

БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ

УДК 636.7.053:636.085:615.918:579.87

Подразнювальна дія та ефективність включення у раціони молодняку собак біомаси спіруліни, збагаченої СульфуромГригораш Ю.В., Мерзлов С.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет



Григораш Ю.В., Мерзлов С.В. Подразнювальна дія та ефективність включення у раціони молодняку собак біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром. Збірник наукових праць «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», 2024. № 2. С. 79–84.

Hryhorash Yu., Merzlov S. Irritant effect and efficiency of inclusion of spirulina biomass enriched with sulphur in the young dogs' diets. «Animal Husbandry Products Production and Processing», 2024. № 2. PP. 79–84.

Рукопис отримано: 10.11.2024 р.

Прийнято: 23.11.2024 р.

Затверджено до друку: 28.11.2024 р.

doi: 10.33245/2310-9289-2024-190-2-79-84

Вміст у біомасі спіруліни поживних і біологічно активних речовин дає змогу ефективно використовувати її у складі раціонів для тварин. За рахунок корегування мінерального складу поживного середовища для *Spirulina platensis* можливо змінювати вміст макроелементів у клітинах синьо-зеленої водорості. До таких мінеральних елементів належить Сульфур. Цей елемент є незамінним компонентом ряду амінокислот, ензимів, вітамінів та коензимів. Шляхом внесення у поживне середовище додаткових доз Сульфур (очищена аліментарна форма і глауберова сіль) було одержано біомасу *Spirulina platensis* з підвищеним умістом досліджуваного елемента. З метою наступного використання біомаси спіруліни з підвищеним умістом Сульфур як кормової добавки у годівлі сільськогосподарських тварин і птиці доцільним є проведення досліджень шкідливої дії біомаси синьо-зеленої водорості та встановлення ефективності включення її у раціони тварин. Метою роботи є встановлення подразнювальної дії біомаси *Spirulina platensis* із підвищеним умістом Сульфур на слизових оболонках очей та встановлення ефективності її введення до раціону молодняку собак. Дослідження подразнювальної дії проводили шляхом нанесення суспензії спіруліни у кон'юнктивальний мішок лівого ока кролів віком 2,5 місяців із масою тіла 2,32–2,33 кг. Спостереження за дослідними тваринами здійснювали продовж 14 діб. По завершенні досліджень у сироватці крові кролів досліджували показники білкового обміну. Вивчаючи ефективність використання біомаси спіруліни як кормової добавки, цуценятм із контрольної групи згодовували кормосуміш без додавання водорості. Собакам із I–III дослідних груп згодовували кормосуміш з умістом біомаси *Spirulina platensis* з підвищеним умістом Сульфур у кількості 0,5; 1,0 та 1,5 % від маси. За вивчення подразнюючої дії біомаси спіруліни доведено її нетоксичність, що дає змогу використовувати її як кормову добавку, зокрема, у годівлі молодняку собак. Не виявлено порушень білкового обміну в організмі кролів за умови нанесення на слизову оболонку їх очей суспензії біомаси *Spirulina platensis*. За додавання до кормосуміші 1,0 та 1,5 % біомаси спіруліни маса тіла цуценят зростає на статистично значущу величину.

Ключові слова: дослідні тварини, шкідлива дія біомаси *Spirulina platensis*, маса тіла цуценят, кормосуміш, гіперемія, набряк.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Хімічний склад біомаси *Spirulina platensis* дає змогу ефективно використовувати її у годівлі тварин та птиці [1]. Біомаса спіруліни здатна акумулювати мінеральні речовини з поживного середовища, у якому її вирощують. До таких мінеральних речовин належить Сульфур.

Сульфур є важливим з біологічного погляду як для тварин, так і для рослин. У тваринному організмі міститься до 1,95 % Сульфур. У кормах для тварин рослинного походження елементу міститься до 1,2 %. Основним джерелом Сульфур для тварин є корми [2, 3].

