
ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Вал. А. Коварский

ТУШЕНИЕ ДОЛГОЖИВУЩИХ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ СИГНАЛОВ ЭЛЕКТРОННОГО ПАРАМАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА В МУКЕ ИЗ СЕМЯН КУКУРУЗЫ В РЕЗУЛЬТАТЕ ВСКАРМЛИВАНИЯ ЖИВОТНЫМ

*Институт физиологии и санокреотологии АН РМ,
ул. Академией, 1, г. Кишинев, МД-2028, Республика Молдова*

Фотообработка предусматривает воздействие оптического излучения видимого диапазона на корма животных с целью повышения питательности и увеличения производства пищевых продуктов животноводства.

В связи с экологическими проблемами существует вопрос о безвредности фотообработанных ингредиентов рациона животных. 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 фотоиндуцированные (ФИ) сигналы электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Время жизни возбужденных состояний – (10^6 – 10^7) с [1, 2].

Известно, что супероксидные анионы радикалов являются фактором риска в организме. Например, согласно свободно-радикальной теории старения супероксидные анионы кислорода и перекисные соединения приводят к патологиям, имеющим отношение к генезису некоторых неинфекционных заболеваний [3–5].

Поэтому представляет интерес выявить возможный механизм тушения радикалов кислорода при вскармливании фотообработанных кормов животным. Слюна животных является одним из барьеров, обеспечивающих обезвреживание вредных веществ пищи. Регуляция организмом работы слюнных желез обеспечивает адекватное изменение физических свойств и химического состава слюны при вскармливании того или иного рациона.

Целью наших исследований являлось выяснение возможности тушения долгоживущих ФИ сигналов ЭПР кормов в организме животных, безвредность полученных мясных продуктов, а также стабильность ФИ сигналов ЭПР кормов при хранении.

Методика экспериментов

1. Тушение долгоживущих ион-радикалов фотообработанной муки в организме животных.

Фотообработанный корм в составе полноценного рациона скормливается животным; полученные фекалии высушиваются, размалываются, подвергаются фотообработке и последующему выявлению ФИ сигналов ЭПР.

Исследуемый материал. Мука мелкого помола из семян зубовидной, богатой каротиноидами кукурузы; сухие размолотые фекалии животных.

Оборудование. Спектрометр РЭ 1307 с точностью измерений $5 \cdot 10^{10}$ спин.Э⁻¹. Внутренний стандарт: ионы Mn^{2+} в кристалле MgO . Лампы ДКСШ-1000-2, ДКСТ-10000. Набор стеклянных фильтров света в диапазоне 315-700 нм, сушильный шкаф, мельница для размолки образцов, термометр, весы, стеклянная посуда.

Подопытные животные: растущие белые крысы линии Вистар; две группы по 10 животных в каждой, аналогичные по полу, возрасту, происхождению, живой массе.

Рацион кормления каждого животного в сутки: 20 г кукурузной муки; 10 г творога; 12 г свеклы или моркови; витамины А, Д, Е (витамины Д₃–10 и.е.). Животные содержались индивидуально, в клетках с поилками.

Порядок выполнения работ. Муку мелкими порциями, тонким слоем, облучали лампой ДКСШ-1000-2 под фильтрами в диапазоне 315–700 нм. Время обработки – 20 мин. Температура на поверхности образцов $t \approx 30^{\circ}\text{C}$. Эффективность обработки контролировалась по насыщению муки долгоживущими ФИ сигналами ЭПР. Измерения для всех образцов проводились при постоянной мощности СВЧ-резонатора спектрометра. Корма ежедневно индивидуально взвешивались и скармливались, остатки учитывались. Различие в рационе кормления: опытные животные получали фотообработанную муку кукурузы; контрольные соответственно нативную (нефотообработанную) муку. Продолжительность опыта – 15 суток. Животных индивидуально взвешивали в начале и после окончания опыта. В течение последних трех дней опыта собирали фекалии животных, взвешивали, сушили при 105°C до постоянного веса и размалывали. Сухие размолотые фекалии облучали лампой под фильтрами в диапазоне 315–700 нм в течение 20 минут. Температура на поверхности образцов составляла $+30^{\circ}\text{C}$. Для обнаружения спектрометром ФИ сигналов ЭПР использовали препараты фотообработанных и нативных фекалий.

