



UDC 615.9:636.087.7

THE PARAMETERS' DETERMINATION OF ACUTE TOXICITY OF FOOD ADDITIVE «BIOSTIM 40» FOR RATS

I. O. Zhukona, A. V. Sobakar, S. L. Antipin, O. S. Kochevenko

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 25.03.2019

Received in revised form
08.04.2019

Accepted 15.04.2019

Kharkiv State Zooveterinary
Academy

Academic Str.1, Malaya
Danilovka, Dergachi district,
Kharkov region, Ukraine,
62341

E-mail:

phiziolog.hdzva@ukr.net

Zhukona, I. O., Sobakar, A. V., Antipin, S. L., & Kochevenko, O. S. (2019). The parameters' determination of acute toxicity of food additive «Biosstim 40» for rats. *Veterinary science, technologies of animal husbandry and nature management*, 3, 207-212, doi: 10.31890/vttp.2019.03.28

Domestic animals have a positive influence on economic and physical human health because the contact with them increases physical activity and decreases arterial pressure, the risk of hypertensive people to have cardiovascular diseases, stress rate, frequency of depressions and increases the level of self-estimation as well as social activity of children and teens.

Nowadays numerous commercial pet foods for domestic animals are developed with exaggeration of minimal recommendations that can cause eating disorders, metabolic disorders and animals' obesity, thus, to ensure the protection for animals it is important to pay attention to pharmacological and toxicological analyses of food additives presenting necessary recommendations of their usage.

To determine the acute toxicity of high-energetic protein, vitamin and mineral food additive "Biosstim 40" there has been carried out a research on grown-up males of white rats with a mass in 200-230 g. Animals have been divided into 7 groups of 8 rats in every (n=56). Food additive has been fed individually to every rat in doses of 2000, 4000, 6000, 10000, 20000 and 30000 mg/kg per body mass. There have been implemented observations of rats' general state, behavior, their orientation, reflexes of hearing and vision, eating and drinking, state of their fur and visible mucous membranes, breathing and excrements – all those factors have shown that even the highest doses of "Biosstim 40" (30000 mg/kg per body mass), being inserted internally through the abdomen, have not caused any clinical cases of poisoning, rats' deaths and, in accordance with international classification of chemical substances, "Biosstim 40" may be enlisted to the 4th level of toxicity – the substance of low toxicity.

Analyzing the dynamic of rats' changing their body mass within 2 weeks it is possible to point out that one-time insertion of high doses of "Biosstim 40" has assisted to increase rats' body mass in 14-33% (p≤0.05), with the help of what we can say that this food additive is effective and safe stimulator of height and development of animals.

Key words: rats, acute toxicity, protein and mineral food additive "Biosstim 40".

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «БИОСТИМ 40» ДЛЯ КРЫС

И. А. Жукова, А. В. Собакар, С. Л. Антипин, Е. С. Кочевенко

Харьковская государственная зооветеринарная академия, Харьков, Украина

Домашние животные благоприятно воздействуют на эмоциональное и физическое здоровье человека, поскольку при контакте с ними повышается активность, снижается артериальное давление и риск сердечнососудистых заболеваний у гипертоников, уровень стресса, частота депрессий, а также повышается самооценка и социальная активность у детей и подростков.

В настоящее время много кормов для домашних животных разрабатываются с превышением минимальных рекомендаций, что приводит к расстройству пищеварения, нарушению обмена веществ и ожирению. Поэтому, в целях безопасности, важное значения приобретает фармако-токсикологическое исследование кормовых добавок с предоставлением необходимых рекомендаций к их применению

Для определения острой токсичности высокоэнергетической белково-витаминно-минеральной кормовой добавки «Биостим 40» опыт проводили на взрослых самцах белых крыс массой 200-230 г. Животные были разделены на 7 групп по 8 голов в каждой (n=56). Кормовую добавку скармливали индивидуально каждой особи в дозах 2000, 4000, 6000, 10000, 20000 и 30000 мг/кг массы тела. Наблюдение за общим состоянием и поведением крыс, выраженностью ориентирования, зрительных и слуховых рефлексов, приемом корма и воды, состояния шерстного покрова, видимых слизистых оболочек, дыхания, природных испражнений показали, что внутрижелудочное введение даже самых высоких доз «Биостима 40» (30000 мг/кг массы, не вызывало клинических признаков отравления и гибели животных и согласно классификации химических веществ по степени безопасности (ГОСТ 12.1.007 – 76), его можно отнести к 4 классу токсичности – малотоксичные вещества. Изучая динамику изменения массы тела крыс в течение двухнедельного периода показало, что однократное введение больших доз «Биостима 40» способствовало повышению массы животных на 14-33% ($p \leq 0,05$), согласно чему можно утверждать, что данная кормовая добавка является эффективным и безопасным стимулятором роста и развития животных.

