

11. Сорокман Т.В., Пижак В.П., Набухотний Т.К. Педіатричні аспекти чорнобильської катастрофи. Чернівці вид. Прут. 1998.
12. Кирым-Маркус И.Б. Новые сведения о действии малых доз радиации на людей // Мед. радиология и радиационная безопасность. 1997. № 2. С. 34–36.
13. Дозовые зависимости нестохастических эффектов. Основные зависимости и величины, используемые в МКРЗ. Пер. с англ., М., 1987. С.41–84.
14. Розен В. Б. Циторецепторы и чувствительность клетки к гормонам // Мед. рад. журнал. 1977. Т.1. С. 1–12.
15. Коган А.Б., Наумов Н.П., Решабек Б.К., Чоарли О.Г. Биологическая кибернетика. М., 1977.
16. Бауэр Э.С. Теоретическая биология. Л., 1935.
17. Гленсдорф П., Пригожин И. Термодинамическая теория структуры, устойчивости и флуктуаций. М., 1973.

Поступила 01.08.02

### Summary

The authors are the first to show the increase of the auxotrophic mutants yield following a single low dose  $\gamma$ -irradiation exposure in the 14<sup>th</sup>-15<sup>th</sup> generations of Escherichia coli and different Staphylococcus, Streptococcus, Salmonella and Corynebacterium strains. The combined effect of low  $\gamma$ -irradiation dose and electromagnetic field increases additionally the mutant yield in the same bacterial generations. In the case of electromagnetic effect having been not accompanied by irradiation there is no significant mutant level increase in the offspring of treated bacteria.

---

Вал. А. Коварский\*, Б.С. Филипп\*\*

## ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОВЫШЕНИЯ ОБМЕННОЙ ЭНЕРГИИ КОРМОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

\*Институт физиологии и санокреатологии АН Молдовы,  
ул. Академией, 1, г. Кишинев MD-2028, Республика Молдова

\*\*Институт прикладной физики АН Молдовы,  
ул. Академией, 5, г. Кишинев MD-2028, Республика Молдова

Обменная энергия является фундаментальной характеристикой эффективности кормов для растущих животных организмов. Существует большое количество традиционных способов увеличения обменной энергии кормов за счет уменьшения потерь энергий при вскармливании заданному типу животных. К таким традиционным способам относятся, например, температурная и химическая обработки кормов. Традиционные способы обработки кормов, наряду с положительным эффектом, вносят и некоторые отрицательные элементы (добавочное разрушение некоторых биологически активных полезных веществ), что ограничивает возможность их применения. С другой стороны, продолжается поиск новых способов повышения обменной энергии за счет использования достижений в области естественных наук. Особый интерес представляет использование электромагнитного излучения. Действие инфракрасного и ультрафиолетового излучения широко вошло в практику обработки пищевых продуктов. Диапазон видимых длин волн менее изучен. Распространено мнение, что видимый свет оказывает отрицательное влияние на пищевые продукты, так как разрушает некоторые витамины.

На протяжении последних лет в Академии наук Молдовы проводились систематические исследования по воздействию оптического излучения видимого диапазона на растительные материалы, содержащие пигмент-белковые комплексы. В серии работ было показано, что оптическое излучение в интервале  $\lambda = 315\text{--}600$  нм способствует разрыву (или ослаблению) связей пигмент-белковых комплексов. Это фотодинамическое действие оптического излучения фиксировалось методами электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), а также оптической спектроскопии (по изменению спектров поглощения каротиноидов).

В специально поставленных экспериментах была доказана фотодинамическая природа действия оптического излучения, выявилось изменение обменной энергии кормов, вносимое фотодинамическим действием оптического излучения. Оказалось, что обменная энергия при этом возрастает в среднем на 27%. Этот факт связываем с уменьшением потерь органической части кукурузной муки. По-видимому, из-за разрыва связей с каротином органическая часть муки в меньшей степени уходит в отходы. Оказалось также, что выигрыш от увеличения количества усвоенных протеинов приводит к более быстрому и эффективному росту животных, а некоторое разрушение витаминов после оптической обработки зерновой компоненты комбикорма полностью компенсируется биологически активными добавками к комбикорму, не подвергающимися оптической обработке.

Целью данного обзора является обобщение накопленных фактических данных, совершенствование модели и технологии фотодинамического действия оптического излучения на корма растительного происхождения, особенно на их питательность.