Выявление эффективности замачивания фотообработанной муки в различных средах на сохранность ФИ сигналов ЭПР.

Выясняли интенсивность ФИ сигналов ЭПР фотообработанной муки после экспозиции в различных средах (вода, слюна человека) с последующей сушкой и помолом образцов.

Исследуемый материал: мука из семян кукурузы.

Оборудование: спектрометр РЭ-1307, лампы ДКСШ-1000-2 с набором стеклянных фильтров света в диапазоне 315–700 нм; рН-метр милливольт–метр рН 121 со стеклянным электродом и набором стандартных сред; водяная баня, центрифуга с охлаждением, сушильный шкаф, термометр, весы аналитические.

Реактивы: дистиллированная вода (рН=5,5), свежая слюна человека (рН=6,7-7,1).

Лакмусовая бумага, лед.

Порядок работы. Проводится фотообработка муки из зерен кукурузы с использованием ламп ДКСШ-1000-2 под фильтрами в диапазоне 315-700 нм в течение 20 минут. Спектрометром измеряется интенсивность сигналов ЭПР фотообработанной и нативной муки. В водяную баню со льдом помещают 12 пробирок в штативе: 6 пробирок содержат по 2 см^3 дистиллированной воды и 6 пробирок содержат по 2 см^3 слюны человека. Добавляют и перемешивают по 0,5 г нативной муки соответственно в 3 пробирки с дистиллированной водой и в 3 пробирки, содержащие слюну человека. Аналогично добавляют и перемешивают по 0,5 г фотообработанной муки соответственно в 3 пробирки, содержащие воду и в 3 пробирки, содержащие слюну человека. Штатив с пробирками переносят в водяную баню при температуре $+30^{\circ}\text{C}$ на 10 минут.

После термостатирования и последующего охлаждения (0°C) все пробы центрифугируют; супернатант сливают; осадок сушат до постоянного веса при температуре $t \approx 105^{\circ}\text{C}$. В сухих остатках определяют интенсивность сигналов ЭПР.

3. Исследование качества мяса бройлеров, вскормленных с использованием фотообработанных кормов.

Для исследования использовались туши бройлеров, вскормленных с использованием фотообработанных ингредиентов в составе полноценных комбикормов.

Результаты влияния фотообработки на выживаемость, скорость роста, затраты кормов и категориальность туш бройлеров ранее опубликованы [6].

В данном сообщении приведены результаты исследования качества мяса опытной партии бройлеров, выполненных специалистами Республиканской ветбаклаборатории по ГОСТ 7702.0-7702.74.

Исследовано 6 тушек бройлеров. Проведены органолептические оценки туш, физико-химические исследования, микробиологический и бактериологический анализ мяса.

4. Использование параметра стабильности долгоживущих ФИ сигналов ЭПР кормов.

Фотообработанные корма используются как ингредиенты комбикормов. При хранении, переработке и транспортировке комбикормов техническим показателем качества фотообработанных ингредиентов, кроме известных стандартов полноценности, является интенсивность ФИ сигналов

ЭПР. При этом время стабильности долгоживущих сигналов ЭПР является главным параметром, определяющим сроки хранения и использования фотообработанных кормов.

Задача исследования – выявление качества фотообработанных ингредиентов, сохраняемых в течение месяца в условиях, приближающихся к требованиям, принятым в комбикормовой промышленности.

Порядок выполнения работ: 200 кг муки из зерна зубовидной кукурузы подвергались фотообработке на установке ФОК с использованием ламп ДКСТ-10000 и фильтров в режиме, обеспечивающем насыщение ФИ сигналов ЭПР в муке. Фотообработанную муку упаковывали в бумажные мешки по 20 кг в каждом и хранили в течение 30 дней в сухом, чистом и проветриваемом помещении при температуре +18+20⁰С. Периодически в пробах муки измеряли интенсивность ФИ сигналов ЭПР.

Ежедневно отбирали партию муки для скармливания животным, проведения биологической оценки по привесам и поедаемости животными. Для этого по принципу аналогов сформировано две группы поросят по шесть в каждой, средним весом по 20–22 кг в возрасте 2–2,5 мес.