В НДІ тваринництва і харчових технологій Білоцерківського національного аграрного університету відпрацьовано технологію збагачення біомаси спіруліни Сульфуром [4]. Подальше використання біомаси синьо-зеленої водорості як кормової добавки для тварин вимагає встановлення ряду доклінічних показників (нешкідливість, токсичність) в якості добавки із новими якісними і кількісними властивостями [5]. До таких досліджень належить визначення подразнювальної дії біомаси *Spirulina platensis*, збагаченої Сульфуром, на слизову оболонку ока кролів. Крім того, невивченою є ефективність застосування біомаси *Spirulina platensis* з підвищеним умістом Сульфур за вирощування молодняку собак.

Хімічний склад синьо-зеленої водорості суттєво корелює із складом середовища, на якому її культивують. Підвищуючи вміст макроелемента чи мікроелемента в поживному середовищі, акумулювання його в біомасі спіруліни зростає [6]. За таким принципом відбувається зростання вмісту Сульфур у клітинах *Spirulina platensis*.

Сульфур має велике значення для різних біооб'єктів. Мінерал входить до складу ензимів, білкових структур, бере участь у синтезі коензимів, вітамінів та гормонів. Недостатке надходження Сульфур в організм тварин супроводжується порушенням метаболізму у суглобах та синтезу волосяного покриву [7]. Елемент входить до складу ряду антиоксидантів, безпосередньо і глутатіону (GSH) [8–11]. Сульфур є незамінним елементом низки амінокислот, сульфоліпідів [12].

Біомаса *Spirulina platensis* із підвищеним умістом Сульфур має нові якісні та кількісні властивості, тому її можна віднести до об'єкта із новими нутріологічними властивостями, що вимагає проведення доклінічних вивчень згідно вимог [5].

Вимоги безпечності та якості нових кормів та кормових добавок або кормових

добавок з новими якісними та кількісними ознаками базуються на вивченні параметрів токсичної дії. Дослідження токсичності кормових добавок і кормів на живих біооб'єктах регламентується низкою міжнародних організацій [13].

Метою роботи було вивчення подразнювальної дії біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром, на слизові оболонки очей кролів з наступним встановленням ефективності її використання у годівлі молодняку собак.

Матеріал та методи дослідження. Експерименти щодо подразнювальної дії біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром, та дослідження на молодняку собак здійснювали в умовах віварію та лабораторій Інституту тваринництва та харчових технологій Білоцерківського НАУ і кінологічного клубу «DOGARM. COMPANY» м. Київ. Із підготовленої біомаси спіруліни виготовляли суспензію. Останню в кількості 2-х крапель закрапували у кон'юнктивальний мішок лівого ока кролів. Далі пальцями затискали слізньо-носовий канал і тримали по 90 секунд. Для встановлення подразнювальної дії було використано чотирьох кролів віком 2,5 місяців із масою тіла 2,32–2,33 кг. В якості контролю застосовували праві очі лабораторних тварин, до яких не вносили суспензію спіруліни. За проведення експерименту проводили моніторинг стану очей і тварин через годину, 12 та 24 годин після нанесення суспензії спіруліни, а потім щодоби – продовж 14 діб.

Подразнювальну дію біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром, на слизових оболонках очей кролів оцінювали, зважаючи на присутні або відсутні ознаки: набряк, гіперемію і виділення з очей. Керуючись даними, наведеними у таблиці 1, за вищезгаданими ознаками присуджували певну кількість балів [5].

По завершенні спостережень (14 доба експерименту) у лабораторних тварин відбирали кров з метою здійснення ряду біохімічних досліджень. Із одержаної крові отримували сироватку, в якій визначали активність амінотрансфераз, керуючись методикою S. Reitman, S. Francel [14], та вміст загального білка, керуючись методикою O.H. Lowry [15].