### **1. Фотодинамическое действие оптического излучения на корма растительного происхождения.**

Фотодинамическое действие оптического излучения состоит в необратимом разрушении (деструкции) биологических объектов, содержащих хромофорные группы в присутствии кислорода. Это действие, как правило, сопровождается проявлением триплетных возбуждений радикалов и других эффектов, фиксируемых методом ЭПР. Мука растительного происхождения содержит множество пигментов (в частности, кукурузная мука содержит каротин). Эти пигменты входят в состав пигмент-белковых комплексов. Под действием света, попадающего в полосу поглощения пигмента, происходит оптический переход из основного синглетного состояния в возбужденное синглетное состояние, затем безызлучательный переход в возбужденное триплетное состояние пигмента. В этом состоянии комплекс активно взаимодействует с молекулами кислорода (основное состояние кислорода – триплет). В результате такой реакции происходит распад пигмент-белкового комплекса на пигмент в основном состоянии и перестроенный белок. Перестроенный белок лучше переваривается животными, обменная энергия корма и привесы увеличиваются [1]. Фотодинамический процесс изменения числа неспаренных электронов в облучаемых кормах (регистрируется по интенсивности фотоиндуцированных (ФИ) сигналов ЭПР) описывается кривой с насыщением, близким к мультиэкспоненциальной.

Фотоокислительные реакции сопровождаются конформационными изменениями в структуре белковых глобул, входящих в состав белков муки из зерна кукурузы. Исследованиями кинетики затухания триптофановой фосфоресценции при комнатной температуре (ТФКТ) показано падение начальной интенсивности свечения и среднего времени фосфоресценции в порошках из облученной муки по сравнению с необлученной. Среднее время ТФКТ в нативной муке равно  $180 \pm 15$  мс, а в фотообработанной муке –  $145 \pm 5$  мс. Эти данные свидетельствуют о том, что конформационные изменения затрагивают глубинные участки белковой молекулы, и отображают общее увеличение подвижности белка [2].

Исследована альбумино-глобулиновая фракция белков муки роговидного зерна кукурузы до и после оптической обработки. В результате обработки электрофоретическая подвижность белков этой фракции изменилась. Выявлены различия в параметрах для большинства полос электрофореграмм. В белках муки из зерна оптически обработанной кукурузы обнаружено появление новых полос ( $R_f = 0,312$ ) и полное исчезновение стартовых полос ( $R_f = 0,028; 0,056; 0,111$ ), а также увеличение белкового комплекса с ( $R_f = 0,421$ ).

Количественная оценка электрофореграмм денситометром показала наличие фрагментации и агрегации белков. Выявлены конформационные изменения в белках этой фракции муки, обработанной методом титрования ее лизиновых остатков реагентом 2,4,6-тринитробензенсульфонтом. Реакция тринитрофосфорелирования является чувствительным методом обнаружения конформационных изменений в боковых цепях аминокислотных остатков белков.

Установлено, что после оптической обработки количество недоступных лизиновых остатков значительно снижается –  $0,198 \pm 0,006$  мкмоль/мг белка после обработки против  $0,289 \pm 0,009$  мкмоль/мг белка в контрольных образцах [3]. Изменения также обнаружены в глютеиновой фракции белков муки. Отмечено не только увеличение степени ее растворимости в неденатурирующих растворителях (0,1N-натрийфосфатный буфер pH = 8,0), но и изменение в количестве титруемых сульфгидрильных SH-групп [4]. Так, в этой фракции белков роговидной кукурузы после оптической обработки имелось 7,5 мм/мг белка SH-групп, соответственно в контроле только 1,53 мм/мг белка (данные получены совместно с Е.И. Лупу).

Отмечены изменения в липидах оптически обработанной кукурузной муки. Начальные этапы перекисного окисления липидов выявлены по дополнительному количеству диеновых конъюгатов ненасыщенных жирных кислот –  $0,736 \pm 0,056$  мкмоль/г муки после оптической обработки в сравнении с контрольными образцами  $0,675 \pm 0,015$  ммоль/г муки.

Индукцируемое фотодинамическими процессами перекисное окисление липидов не идет до конца с образованием малонового альдегида, а останавливается на первой стадии –  $0,756 \pm 0,004$  ммоль/г муки против нефотообработанной муки  $0,710 \pm 0,108$  ммоль/г муки ( $P < 0,05$ ). При исследовании доступности крахмала роговидного зерна кукурузы к действию фермента амило-глюкозидазы существенной разницы образцов оптически обработанной и необработанной муки не обнаружено. Так, скорость гидролиза в обработанной муке составила  $11,028$  ммоль. мин<sup>-1</sup>, в контрольном образце –  $10,658$  ммоль. мин<sup>-1</sup>. Не обнаружено разницы в этих образцах по растворимости крахмала и содержанию декстрина (данные получены совместно с Е.И. Лупу). Изменения в конформационных свойствах белков оптически обработанной кукурузной муки обнаружены по изменению их сродства к протеолитическим ферментам, особенно пепсину. Установлено, что при использовании в качестве субстрата альбумино-глобулиновой фракции белков оптически обработанной кукурузной муки происходит увеличение максимальной скорости гидролиза пепсином  $V_{\max} = 3,92$  ммоль. мин<sup>-1</sup> и снижение константы Михаэлиса-Ментена  $K_m = 0,26$ . У контрольного образца соответственно  $V_{\max} = 3,03$  ммоль. мин<sup>-1</sup> и  $K_m = 0,29$  [3].