В состав основного рациона, кроме муки из зерна кукурузы, были включены (в сутки на 1 животное): 1,5 л цельного коровьего молока, 0,7 кг свеклы или моркови, 0,03 кг минеральной смеси, витамины А, Д, Е (витамин Д₂ – 30 и.е.). Животные контрольной группы получали 1 кг нативной (нефотообработанной) муки; животные опытной группы – соответственно 1 кг фотообработанной муки из зерна кукурузы. В течение опыта учитывали расход кормов, динамику живой массы, убойный вес.

Результаты

1. В опыте фотообработанная мука имела ФИ сигнал ЭПР 1,0. ед. “марганца”, что в 2 раза больше, чем в нативном образце – 0,5 ед. “марганца”. Скармливание фотообработанной муки в составе полноценного рациона растущим белым крысам линии Вистар увеличило скорость роста на 17% , снизило затраты кормов на единицу привеса на 15% (табл. 1).

Таблица 1. Влияние фотообработки муки из зерна кукурузы на показатели роста вскармливаемых растущих белых крыс линии Вистар и на затраты кормов

Группа	Количество животных	Рацион кормления животных	Средний исходный вес одного животного, г	Средне суточный привес за период опыта		Питательность съеденных кормовых единиц на одно животное в сутки	Затраты кормовых единиц на 1 кг привеса	
				г	%		к.ед.	%
I	10	О.Р.+фотообработанная мука	154,2	5,02	117	0,344	6,9	85
II	10	О.Р.+ативная мука кукурузы	149,0	4,28	100	0,0332	7,8	100

Примечание: О.Р. – основной рацион

Кормовая единица – питательность 1 кг овса среднего качества (ГОСТ, 1933 г.).

Высушенные фекалии опытных и контрольных животных не различались по цвету и консистенции. Установлено, что в организме при переваривании фотообработанного корма происходит тушение ФИ сигналов ЭПР при исследовании темновых сигналов ЭПР собранных и высушенных фекалий крыс опытной и контрольной групп зарегистрирована интенсивность сигнала ЭПР соответственно 5,3±0,1 и 5,4±0,1 единиц “марганца”. Показатели одинаковы в пределах допустимой точности.

Полученные в результате переваривания кормов фекалии инертны для воздействия на них светом по технологии фотообработки и составляют (5,3–5,4)±0,1 единиц “марганца” для опытной и контрольной групп крыс.

2. Исследованиями нативной, замоченной в дистиллированной воде, высушенной кукурузной муки установлена интенсивность сигнала ЭПР $0,5 \pm 0,1$ ед. “марганца”, q – фактор 2,0042, ширина линии сигнала ЭПР $\Delta H=8,5$ гс. Соответственно фотообработанная мука, замоченная в воде ($pH=5,5$), имела показатели: $1,0 \pm 0,1$ ед. “марганца”, q – фактор 2,0052 $\Delta H=9,8$ гс. Таким образом, после замачивания в воде и высушивания фотообработанная мука сохраняла свои новые качества, полученные в результате фотообработки при этом наблюдалось: увеличение интенсивности сигнала ЭПР, увеличение ширины линии сигнала ЭПР и сохранение на прежнем уровне q – фактора.

Фотообработанная мука, замоченная в слюне, а затем высушенная, имела интенсивность сигнала ЭПР $0,4 \pm 0,1$ единиц “марганца”, q – фактор 2,0043, ширина линии сигнала ЭПР – $\Delta H=9,6$ гс.

Таким образом, при замачивании в слюне с последующей сушкой фотообработанной муки интенсивность ФИ сигнала ЭПР муки уменьшилась до уровня темного (основного) сигнала, различия в q – факторе и ширине линии сигнала ЭПР незначительны (в пределах допустимой точности).

3. При ветсанэкспертизе качества мяса бройлеров, вскормленных с использованием фотообработанной муки, установлено, что в соответствии с ГОСТ 7702.0-7702.74 органолептические, физико-химические, микроскопические и бактериологические качества мяса птицы соответствуют свежему доброкачественному мясу. Стандартными методами показано, что реакция на наличие аммиака и солей аммония отрицательная (нормальная); перекисное число жира не более 0,01 (нормальное); кислотное число не более 1,0 (нормальное). Микроскопический анализ мазков-отпечатков установил единичные кокки. Согласно бактериологического анализа патогенной микроформы в образцах не содержится.