Із цуценят породи німецької вівчарки віком 75–76 діб було сформовано чотири групи – одну контрольну та три дослідні – по 6 тварин у кожній групі. Цуценята мали спільне походження за батьком. Маса тіла тварин між групами не перевищувала 3,0 % від середнього арифметичної маси. У кожній групі було по 3 кобели і 3 самки.

Таблиця 1 – Бали за критеріями оцінювання шкідливої дії спіруліни, збагаченої Сульфуром

Клінічна ознака	Присуджені бали
Опис виділень	
Кількість виділень, мінімальна накопичена в кутику ока	1,0
Виділень такий об'єм, що зволожує усі повіки	2,0
Виділень такий об'єм, що зволожує усі повіки та шкіряний покрив навколо	3,0
Гіперемія рогівки і кон'юнктиви очей	
Помітно гіперемійовані судини ока	1,0
Частину судин ока погано помітно	2,0
Дифузне, глибоке почервоніння	3,0
Набряк повік	
Мало помітний набряк	1,0
Добре помітний набряк повіки з її зональним виверненням	2,0
Внаслідок набряку повік око закрите наполовину	3,0
За рахунок сильного набряку повік око закрите більше, ніж наполовину	4,0

Основний раціон було представлено кормосуміш'ю, яка складалась із яловичини свіжої подрібненої (довжина часток 0,3–0,8 см) – 15,0 % від маси, м'яса курчат-бройлерів механічного обвалювання (довжина часток 0,3–0,8 см) – 25,0 % від маси, кісткового борошна – 2,5 % від маси, каші із ячмінної крупи – 57,48 % та вітамінного бленду – 0,02 % від маси.

Добова даванка кормосуміші на одне цуценя становила 7,0 % від маси його тіла. Корегування маси кормосуміші на голову на добу проводили кожні 10 діб після контрольного зважування тварин.

Цуценят з контрольної групи згодували кормосуміш без додавання біомаси спіруліни. Тварини з I-III дослідних груп споживали кормосуміш, яка містила від 0,5 до

1,5 % біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром (табл. 2).

Утримання цуценят проводилось у вольєрах. Зважування маси тіла цуценят проводили один раз на 10 діб. Дослід тривав 2 місяці.

Результати дослідження та обговорення. Експериментально виявлено, що через годину після нанесення на слизову ока кролів суспензії біомаси спіруліни на правих очах не спостерігали виділень. Водночас у кутиках лівих очей усіх тварин було виявлено невелике сльозовиділення. У четвертого кроля було зафіксовано локалізований на невеликій ділянці набряк повіки (табл. 3).

Спостерігаючи за станом очей лабораторних тварин, через 12 годин після нанесення спіруліни було встановлене незначне сльозовиділення.

Таблиця 2 – Схема дослідів на молодняку собак

Група	Кількість тварин, гол	Фактор, який досліджується
Контрольна	6	Кормосуміш з кормів тваринного та рослинного походження (ОР)
I дослідна	6	ОР + 0,5 % біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром
II дослідна	6	ОР + 1,0 % біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром
III дослідна	6	ОР + 1,5 % біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром

Таблиця 3 – Результати спостережень за дією біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром, на слизову оболонку ока, n=4

Ознака шкідливості	Час спостережень					
	Через годину	Через 12 години	Через добу	Через дві доби	Через три доби	Через чотирнадцять діб
Виявлені ознаки у I-го кроля						
Набряки	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Виділення	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Гіперемія	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Виявлені ознаки у II-го кроля						
Набряки	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Виділення	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Гіперемія	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Виявлені ознаки у III-го кроля						
Набряки	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Виділення	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0
Гіперемія	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Виявлені ознаки у IV-го кроля						
Набряки	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Виділення	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Гіперемія	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Контроль лівих очей тварин через добу продемонстрував, що суспензія спіруліни не викликала гіперемії кон'юктиви чи роگیрки. За описом, ця ознака на лівих очах була аналогічною з правими. Виділень (сльозових) в очах кролів не було помічено. За ретельного огляду не було виявлено набряку повік очей. Також було зафіксовано невиявлення гіперемії на оці у IV-го кроля, яку було встановлено через 12 годин після ведення суспензії біомаси спіруліни.

