажованих (сумішевих) рослинних олій, що збагачені есенціальними складовими, такими як незамінні поліненасичені ω -3 жирні кислоти, для захисту β -каротину проведено дослідження зі створення каротинвмістивної купажованої олії не тільки зі збалансованим складом поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), гарними смаковими якостями, але й стабільної до окислювального псування за рахунок природних складових.

Нерафінована кунжутна олія, що входить до складу купажованої олії у якості другого компонента, містить у своєму складі унікальні природні антиоксиданти – сезамол та сезамін, які запобігають окисленню β -каротину.

Таблиця 9.

Біологічно активні речовини обраних рослинних олій.

Найменування біологічно активної речовини	Рослинні олії		
	кунжутна	соєва	соняшникова
Токоферолі, мг%, у тому числі:	84 ± 0,50	147 ± 0,80	98 ± 0,60
α-, % до суми	51,4 ± 0,20	9,8 ± 0,05	94,2 ± 0,60
β-, % до суми	43,0 ± 0,20	66,3 ± 0,30	5,8 ± 0,02
γ-, % до суми	5,6 ± 0,03		
δ-, % до суми		23,9 ± 0,10	-
Сезамол, %:		-	-
у вільному стані	0,0103±0,0005	-	-
у зв'язаному стані	0,17±0,01	-	-
Сезамін, %	0,14±0,01	-	-

У якості третього компонента використано рафіновану дезодоровану соняшкову олію з метою додаткового збагачення купажованої олії α -токоферолом в якості антиоксиданта. Результати розрахунку співвідношення компонентів купажованої олії для конкретних зразків олій дали наступне рішення:

- соєва олія - 70%; - кунжутна олія - 15%; - соняшникова олія - 15%.

Розроблена каротинвмістивна купажована олія (рецептура №2), окрім збалансованого складу ПНЖК, має бути стійкою до окислювального псування за рахунок природних антиоксидантів кунжутної олії – сезамолу і сезаміну, що входять до її складу. В ході роботи досліджено стійкість каротинвмістивної купажованої олії до окислення, визначено вплив природних антиоксидантів сезамолу та сезаміну на окислювання β -каротину у складі каротинвмістивної купажованої олії, фізико-хімічні та органолептичні показники, харчову цінність, а також кінетичні параметри окислення.

Дослідження стійкості каротинвмістивної купажованої олії до окислювального псування проведено за допомогою методу "активного кисню" при температурі $85 \pm 2^\circ\text{C}$. Ступінь окислення контролювали за величиною пероксидного (ПЧ), кислотного (КЧ) та анізидинового (АЧ) чисел.

Періоди індукції зразків при $85 \pm 2^\circ\text{C}$ каротинвмістивної купажованої олії та контролю представлено в таблиці 10.

Таблиця 10.

Періоди індукції при $85 \pm 2^\circ\text{C}$ зразків олій, що досліджувалися

Олія, що окислювалася	Період індукції, хв.
Каротинвмістивна купажована олія	200 ± 8
Контроль	95 ± 3

Аналізуючи рисунок 3, видно, що найдовший термін зберігання зафіксовано в каротинвмістивній купажованій олії, гранична кількість вторинних продуктів окислення якої ($\text{АЧ}=3$, для рафінованих дезодорованих олій) накопичується протягом 210 хвилин прискореного окислення. У контрольному зразку гранична кількість вторинних продуктів окислення накопичується протягом 85 хвилин.

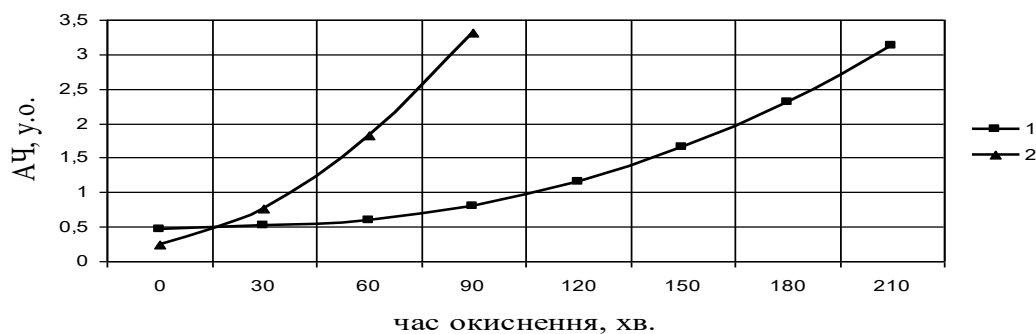


Рисунок 3 - Динаміка зміни анізидинових чисел в процесі окислення:
1 – каротинвмістивна купажована олія; 2 – контроль.