4. ФИ сигналы ЭПР муки при хранении в течение 30 дней в бумажных крафт-мешках в условиях сухого проветриваемого помещения колеблются в пределах исходных величин перед хранением и составляют $1,0 \pm 0,1$ ед. “марганца”, q – фактор 2,004, ширина линии сигнала ЭПР $\Delta H=8-9$ гс.

Биологическая оценка качества корма при хранении выявлялась при вскармливании фотообработанного корма пороссятам.

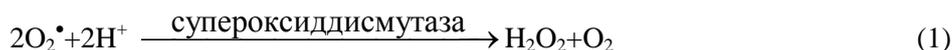
Результаты выращивания (табл. 2) показывают, что фотообработанная мука обеспечила ускорение роста и снижение затрат кормов. Привесы опытной группы поросят были выше на 17%, чем привесы контрольной группы, а затраты кормов в рационе на единицу привеса были ниже у животных опытной группы на 15%, чем у животных контрольной группы. При изучении качества туш установлено снижение убойного веса у поросят контрольной группы на 4% по сравнению с убойным весом у поросят опытной группы ($77 \pm 0,5\%$, $73 \pm 0,9\%$).

Таблица 2. Влияние фотообработки муки из семян кукурузы на откормочные качества вскармливаемых поросят-отъемышей крупной белой породы

Группа	Рацион кормления животных	Питательность съеденных кормов, к.ед. на животное в сутки	Количество животных в группе, шт.	Средний возраст, месяцев	Средний расходный вес одного животного, кг	Среднесуточный привес одного животного за период опыта		Затраты кормовых единиц на 1 кг привеса	
						г	%	к.ед.	%
I	О.Р. + фотообработанная мука	1,85	6	2-2,5	20-22	491	117	3,76	85
II	О.Р. + нативная мука	1,85	6	2-2,5	20-22	420	100	4,40	100

Обсуждение

В процессе эволюции аэробных организмов выработаны биохимические механизмы защиты от супероксидных радикалов кислорода и перекисей путем синтеза взаимосвязанных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы [4, 5, 7, 10, 11].



Здесь O_2^{\bullet} – супероксидный радикал кислорода; H_2O_2 – перекись водорода; H^+ – протон водорода среды окружения; H_2O – вода, O_2 – молекулярный кислород.

Активность каталазы наибольшая при слабощелочной реакции окружающей среды. В зерне для каталазы отсутствует оптимум pH среды окружения. Это положение, на наш взгляд, имеет значение для понимания механизма обезвреживания кислородных радикалов слюной. Можно полагать, что тушение долгоживущих ФИ сигналов ЭПР задерживается из-за отсутствия оптимальных условий реализации реакции (1) и (2), то есть образования и разрушения перекиси водорода каталазой. Этим обеспечиваются длительные сроки хранения ФИ сигнала ЭПР в муке кукурузы. Известно, что в муке зерна кукурузы кислотные элементы преобладают над щелочными, что составляет соответственно сумму грамм-эквивалентов основных – 0,200, а кислотных – 0,370 [8]. Однако, при смешивании фотообработанной муки со слюной во рту животного, слабо-щелочная pH слюны является фактором оптимизации условий для увеличения активности каталазы муки, и в конечном счете, всех звеньев реакции (1) и (2), сдвигая ее константу равновесия, ускоряя тушение радикалов кислорода.

Буферные системы слюны (белки, ионы и др.) могут также осуществить неэнзиматическое тушение радикалов активного кислорода. Так, при фотообработке пигмент-белковых комплексов, входящих в состав простетических групп ферментов, например, флавопротеидов оксигеназ, возможна известная цепь реакций. Под влиянием фотообработки, флавины FN_2 реагируют с кислородом по радикальному механизму [9]. Сначала образуются семихиноны FN^{\bullet} и супероксидный радикал O_2^{\bullet} , а затем пергидроксильный анион HO_2^{\bullet} полностью окисляет флавины:



Промежуточной реакцией является образование пергидроксильного иона HO_2^{\bullet} с использованием активного кислорода:



В этом случае конечным результатом реакции является перекись водорода. Реакции (3), (4), (5) происходят неэнзиматически при комнатной температуре.

Можно полагать, что при добавлении слюны и смешивании ее с фотообработанной мукой, буферные системы нейтрализуют перекись водорода, сдвигают константу равновесия реакций (3), (4), (5), чем в конечном счете ускоряют тушение радикалов семихинонов и активного кислорода.