Внаслідок огляду тварин через кожні 24 години до 14-ї доби не було встановлено в усіх лабораторних тварин утворення виділень, гіперемії чи набрякових ознак очей. Зважаючи на проведені дослідження, біомаса спіруліни, збагачена Сульфуром, не викликає подразнювальної дії за нанесення її на слизові оболонки очей кролів. Помірне виділення сліз продовж 12 годин може пояснювались залишками луку в біомасі спіруліни, який сорбувався з поживного середовища, рН якого становить 12,1–12,4 [1].

Також у лабораторних тварин досліджували вплив біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром, на показники білкового обміну в їх сироватці крові (табл. 4).

Керуючись даними інших дослідників, вміст загального білка в сироватці крові кролів має становити 66,0–76,0 г / дм² [5]. Нами виявлено, що середній показник чотирьох тварин становив 67,4 г / дм², що є підтвер-

дженням відсутності впливу біомаси спіруліни на порушення білкового обміну в організмі кролів за подразнювальної дії.

Показник активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові лабораторних тварин на кінець експерименту був на рівні 0,43 мкмоль / год / см³. Встановлений нами показник статистично значуще не різнився від фізіологічної норми активності цього ензиму.

Таблиця 4 – Деякі біохімічні показники у сироватці крові лабораторних тварин, M±m, n=4

Показник	Значення
Уміст білка, г / дм ³	67,4±2,87
Активність АсАТ, мкмоль / год / см ³	0,43±0,029
Активність АлАТ, мкмоль / год / см ³	0,30±0,010

Не встановлено статистично значущого підвищення чи зменшення активності аланінамінотрансферази у сироватці крові дослідних тварин.

Досліджуючи подразнювальну дію біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром, виявлено її нетоксичність, що дозволяє використовувати синьо-зелену водорість як кормову добавку для годівлі тварин, зокрема, і молодняку собак.

Вивчаючи вплив біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром, у складі раціонів для собак, було встановлено певні закономірності. На початок експерименту (75–76 доба життя) маса тіла цуценят становила 11,18–11,30 кг. За зважування через 10 діб після початку експерименту виявлено, що у I дослідній групі маса тіла собак була меншою на 0,31 %. Найбільшу масу тіла було виявлено у цуценят, які споживали кормосуміш з умістом біомаси спіруліни 1,5 %. Різниця із контролем становила 1,8 % (табл. 5).

спостерігалось незначене сльозовиділення лише протягом перших 12 годин від початку експерименту. До 14 доби експерименту сльозових або ексудативних виділень в очах кролів не було виявлено. Не встановлено гіперемії чи набрякових ознак продовж дослідного періоду.

За нанесення на слизову ока біомаси спіруліни з підвищеним умістом Сульфур у сироватці крові лабораторних тварин не виявлено статистично значущого підвищення або зниження активності аспартатамінотранс-

Таблиця 5 – Маса тіла собак, кг, n=6

Вік цуценят,	Група			
	Контрольна	I дослідна	II дослідна	III дослідна
75–76	11,25±0,230	11,21±0,204	11,18±0,147	11,30±0,165
85–86	12,61±0,183	12,57±0,213	12,80±0,167	12,84±0,168
95–96	13,90±0,175	13,87±0,201	14,28±0,135	14,32±0,167
105–106	15,31±0,124	15,30±0,208	15,61±0,114	15,68±0,166
115–116	16,40±0,215	16,55±0,255	16,92±0,108	16,95±0,151
125–126	18,20±0,135	18,48±0,198	19,01±0,128**	19,07±0,135**
135–136	20,05±0,118	20,34±0,167	20,88±0,108**	20,91±0,114**

Примітка: ** – p < 0,01.