В Україні широкого поширення набув кормовий препарат мікробіологічного каротину (КПМК), який нині називається Вітатон. Численні досліді на сільськогосподарських тваринах показали високу ефективність препарату, який підвищував продуктивність тварин, позитивно впливав на відтворювальну функцію, покращував якість продукції, мав високий профілактичний ефект при А-гіповітамінозах [195].

Вітаміни не є для тварин джерелом енергії та матеріалом для побудови тканин та органів. Однак багато з них входять до складу ферментів або беруть участь у ферментних системах, що каталізують перетворення в організмі білків, жирів, вуглеводів і солей, що надходять з їжею. Відсутність або недостатній вміст у раціоні окремих вітамінів знижує активність відповідних ферментів і у тварин настає порушення обміну речовин, що проявляється втратою апетиту, слабкістю, затримкою росту, виснаженням та специфічними захворюваннями, які називаються авітамінозами. В таблиці 10 наведено соковиті корми: зелений корм, силос, сінаж, коренеплоди, бульбоплоди та овочі, що містять велику кількість каротину – провітаміну А, тому вони є необхідним компонентом раціону сільськогосподарських тварин та птахів.

Таблиця 10.
Вміст вітамінів в зелених рослинах), в 1 кг корма.

Корма	Каротин, мг	Д, МЕ	Е, мг	В ₁ , мг	В ₂ , мг	В ₃ , мг	В ₄ , мг	В ₅ , мг	В ₆ , мг
Кукурудза,	54	2,5	40	1,13	1,88	6,28	50,2	5,11	2,5
Пшениця	36	4,0	50	2,0	2,5	7,0	80	7,0	-
Рожь озима	37	2,2	38	0,8	2,7	5,35	75,5	7,5	1,9
Ячмінь	69	2,3	55	1,0	1,7	5,7	46	6,8	2,3
Боби	45	2,1	40	1,53	1,24	5,13	31,5	7,4	2,1
Клевер	40	2,3	40	1,5	4,4	4,2	80	14,0	8,3

У випадку з каротиноїдами, пігментація виступає як індикатор якості. Наприклад, одне яйце, отримане за допомогою А-вітамінного методу, здатне на 50% перекрити добову потребу дорослої людини у таких вітамінах, як В12, D, К. Годування курей збалансованим кормом безпосередньо впливає на приріст і несучість птиці. Для нормальної життєдіяльності молодняку та дорослого птаха необхідні: білки, вуглеводи, жири, вітаміни та мінеральні речовини – макро- та мікроелементи. До макроелементів відносяться кальцій, фосфор, натрій, калій: Кальцій та фосфор необхідні для формування та росту кісткової тканини, утворення шкаралупи яєць, нормального перебігу фізико-біохімічних процесів. Натрій і калій беруть участь у регулюванні реакції крові, впливають на засвоєння поживних речовин, входять до складу деяких ферментів та регулюють водний, мінеральний, азотистий та жировий обміни. До мікроелементів відносять магній, сірку, залізо, кобальт, мідь, марганець, цинк, йод. Магній бере участь в обміні речовин у тісному взаємозв'язку з кальцієм та фосфором. Значна кількість магнію (більше 60%) знаходиться в кістках, решта – у м'яких тканинах та рідинах організму. При нестачі магнію в раціоні птиці зменшуються запаси магнію в організмі, порушується обмін речовин, розвивається тяжке захворювання із високою смертністю. Вміст у раціоні великої кількості кальцію, фосфору та азоту

підвищує потребу птиці в магнії, а надлишок магнію призводить до підвищеного виведення з організму кальцію та фосфору. Сірка в організмі птиці знаходиться в основному у вигляді органічних сполук, головним чином білків та деяких амінокислот (цистеїн, цистин та метіонін). Наявність сірки в раціоні птиці особливо важлива при використанні в якості заміників протеїну синтетичних азотовмісних речовин. Сірка стимулює зростання пера, тому має бути раціоні птиці під час линяння. Залізо бере участь в окисно-відновних реакціях. При нестачі заліза у раціоні птиці порушується синтез гемоглобіну крові та розвивається анемія. У синтезі гемоглобіну беруть участь та інші мікроелементи: кобальт, мідь та марганець. Основна функція заліза – стимулювання кровотворних елементів кісткового мозку. Кобальт стимулює утворення еритроцитів у кістковому мозку та впливає на синтез білка. Мідь входить до складу багатьох окисних ферментів, сприяє використанню глюкози та відкладенню глікогену в печінці, впливає на активність статевих гормонів та синтез гемоглобіну в еритроцитах, сприяє перетворенню неорганічного заліза на органічно пов'язану форму. Марганець впливає на окислювальні процеси в організмі та інтенсивність обміну білків. Нестача марганцю затримує зростання птиці. Солі свинцю та цинку сприяють депонуванню марганцю в організмі, а солі кобальту та молібдену знижують цю здатність. Цинк є складовою ферментів і гормонів. При нестачі цинку виникають шлунково-кишкові захворювання [210-214]. Йод входить до складу гормону щитовидної залози та обумовлює його активність у регулюванні білкового, мінерального та інших видів обміну. При нестачі йоду затримується ріст молодняку, а мінеральних речовин – знижуються опірність організму до хвороб та активність птиці, затримується ріст, послаблюється кістяк, потоншується шкаралупа яєць та погіршується їхня виведення. Як зелений корм у великій кількості використовують люцерну, конюшину, горох у фазі бутонізації.