В результате фотообработки происходит распад пигмент-белковых комплексов. В зерновых кормах они представлены в основном каротин-протеиновыми и рибопротеиновыми комплексами. В кормах из сушеных листьев растений это также комплексы хлорофилла и белка. Эффект разделения пигмент-белковых комплексов констатируется появлением в экстрактах дополнительно свободных пигментов и белков [5].

Полученные результаты изменений в физическом и химическом составе доступных аминокислот, белков, липидов и пигментов позволили предположить, что оптическая обработка положительно влияет на питательность кормов, что и подтвердилось в дальнейших исследованиях.

## **2. Технология оптической обработки кормов растительного происхождения**

Разработанная и апробированная в экспериментах и производственных опытах при откорме бройлеров фотодинамическая технология повышения обменной энергии в кормах растительного происхождения имеет ряд отличительных операций. Способ включает измельчение корма и его электромагнитное облучение, осуществляемое в диапазоне длин волн ( $\lambda = 315-600$  нм), соответствующему диапазону поглощения основных пигментов корма (каротина, рибофлавина, хлорофилла и др.)

Использовалось облучение интенсивностью  $0,10-0,15$  Вт·см<sup>-2</sup> в течение 20–30 мин в воздушной среде при комнатной температуре. Фотодинамическое действие оптического излучения сопровождается появлением фотоиндуцированных сигналов электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Интенсивность ФИ сигналов ЭПР коррелирует со степенью фотодинамического действия на питательность корма (по данным испытаний по кормлению животных).

В качестве примера конкретного применения метода описан опыт выявления взаимосвязи интенсивности фотообработки (по ФИ сигналам ЭПР) с питательностью муки (по привесам растущих белых крыс).

В качестве источника электромагнитного излучения использовались лампы ДРИШ-4000 с фильтрами. Мощность ламп 4 кВт. Кукурузная мука готовилась из зерна, богатого каротином (гибридов роговидной кукурузы). Время облучения муки: 8, 15, 25 и 30 мин. Масса муки до 10 кг для каждой группы готовилась при тщательном перемешивании и хранилась в течение месяца в темном сухом помещении. Наличие ФИ сигналов ЭПР регистрировалось радиоспектрометром РЭ-1307. Учитывалось отношение амплитуды первой производной сигнала ЭПР исследуемого объекта к амплитуде первой производной сигнала ЭПР марганца (MgO·Mn<sup>+2</sup>). Снятия спектров ЭПР для всех образцов производились при одинаковом уровне СВЧ-мощности в резонаторе. Для выявления питательности

фотообработанного корма проводилось его скармливание в составе полноценного рациона растущим белым крысам линии Вистар (самцам) со средним весом каждого объекта 130–150 г. Опыт продолжался 30 дней. Индивидуально учитывалось количество съеденного животными корма ежедневно и их вес – еженедельно. В эксперименте выявлена пропорциональная зависимость между степенью фотообработки муки (по интенсивности ФИ сигналов ЭПР в единицах "марганца") и привесами животных вследствие увеличения питательности кормов. Лучшим режимом фотообработки кормовой муки, обеспечивающим достоверное увеличение ее питательности по привесам, оказался режим, где (ФОКМ) продолжалась 30 мин, а интенсивность ФИ сигналов ЭПР имела насыщение по величине. Дополнительный привес составил 127 % ( $P < 0,01$ ) [1].

Фотодинамическая технология обработки кормов растительного происхождения увеличивает питательность кормов благодаря процессам повышения концентрации обменной энергии в кормах.

В опытах на растущих белых крысах установлено, что концентрация обменной энергии на 1 г сухого вещества рациона (с включением 65 % фотообработанной муки из зерна кукурузы) составляет  $3,86 \pm 0,029$  ккал против контроля  $3,64 \pm 0,021$  ккал ( $P < 0,05$ ) [2]. Установлено, что фотообработка существенно увеличивает концентрацию обменной энергии муки из зерна кукурузы для бройлеров, которая составила 19,9 кДж/г корма или на 27 % больше, чем в нативной (нефотообработанной) муке. Исследования содержания переваримого азота белка показали, что в 1 г нативной кукурузы содержится 7,4 мг азота (или 42,9 мг белка), а в фотообработанной муке соответственно 8,4 мг азота (или 48,7 мг переваримого белка), то есть 113,5 %.