Автор выражает благодарность Е.Ю. Конаровскому за ценные замечания и обсуждение результатов.

Заключение

При фотообработке кормов возникают долгоживущие фотоиндуцированные (ФИ) сигналы электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Время жизни $\sim 10^6$ – 10^7 с.

Показано, что при переваривании животными фотообработанной муки из семян кукурузы происходит тушение ФИ сигналов ЭПР. Предложены гипотезы ферментативного и неферментативного механизма этого явления в зависимости от pH и буферного состава среды окружения. Дано обоснование безвредности мясных продуктов бройлеров, вскормленных с использованием фотообработанных кормов, обоснованы сроки хранения таких кормов; приводятся результаты влияния вскармливания фотообработанными кормами на скорость роста, и убойный вес поросят-отъемышей, а также на затраты кормов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бузов В.Н., Коварский В.А., Коварский Вал.А. Фотодинамическая природа долгоживущих фотоиндуцированных сигналов ЭПР семян кукурузы // Биофизика. Т. 33. В. 1. 1989. С. 137–138.
2. Коварский Вал.А., Коварский В.А., Филипп Б.С. Фотодинамическая модель повышения обменной энергии в кормах растительного происхождения (англ.) Kovarsky Valentin A., Kovarski Victor A., Philipp Boris S. Photodynamic model of metabolizable energy growth in food of vegetable origin // Электронная обработка материалов. 1999. № 4. С. 65–72.

3. Зотин А.И., Зотин Р.С. Феноменологическая теория развития роста и старения организма. М., 1993. С. 261–266.
4. Fridovich J. The biology of oxygen radicals: The superoxides provide an important defense // Science, 1978. Vol. 201. N 4359. P. 875–880.
5. Ленинджер А. Основы биохимии. 1985. М., Т. 1. С. 259; Т. 2. С. 522.
6. Коварский Вал.А., Коварский В.А., Бережинский М.Я. и др. Энергетическое питание сельскохозяйственных животных // Сборник научных трудов ВНИИФ и БП с/х животных. Боровск, 1987. Т. 34. С. 147–154. Алиментарный фотодинамический эффект и его значение в кормлении животных.
7. Strother W.C. The roll of free radicals in leaf senescence // Geratology, 1988. Vol. 34. N 3. P. 151–156.
8. Минеральный состав кормов. ВНИИЖ. М., 1967. С. 232–233.
9. Метелица Д.И. Активация кислорода ферментными системами. М., 1982. С. 60–61; 64–65.
10. Блюменфельд Л.А. Проблемы биологической физики. М., 1977. С. 183–199.
11. Янковский О.Ю. Токсичность кислорода и биологические системы. Санкт-Петербург, 2001.

Поступила 18.06.2001

Summary

During the photo-treatment of forage the long-term photo-induced signals (PIS) of the electronic paramagnetic resonance (EPR) are observing (10^6 - 10^7 s). It is demonstrated, that during digesting of the photo-treated meal from the maize seeds the extinguishing of the PIS appears. The process is going during mixing of forage with saliva. The substantiations of alimentary safeness of meat products from birds reared with photo-treated forage, as well as terms of storage of such products, is given.

Е. К. Севидова, В. И. Здыбский*, П. С. Доронин*

ОБ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИГЛ В ПРОЦЕССЕ ЭЛЕКТРОАКУПНКТУРЫ

*Национальный технический университет,
ул. Фрунзе, 21, г. Харьков, 61002, Украина*

**Харьковская медицинская академия последипломного образования,
ул. Корчагинцев, 58, г. Харьков, 61176, Украина*

Введение

Электроакупунктура (ЭАП) используется в практике рефлексотерапии прежде всего с целью усиления лечебного воздействия акупунктуры (АП) [1]. В связи с этим известно ее применение для достижения некоторых эффектов, невозможных при АП (например, процессы электродиагностики, диатермокоагуляции и электрообезболивания в зубных каналах) [2].

В рекомендациях по реализации метода ЭАП, как правило, указывается сила лечебного тока, длительность его наложения и полярность. По поводу влияния последнего параметра на терапевтическое воздействие сложились разноречивые мнения [3], что ограничивает внедрение ЭАП в медицинскую практику.

Одной из причин таких разногласий, на наш взгляд, может быть факт неучтенности характера химико-физических процессов, происходящих на границе электрода (иглы) и жидкой среды мышеч-