Ключевые слова: крысы, острая токсичность, белково-минеральная кормовая добавка «Биостим 40».

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ «БІОСТИМ 40» ДЛЯ ЩУРІВ

І. О. Жукова, А. В. Собакар, С. Л. Антіпін, О. С. Кочевенко

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

Дослідженнями встановлено, що доза кормової добавки «Біостим 40» у 30000 мг/кг маси тіла білих щурів, за внутрішньошлункового введення, не викликає клінічних ознак отруєння і загибелі тварин і тому, згідно класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності (ГОСТ 12.1.007 – 76), її можна віднести до 4 класу токсичності – малотоксичні речовини.

Ключові слова: щурі, гостра токсичність, білково-мінеральна кормова добавка «Біостим 40».

Вступ

Актуальність теми. У житті людини неабияку роль відіграють домашні тварини. Вони позитивно впливають на емоційне і фізичне здоров'я, оскільки за контакту з тваринами підвищується фізична активність

людини, знижується артеріальний тиск і ризик серцево-судинних захворювань, рівень стресу, частота депресій, а також підвищується самооцінка у дітей і підлітків та соціальна активність (Swanson, Carter, Yount, Aretz, & Buff, 2013).

Часто на основі споживчого попиту, а не за для потреб у поживних речовинах, багато кормів для домашніх тварин розробляються з перевищення мінімальних рекомендацій, що призводить до порушення обміну речовин і ожирінню тварин і тому при застосуванні кормових добавок і стимуляторів росту необхідно гарантувати їх безпечність. На часі важливе значення набуває фармако-токсикологічне дослідження кормових добавок з наданням необхідних рекомендацій до їх застосування (Ayaso, Ghattas, Abiad, & Obeid, 2014; Rubinskiy, & Petrova, 2012).

Якість кормів є однією із найважливіших умов підвищення продуктивності тварин, поряд з їх санітарно-гігієнічними умовами утримання і кваліфікованим ветеринарним наглядом і тому актуальним є розробка нових кормових добавок і стимуляторів природного походження, дослідження їх безпечності, а також удосконалення умов їх зберігання.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Поняття якості кормів включає в себе сукупність показників хімічного складу корма (вміст вологи, протеїну, вуглеводів, клітковини, жиру, макро- і мікроелементів), а також зміну їх вмісту і властивостей в залежності від строків зберігання, бо саме в процесі зберігання відбувається погіршення якості кормів за хімічними (перекисне і кислотне число) і біологічними (зараженість патогенними бактеріями і грибами) показниками. Усі вони у комплексі відповідають за таку характеристику кормів, як загальна токсичність, тобто здатність продукту в нормальних дозуваннях викликати клініку отруєння (Wu, 2010; Zinchenko, 2014).

Наразі синтезовано велику кількість біологічно активних речовин, які сприяють підвищенню м'ясої і молочної продуктивності тварин, покращенню загального стану організму, повному використанню поживних речовин і використанню азотистих сполук кормів, покращенню травної функції, збільшенню асиміляції кальцію. Крім того, значно ускладнився склад кормів за рахунок пробіотиків, фітоактивних речовин, смакових і ароматичних добавок, амінокислот, ферментів, антиоксидантів та ін (Tarnopolsky, Atkinson, MacDougall, Chesley, Phillips & Schwarcz, 1992; Lemon, 1995; Bokova, 2008; Zdarilova et al., 2008; Lemyaseva, 2013; Yang, Chowdhury, Hou & Gong, 2016).