Потери аминокислот лизина и аргинина в остатках и продуктах обмена меньше по группе бройлеров, получивших фотообработанный корм (соответственно аминокислот заданного корма 48,5 и 31,5% в контрольной группе и 40,5 и 31,5 % в группе, где скармливали фотообработанные корма [3].

В связи с экологическими проблемами возникает вопрос: не являются ли фотообработанные ингредиенты рациона животных вредными? Действительно, фотодинамическая модель повышения питательности кормов предусматривает, что поглощение света видимого диапазона пигментами растительных объектов приводит к возникновению активных форм кислорода с накоплением долгоживущих радикалов, регистрируемых как ФИ сигналы ЭПР. Время жизни возбужденных состояний – ( $10^6 - 10^7$ ) с [6, 7]. Вместе с тем показано, что при переваривании животными фотообработанной муки из семян кукурузы происходит тушение ФИ сигналов ЭПР. Имеются гипотезы ферментативного и неферментативного механизма этого явления в зависимости от рН и буферного состава среды окружения. Соответственно дано обоснование безвредности мясных продуктов от бройлеров, вскормленных с использованием фотообработанных кормов. Обоснованы длительные (до 30 дней) сроки хранения таких кормов в стандартных условиях комбикормового производства.

Животные, имеющие наибольшую начальную скорость роста, максимально используют обменную энергию фотообработанных кормов. В наших опытах, если начальная скорость роста в группе быстро растущих животных существенно превышала скорость роста в группе медленно растущих то эффект фотообработанных кормов по влиянию на привесы растущих белых крыс и снижению затрат кормов возрастал на 7–18%. Как кормовое средство широко используется ячменная мука, особенно для свиней и птиц. Установлено, что и фотообработка существенно увеличивает скорость роста и конечную живую массу животных ( $P < 0,01$ ). В условиях Молдовы в 1992 году в связи с хранением влажного зерна пшеницы часть его оказалась загрязненной микотоксином дезоксиниваленолом (ДОН) и непригодной для кормления. С помощью фотообработки муки из семян пшеницы, загрязненной микроскопическими грибами *Fusarium graminearum* и продуктами их метаболизма микотоксином ДОН, удалось обезвредить токсичное действие ДОН на выживаемость эмбрионов и увеличить выход вылупившихся при инкубации цыплят [8].

### **3. Алиментарный фотодинамический эффект (АФДЕ)**

В организме растущих животных под влиянием скармливаемых рационов с включением фотообработанных ингредиентов наблюдаются явления АФДЕ, в том числе увеличение массы мышечной ткани в тушке, повышение концентрации свободных аминокислот в плазме крови и увеличение содержания аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в скелетных мышцах.

Молекулярная модель связи приростов массы тела животного при АФДЕ с изменениями в растительном сырье, вызванных фотоокислительными и фотовосстановительными процессами, с учетом данных по обмену веществ и энергии, может быть следующая: процесс фотосепарационного разделения пигмент-липид-белковых комплексов приводит к увеличению эффективности действия пищеварительных ферментов животного на корма, освобождению заряженных основных аминокислот и цистина, появлению диеновых конъюгатов гидроперекисей липидов, увеличению переваримости и

обменной энергии кормов. В дальнейшем изменение анионно-катионного состава крови (накопление основных аминокислот, появление белков с щелочными свойствами, уменьшение свободного хлора в плазме крови и другие) приводит к снижению концентрации разобщителей митохондриального фосфорилирования, увеличению АТФ в скелетных мышцах организма, снижению теплопотерь, а в конечном счете – к увеличению чистой энергии прироста массы тела животного [2].

#### **4. Оптическая технология обработки кормов в производстве мясных продуктов при выращивании бройлеров**

Эффект наращивания живой массы и снижения затрат кормов при использовании фотообработанных ингредиентов в рационах растущих животных является перспективным для решения некоторых вопросов производства мяса в сельском хозяйстве.

На комбикормовых предприятиях есть возможность сочетать технологию фотообработки кормов с изготовлением полнорационных кормосмесей.