Зелені корми для птиці – важливе джерело вітамінів та деяких мінеральних речовин. Крапива дводомна – рослина, багата на вітаміни, мікроелементи та інші біологічно активні речовини. Листя кропиви дводомної

містить до 270 мг % вітаміну С, каротиноїди (каротин, ксантофіл, ксантофілепоксид, віолаксантин), до 5% хлорофілу, більше 2% дубильних речовин, органічні кислоти (щавлева, бурштинова, фумарова, молочна, лимонна). У листі та молодих стеблах кропиви, яку здавна вважали «пташиним» кормом, містяться багато цінних поживних речовин: білки, каротин, вітаміни А, В, С, К та ін. Кропиву птиці краще згодовувати навесні або на початку літа, коли листя і стебла ще не огрубіли і багаті на різні поживні речовини. Листя є своєрідним природним полівітамінным концентратом. Вони містяться до 170 мг% (за іншими даними, 270 чи 100—200) аскорбінової кислоти, до 20 мг% (за іншими даними, 50 чи 14—30 каротину, вітаміни групи У, До (400 біологічних одиниць один г) У 100 г кропиви міститься 41 мг заліза, 1,3 мг міді, 8,2 мг марганцю, 4,3 мг бору, 2,7 мг титану, 0,03 мг нікелю, у листі – до 8 % хлорофілу, цукор, порфірини, ситостерин, фенольні кислоти, дубильні речовини, фітонциди, глікозид уртицин, органічні кислоти. Склад: сирого протеїну 22,2%, чистого білка 16,7%, жиру 2,15%, клітковини 35,6, екстрактивних безазотистих речовин 22,1%, золи 17,8%, аскорбінової кислоти 49-72 мг% (час збору - середина травня), 10% крохмалю, близько 1% цукрів, багато солей заліза та калію. У стеблах і листі кропиви виявили ефірну олію, сиротинін, порфірин, пантотенові та фенолкарбонові кислоти, флавоноїди, глізодургіцин, гістамін. Кропива має у своєму складі 9 з 10 незамінних амінокислот, вітаміни групи В, а також вітаміни С, РР, К. Хімічний склад 100 г кропиви: 41 мг заліза, 1,3 мг міді, 8,2 мг марганцю, 4,3 мг бору 2,7 мг титану, 0,03 мг нікелю; у листі – до 8 % хлорофілу, цукор, порфірини, ситостерин, фенольні кислоти, дубильні речовини, фітонциди, глікозид уртицин, органічні кислоти.

Для отримання препарату підібрано умови оптимізації процесів: ступінь подрібнення сировини, часовий режим подрібнення, співвідношення сировини та мікробіологічного каротину з антиоксидантами (сезамол в складі купажованої олії) основних груп БАВ. Модифіковано методику спектрофотометричного визначення суми флавоноїдів у сировині подрібненої кропиви, що виключає використання державного стандартного зразка рутину.

Визначено кількісний вміст органічних кислот, дубильних речовин, флавоноїдів, каротиноїдів, хлорофілів, тритерпенових сполук, вітаміну К. В 1 г розробленого препарату міститься 20 мг бета-каротину, 5 – альфа-токоферолу ацетату та 2,5 мг аскорбінату цинку (з вмістом цинку 0,6%). Ми порівнювали ефективність застосування у годівлі сільськогосподарського птаха двох форм препарату, практично однакових за складом, але відмінних між собою за введеному до їх складу каротину. Контроль містить у своєму складі лише масу каротину крапиви, дослід включає до складу препарату масляний екстракт мікробіологічного каротину з антиоксидантами.