У годуванні домашніх і сільськогосподарських тварин найбільшу увагу приділяють білковим продуктам із-за важливості протеїну як основного компоненту

біологічно активних сполук у організмі (синтез тканин тіла, ферментів, гормонів та ін.), і тому для встановлення оптимальної концентрації білка у раціоні тварин, для максимізації продуктивності, потребується більше знань про потреби тварин у білку і амінокислотах, їх вплив на показники росту і розвитку та пошуку доступних джерел цих компонентів для збагачення раціону (Beski, Swick, & Iji, 2015). За даними Rotimi1, Rotimi1, Oluwafemi, Ademuyiwa & Balogun (2018) додавання до збідненого на білок раціону щурів білково-вітамінних добавок значно підвищує їх стійкість до токсичного впливу афлатоксину В₁. Інші дослідники довели, що навпаки, застосування підвищеної кількості білку старим щурам відтермінувало саркопенію (втрату м'язової маси).

Вченими встановлено, що неграмотне застосування біологічно активних добавок може привести до тяжких наслідків, тому необхідно відповідально підходити до вибору БАД і контролювати їх можливий вплив на організм. Багато з добавок не пройшли токсикологічне дослідження і потребують надання оцінки безпечності. Крім того, деякі їх компоненти, наприклад соєвий ізолят, можуть викликати алергічні реакції у тварин (Biourge, Fontaine, & Vroom, 2004). У зв'язку з цим, найбільш підходящим методом аналізу є встановлення параметрів гострої токсичності препаратів і біодобавок для лабораторних тварин (Elinskaya, 2011; Sherkuziyeva, Sharipova & Khaydarov, 2016).

Мета роботи – встановити параметри гострої токсичності біологічно активної добавки «Біостим 40» для білих щурів.

Матеріал та методи досліджень

Для визначення гострої токсичності «Біостиму 40» дослід проводили на самцях дорослих білих щурів масою 200-230 г. Контрольних і піддослідних тварин годували за раціонами прийнятими у догляді за лабораторними тваринами (Zapadniuk, Zapadniuk, & Zakhariya, 1974).

Щури були поділені на 7 груп по 8 голів в кожній (n=56). «Біостим 40» згодовували індивідуально кожній тварині у дозах 2000, 4000, 6000, 10000, 20000 і 30000 мг/кг маси тварин. Дози більші за 6000 мг/кг згодовували частинами з перервою на 1-2 години. Контрольним тваринам препарат не задавали. Перед введенням добавки тварин зважували і кількість речовини розраховували індивідуально. Спостереження

за піддослідними щурами проводили впродовж 14 днів для визначення термінів появи клінічних ознак отруєння або загибелі (Kotsyumbas et al., 2006).

Біостим 40 є оригінальною розробкою Технологічного інституту молока і м'яса УААН. Це високоенергетична кормова добавка з унікальним за складом білковим концентратом, виготовленим на основі харчових натуральних білків як тваринного (сухе знежирене молоко), так і рослинного (соєвий ізолят) походження, а також біологічно активних компонентів (ячмінно-солодовий екстракт, метіонін) та набору вітамінів групи В і аскорбінової кислоти.

Додавання до раціону «Біостиму-40» сприяє швидкому розвитку і нарощуванню м'язової маси, покращенню фізичних показників і витривалості за підвищених фізичних навантажень, нормалізації роботи шлунково-кишкового тракту, здоровому і повноцінному розвитку молодняка, правильному формуванню кістяка і зубів, укріпленню і поліпшенню структури хутра, забезпеченню життєво важливих обмінних процесів в організмі, підвищенню опору організму тварин захворюванням, попередженню перевтомлення. Відсутність у складі холестерину і висока засвоюваність попереджає ожиріння і дає можливість використовувати «Біостим 40» за захворювання шлунково-кишкового тракту, шкіри, проблемами із шерстним покривом і апетитом та для лікування травм і переломів кісток (Sobakar, Zhukova, & Lonhus, 2016).

Під час дослідів проводили спостереження за загальним станом і поведінкою тварин, орієнтуванням, зоровими і слуховими рефlekсами, прийомом корму і води, станом шерстного покриву, видимих слизових оболонок, дихання, природних відправлень. Визначення DL_{50} здійснювали методом пробіт-аналізу на комп'ютері за методикою Miller і Tainter (1944) у модифікації В. Б. Прозоровського (Prozorovskiy, 1962).