Испытания эффективности фотодинамической технологии повышения обменной энергии кормов растительного происхождения проводились в условиях Кишиневской государственной птицефабрики в 1984-1990 гг. при откорме цыплят-бройлеров на поголовье свыше 4 тысяч. птицы. Фотообработка муки из зерна кукурузы, глютена и муки из листьев люцерны производилась на специальных установках ФОК-2, ФОК-2А и ФОК-3.

Установка для фотообработки кормов ФОК-3 представляет собой оптико-механическое устройство, работающее на электроэнергию и предназначенное для обработки растительных кормов с целью повышения ее питательности. Используется оптическое излучение, приводящее в результате фотоокислительных и фотовосстановительных процессов к разрушению прочных пигмент-белковых связей в корме. Это в свою очередь приводит к лучшей переваримости корма и способствует росту мышечной ткани при общем снижении теплопотерь животных, и в конечном счете к увеличению чистой энергии прироста массы тела.

#### **Технические данные установки следующие:**

Масса (кг) – 500; габаритные размеры (мм) – 2000 × 1700 × 900; производительность при смешивании кормов (кг/час) – 100; производительность при оптической обработке муки (кг/час) – 50; напряжение в сети питания (В) – 380/220; затраты электрической энергии на обработку 100 кг муки (кВт·ч) – 18; процесс обработки – непрерывный.

*Эффективность использования установки ФОК-3 на Кишиневской госптицефабрике. Корм – мука из зерна кукурузы*

Показатели	С обработкой корма	Без обработки корма
Сохранность бройлеров в возрасте 50 дней (%)	97	95
Средний живой вес бройлеров в возрасте 50 дней (г)	1540	1290
Затраты комбикорма на 1 кг прироста живой массы (кг)	1,725	2,070
Обменная (метаболическая) энергия кукурузной муки, измеренная на взрослых бройлерах (кДж на 1 г муки)	19,9	15,7

Хорошие результаты могут быть получены также для муки из зерна ячменя, сухого кукурузного глютена, протеинового зеленого концентрата из люцерны. Количество кукурузной муки, обработанной на установке ФОК-3, составляет 45–60% состава комбикорма.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Коварский Вал.А., Филипп Б.С. Фотообработка кормов из кукурузной муки при высоких энергиях возбуждения // Электронная обработка материалов. 2001. № 3. С. 43–47.
2. Коварский Вал.А., Коварский В.А., Бережинский М.Я., Филипп Б.С. и др. Алиментарный фотодинамический эффект и его значение в кормлении животных // Энергетическое питание сельскохозяйственных животных / Сборник научных трудов ВНИИФ и БПС/Х животных. Боровск, 1987. Т. 34. С. 147–154.

3. Коварский Вал.А., Луну Е.И., Филипп Б.С., Шапиро Ф.И. Обменная энергия фотообработанной кукурузной муки // Изв. АНМ. Сер. биол. и хим. наук, 1991. № 3. С. 42–47.
4. Аналитическое изoeлектрическое фокусирование белков в полиакриламидном геле. Сульфгидрильные группы белков и пептидов // Практикум по биохимии / Учебное пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. Изд. 2-е перераб. и доп. М., 1989. С. 98–101, С. 157–161.
5. Коварский Вал.А., Коварский В.А., Филипп Б.С. Фотохимические электронные процессы при обработке растительных материалов // Электронная обработка материалов. 1995. № 5–6. С. 89–92.
6. Бузов В.Н., Коварский В.А., Коварский Вал.А. Фотодинамическая природа долгоживущих фотоиндуцированных сигналов ЭПР семян кукурузы // Биофизика, 1989. Т. 33. Вып. 1. С. 137–138.
7. Коварский Вал.А. Тушение долгоживущих фотоиндуцированных сигналов ЭПР в муке из семян кукурузы в результате вскармливания животным // Электронная обработка материалов. 2001. № 5. С. 75–60.
8. Коварский Вал.А., Филипп Б.С., Саевская Л.С. Метод оптической обработки кормов для бройлеров, содержащих микотоксин дезоксиниваленил (вомитоксин) // Изв. АНМ. Сер. биол. и хим. наук. 1997. № 3. С. 74–77.

*Поступила 13.08.02*

### **Summary**

It is described the photodynamic influence of optical visible rays on vegetable origin fodders. The photodynamic technology of elevation of the metabolic energy on the basis of the pigment-protein complexes separation is elaborated. The process of separation is leading to better availability of pigment-protein complexes to animals' enzymes. It is discovered the phenomenon of the alimentary photo-dynamic effect in animals' organism resulting in concentration of the musculature, elevation of free amino-acids in plasma and of the ATP in skeleton muscles. The installation for fodders treatment is elaborated, produced and approbated. The effectiveness of the installation is demonstrated on broilers.

---