Групи курчат-бройлерів віком 20 діб - І група була контрольною (птахи вітамінні препарати не отримували. Особам ІІ дослідної групи давали карокрапт, що містить бета-каротин мікробіологічний з антиоксидантами. Препарати давали з питною водою з розрахунку 10 мл на 10 діб. В результаті досліджень встановлено, що найвищий середньодобовий приріст виявили курчата у ІІ дослідній групі. У ІІ дослідній групі, де використовували карокрапт з мікробіологічним бета-каротином, середньодобовий приріст перевищив контрольні показники на 13,9%. При аналізі даних щодо конверсії корму видно, що у всіх групах витрати корму перебували у межах зоотехнічних нормативів цього виду птиці. Однак у ІІ дослідній групі витрати корму були на 11,7 нижче, ніж у контролі. Мікробіологічний бета-каротин, що входить до складу карокрапту. представлений каротино-ліпідним комплексом, що складається з каротину кропиви та мікробіологічного каротину. Крім традиційно представленого в препараті бета-каротину, нова форма препарату містить фосфоліпіди, гліколіпіди, стерини, вітамін Е, антиоксиданти, вітаміни групи К, вільні жирні кислоти, що підвищує засвоюваність препарату, робить його склад ціннішим за біологічно активними речовинами та енергією. Крім того, під час мікробіологічного синтезу бета-каротин розчиняється в ліпідах гриба *Blakeslea trispora*, що підвищує його доступність при згодовуванні тваринам. У дослідях на курах-несучках також було підтверджено перевагу бета-каротину мікробіологічного походження. Дача птиці з водою препарату викликала

статистично достовірне збільшення середньої маси яйця ($P<0,5$), інтенсивність яйцекладки та незначне збільшення товщини шкаралупи. Під впливом карокрапту, що містить бета-каротин мікробіологічного походження, вміст каротиноїдів у жовтку яєць зроста майже вдвічі ($P<0,001$), кількість вітаміну А підвищувалася на 15,1% ($P<0,05$). Застосування карокрапту з мікробіологічним бета-каротином зумовило збільшення каротиноїдів та вітаміну А у жовтку яєць відповідно на 52,6 та 12,5% порівняно з контролем ($P<0,05$). Випаювання препаратів сприяло зниженню кислотного числа жовтка на 60,2-43,5%.

Таким чином, найвищий фармакологічний ефект був отриманий від карокрапту. Після його застосування середньодобові прирости тварин зросли на 56,0%, тоді як у групі, яка отримувала препарат тільки з наявністю препаратоа крапиви - на 41,5%, у отримувала карокрапт - на 53,6%. Високий фармакологічний ефект препаратів можна пояснити наявністю в них хлорофілу. Як відомо, у будові молекули хлорофілу та гемоглобіну є подібність. Єдина відмінність полягає в тому, як уже вказувалося вище, що в центрі хелатного комплексу в хлорофілі знаходиться атом магнію, а в гемоглобіні - залізо. Тому, можна вважати, що хлорофіл здатний якимось чином впливати на кров, схожу з гемоглобіном: підвищувати рівень кисню, сприяти підвищенню росту та розвитку тварин.

Висновки

1. Вивчено можливість застосування для годування молодняку свиней нового вітаміновмісного хлорофіло-каротинового комплексу - карокрапт при А-гіповітамінозі поросят та курчат.

2. Встановлено, що оптимальною дозою карокрапту для поросят-отъёмишів оптимаоьною є доза 1,0 г/кг маси тіла. Більш висока доза (2,0 г/кг) не мала перед нею переваг щодо приросту маси поросят та насичення їх організму вітаміном А. Низька доза (0,5 г/кг) суттєво поступалася оптимальною за цими показниками.

3. Карокрапт, застосований поросятм у дозах 1,0 та 2,0 г/кг, підвищував середньодобові прирости (на 51,5 та 52,0%), сприяв зниженню витрат корму на одиницю продукції (на 14,6 та 10,7). %),

4. Двадцятидобове застосування поросятм карокрапту в дозах 1,0 та 2,0 г/кг сприяло збільшенню вмісту вітаміну А у сироватці крові та печінки (на 87,3 та 87,8%)

5. При порівняльній оцінці дії карокрапту на організм поросят з ознаками А-гіповітамінозу найвищий фармакологічний ефект був отриманий від препарату в дозі 1,0 г/кг. Відзначалося підвищення середньодобових приростів (на 56,0%), збільшення вмісту вітаміну А у сироватці крові (більш ніж у 2,5 раза) та печінки (на 30,7%).

6. Позитвний вплив отриман і на курчатах-бройлерах. Результати фізіологічного впливу препарату на основі крапиви та мікробіологічного каротину з антиоксидантами були схожі по дії.