Результати та їх обговорення

Дослід показав, що при введенні білково-вітамінно-мінеральної добавки «Біостим 40» в дозі від 2000 до 20000 мг/кг маси, клінічні ознаки отруєння були відсутні. Поведінка щурів не змінювалась, апетит, поїдання корму і рухливість тварин не порушувалися. Треба відмітити, що тварини їли таблетки препарату самостійно і з гарним апетитом. Застосування добавки в дозі 20000 мг/кг маси і більше у перший день прийому викликали незначне пригнічення частини щурів і у 3 особин спостерігали діарею. Проте, на 2 добу досліду щури зовнішнім виглядом та поведінкою не відрізнялися від інтактних, але з'явився різкий запах аміаку, що можливо, пов'язано з патогенним впливом на нирки надлишку білка, але загибелі тварин не виявляли у жодній із груп протягом 14-добового спостереження (табл.1).

Паралельно у цьому досліді фіксували динаміку маси тіла щурів протягом 2-тижневого періоду після згодовування препарату «Біостим 40» (табл. 2).

Таблиця 1

Гостра токсичність «Біостиму 40» для білих щурів за внутрішньошлункового введення (n=56)

Доза, мг/кг маси тіла	Кількість щурів у групі, голів	Термін досліджень, днів			
		4 години	1	2	3-14
		кількість загиблих щурів, гол.			
Контроль	8	0	0	0	0
2000	8	0	0	0	0
4000	8	0	0	0	0
6000	8	0	0	0	0
10000	8	0	0	0	0
20000	8	0	0	0	0
30000	8	0	0	0	0

Динаміка маси тіла щурів протягом дослідів із введення кормової добавки «Біостим 40» (M±m, n=8)

Група тварин n=8	Доза, мг/кг маси тіла	Початкова маса тіла щурів, г	Термін досліджень, дів		
			1	2	14
			маса тіла протягом дослідів, г (M±m)		
1	Контроль	209,4±3,3	211,2±5,2	212,3±4,4	222,8±2,4
2	2000	200,2±4,2	202,1±3,2	202,3±2,5	211,1±4,6
3	4000	220,5±4,2	224,4±5,1	224,9±2,1	248,3±4,6
4	6000	216,0±6,1	220,6±2,1	221,5±4,1	243,0±2,2
5	10000	222,0±3,5	222,5±3,7	225,8±5,5	255,0±6,2*
6	20000	200,3±5,5	212,4±2,9	215,6±2,7	267,0±3,4*
7	30000	223,2±4,5	224,8±1,5	235,1±5,3	273,0±2,7*

Примітка: * - p≤0,05

Встановлено, що піддослідні тварини на 14 добу додали у масі тіла, у середньому, на 15,3 %, але найбільші зміни були у 5, 6 і 7 групах (доза препарату 10000, 20000 і 30000 мг/кг маси), у яких маса тіла збільшувалась на 14,9%, 33,3% і 22,3% (p≤0,05) відповідно, у порівнянні з початковою масою щурів, що підтверджує високу поживність і ефективність кормової добавки «Біостим 40»

Висновки

1. Згідно результатів проведеного дослідження, встановлено, що DL₅₀ для вітамінно-мінеральної добавки «Біостим 40» за внутрішньошлункового введення щурам становить більше 30000 мг/кг і її, згідно нормативної документації (ГОСТ 12.1.007 – 76), можна віднести до 4 класу токсичності – малотоксичні речовини.

2. Одноразове введення великих доз «Біостиму 40» (більше 10000 мг/кг маси тіла) сприяє підвищенню ваги тварин на 14-33 % і можна стверджувати, що дана кормова добавка є ефективним стимулятором росту і розвитку тварин.

References

Ayaso, R., Ghattas, H., Abiad, M., & Obeid, O. (2014). Meal Pattern of Male Rats Maintained on Amino Acid Supplemented Diets: The Effect of Tryptophan, Lysine, Arginine, Proline and Threonine. *Nutrients*, 6(7), 2509-2522. doi:10.3390/nu6072509

Beski, S. S. M., Swick, R. A., & Iji, P. A. (2015). Specialized protein products in broiler chicken nutrition: A review.