На 20 добу експерименту було встановлено, що відносні прирости (порівняно до маси тіла на початок експерименту) у контрольній групі були на рівні 23,5 %. У I дослідній групі відносний приріст цуценят становив 23,7 %. Найбільший відносний приріст у цей період було виявлено у II і III дослідних групах і становив 27,7 %.

На 30 добу тенденція щодо приростів маси тіла цуценят у дослідних групах залишалась такою ж, як і на 20 добу експерименту. На 40 добу експерименту маса тіла собак із I дослідної групи збільшилась щодо контролю на 0,91 %. У II та III дослідних групах маса тіла цуценят була більшою, ніж у контролі на 3,1 та 3,3 % відповідно.

Зважування цуценят на кінець експерименту показало, що у II та III дослідних групах маса тіла молодняку собак була більшою на статистично значущу величину щодо тварин, які споживали кормосуміш (контроль) без умісту біомаси спіруліни, збагаченої Сульфуром.

Висновки. За внесення біомаси спіруліни з підвищеним умістом Сульфур у кон'юнктивальний мішок лівого ока кролів

сфери, аланінамінотрансферази та вмісту загального білка.

Додавання до складу кормосуміші 1,0 та 1,5 % біомаси спіруліни з підвищеним умістом Сульфур супроводжується підвищенням маси тіла цуценят, відповідно, на 3,1 та 3,3 % порівняно із контролем. Розбіжність маси тіла собак, які споживали кормосуміш із вмістом 1,0 та 1,5 %, була в межах похибки.

REFERENCES

1. Merzlova, G.V. (2015). Obtaining Zink enriched Spirulina biomass and establishing its toxicity. Collection of scientific works Bila Tserkva National Agrarian University. Bila Tserkva, pp. 107–111. (In Ukrainian).
2. Francioso, A., Baseggio Conrado, A., Mosca, L., Fontana, M. (2020). Chemistry and biochemistry of sulfur natural compounds: Key intermediates of metabolism and redox biology. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. DOI:10.1155/2020/8294158.
3. Maruyama-Nakashita, A. (2017). Metabolic changes sustain the plant life in low-sulfur environments. Current Opinion in Plant Biology. 39, pp. 144–151. DOI:10.1016/j.pbi.2017.06.015.
4. Hryhorash, Y.V., Merzlov, S.V. (2024). Biomass increase of Spirulina platensis as a feed ad-

ditive with different doses of sulfur in the nutrient environment. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Agricultural sciences*, 26 (101), pp. 217–222. DOI:10.32718/nvlvet-a10134

5. Kotsyumbas, I.Ya., Malik, O.G., Paterega, I.P., Tishin, O.L., Kosenko, Y.M., Chura, D.O., Kotsyumbas, G.I., P'yatnychko, O.M., Brezvin, O.M., Zasadna, Z.S., Chaykovska, O.I. (2006). Preclinical studies of veterinary medicinal products. pp. 157–159. (In Ukrainian).

6. Merzlova, G.V. (2015). Reception biomass of spirulina enriched zine and establish its toxicity. Collection of scientific works Bila Tserkva National Agrarian University. Bila Tserkva, pp. 87–90. (In Ukrainian).

7. Ingenbleek, Y., Kimura, H. (2013). Nutritional essentiality of sulfur in health and disease. *Nutrition Reviews*, 71 (7), pp. 413–432. DOI:10.1111/nure.12050.

8. Colovic, M.B., Vasic, V.M., Djuric, D.M., Krstic, D.Z. (2018). Sulphur-containing amino acids: Protective role against free radicals and heavy metals. *Current Medicinal Chemistry*. 25 (3), pp. 324–335. DOI:10.2174/0929867324666170609075434.

9. Clifford, T., Acton, J.P., Cocksedge, S.P., Davies, K.A.B., Bailey, S.J. (2021). The effect of dietary phytochemicals on nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) activation: A systematic review of human intervention trials. *Molecular Biology Reports*. 48 (2), pp. 1745–1761. DOI:10.1007/s11033-020-06041-x.

10. Marino, M., Martini, D., Venturi, S., Tucci, M., Porrini, M., Riso, P., Bo, D. (2021). An overview of registered clinical trials on glucosinolates and human health: the current situation. *Frontiers in Nutrition*, 8. DOI:10.3389/fnut.2021.730906.

11. Yagishita, Y., Fahey, J.W., Dinkova-Kostova, A.T., Kensler, T.W. (2019). Broccoli or sulforaphane: Is it the source or dose that matters? *Molecules*, 24 (19), 3593 p. DOI:10.3390/molecules24193593.

12. Ingenbleek, Y., Kimura, H. (2013). Nutritional essentiality of sulfur in health and disease. *Nutrition Reviews*, 71 (7), pp. 413–432. DOI:10.1111/nure.12050.

13. Kotsyumbas, I.Ya., Ryvak, G.P., Shapovalov, S.O., Brezvin, O.M. (2011). Safety assessment of feed additives, general approaches: methodological recommendations. pp. 3–21.

14. Reitman, S., Frankel, S. (1957). A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Pthol.*, Vol. 28, 56 p.

15. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.I., Farr, A.L. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, Vol. 193. pp. 265–315.

Irritant effect and efficiency of inclusion of spirulina biomass enriched with sulphur in the young dogs' diets

Hryhorash Yu., Merzlov S.

The content of nutrients and biologically active substances in the biomass of *Spirulina platensis* allows it to be used effectively in animal diets. By adjusting the mineral composition of the nutrient medium for *Spirulina platensis*, it is possible to change the content of macronutrients in the cells of the blue-green algae. One of these mineral elements is sulphur. This element is an essential component of several amino acids, enzymes, vitamins and coenzymes. By introducing additional doses of Sulphur (purified, nutritional form and glauber's salt) into the nutrient medium, *Spirulina platensis* biomass with a high content of the element under study was obtained. To further use spirulina biomass with a high content of Sulphur as a feed additive in the feeding of farm animals and poultry, it is advisable to study the harmful effects of blue-green algae biomass and to establish the effectiveness of its inclusion into animal diets. The study aimed to determine the irritating effect of *Spirulina platensis* biomass with a high sulphur content on the mucous membranes of the eyes and to establish the effectiveness of its inclusion in the diet of young dogs. The irritant effect has been studied by applying a suspension of *Spirulina* to the conjunctival sac of the left eye of rabbits aged 2.5 months and weighing 2.32-2.33 kg. The experimental animals have been observed for 14 days. At the end of the study, the serum of rabbits was examined for protein metabolism. To study the effectiveness of using spirulina biomass as a feed additive, puppies from the control group were fed a feed mixture without adding algae. Dogs from the I-III experimental groups were fed a feed mixture containing *Spirulina platensis* biomass with a high content of sulphur in the amount of 0.5, 1.0 and 1.5 % by weight. The study of the irritating effect of spirulina biomass proved its non-toxicity, which allows it to be used as a feed additive, including in the feeding of young dogs. No disturbances in protein metabolism in rabbits were found when a suspension of *Spirulina platensis* biomass was applied to the mucous membrane of their eyes. The addition of 1.0 and 1.5 % of *Spirulina* biomass to the feed mixture increased the body weight of puppies by a statistically significant amount.

Keywords: experimental animals, the harmful effect of *Spirulina platensis* biomass, puppies' body weight, feed mixture, hyperaemia, oedema.



Copyright: Григораш Ю.В., Мерзлов С.В. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:
Мерзлов С.В.

<https://orcid.org/0000-0002-9815-4280>