Anim Nutr. 1(2): 47-53.

doi:10.1016/j.aninu.2015.05.005

Biourge, V. C., Fontaine, J., & Vroom, M. W. (2004). Diagnosis of Adverse Reactions to Food in Dogs: Efficacy of a Soy-Isolate Hydrolyzate-Based Diet. *The Journal of Nutrition*, 134(8), 2062-2064. doi.org/10.1093/jn/134.8.2062S

Bokova, T. I. (2008). Ispol'zovaniye biologicheskii aktivnykh dobavok v ratsione sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh. *Kormleniye sel'skokhozyaystvennykh*

zhivotnykh i kormoproizvodstvo, (9), 61-62 (in Russian)

Elinskaya, O. L. (2011). *Gigiyenicheskiye aspekty primeneniya pishchevykh dobavok (spravochno-metodicheskoye posobiye)*. Tashkent (in Russian)

Kotsyumbas I. YA. et al. (2006). *Doklinichni doslidzhennya veterynarnykh likars'kykh zasobiv*. L'viv : Tryada plus. 63-85, 136-149 (in Ukrainian)

Lemon, P. W. (1995). Do athletes need more dietary protein and amino acids? *International journal of sport nutrition*, 5(s1), 39-561. doi:10.1123/ijns.5.s1.s39.

Lemyaseva, S. V. (2013). Ispol'zovaniye stimulyatorov rosta sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh i bezopasnost' produktov zhivotnovodstva. *Problemy veterinarnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii*, 1(9), 97-101 (in Russian)

Malinin, O. A., Khmel'nitskiy, G. A., & Kutsan, A. T. (2002). *Veterinarnaya toksikologiya : ucheb. posobiye*. Korsun-Shevchenkovskiy: ChP Maidachenko, 464 (in Russian)

Mosoni, L., Gatineau, E., Gatellier, Ph., Migné, C., Savary-Auzeloux, I., Rémond, D., Rocher, E., & Dardevet, D. (2014). High Whey Protein Intake Delayed the Loss of

- Lean Body Mass in Healthy Old Rats, whereas Protein Type and Polyphenol/Antioxidant Supplementation Had No Effects. *PLoS One*, 9(9), e1090-98. [doi:10.1371/journal.pone.0109098](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109098)
- Pressman, P., Clemens, R. A., & Hayes, A. W. (2017). Bioavailability of micronutrients obtained from supplements and food: A survey and case study of the polyphenols. *PLoS One*, 1, 1-7. doi.org/10.1177/2397847317696366
- Prozorovskiy, V. B. (1962). Ispol'zovaniye metoda naimen'shikh kvadratov dlya probit-analiza krivyykh letal'nosti. *Farmakologiya i toksikologiya*, 1-3, 115-120 (in Russian)
- Rotimi1, O. A., Rotimi1, S. O., Oluwafemi, F., Ademuyiwa, O., & Balogun, E. A. (2018). Oxidative Stress in Extrahepatic Tissues of Rats Co-Exposed to Aflatoxin B1 and Low Protein Diet. *Toxicological Research*, 34, 211-220. doi.org/10.5487/TR.2018.34.3.211
- Rubinskiy, I. A., & Petrova, O. G. (2012). Immunnye stimulyatory v veterinarii (teoreticheskiye i eksperimental'nyye osnovy) Retrieved from http://www.kniga.com/books/preview_txt.asp?sku=ebo oks324510 (in Russian)
- Sherkuziyeva, G. F., Sharipova, S. A., & Khaydarov, SH. M. (2016). Rezul'taty izucheniya ostroy toksichnosti «Laktonorm-H (K kaliy)». *Molodoy uchenyy*, 26, 221-223 (in Russian)
- Sobakar, A. V., Zhukova, I. O., & Lonhus, N. I. (2016). Perspektyva zastosuvannya preparatu «Biostym 40» dlya sobak ta kishok. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18(1), 154-157. Retrieved iz <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/63> (in Ukrainian)
- Swanson, K. S., Carter, R. A., Yount, T. P., Aretz, J., & Buff, P. R. (2013). Nutritional Sustainability of Pet Foods. *Advances in Nutrition*, 4(2), 141-150. [doi:10.3945/an.112.003335](https://doi.org/10.3945/an.112.003335).
- Tarnopolsky, M. A., Atkinson, S. A., MacDougall, J. D., Chesley, A., Phillips, S., & Schwarcz, H. P. (1992). Evaluation of protein requirements for trained strength athletes. *Journal of Applied Physiology*, 73(5), 1986–1995. [doi:10.1152/jappl.1992.73.5.1986](https://doi.org/10.1152/jappl.1992.73.5.1986)
- Wu Guoyao. (2010). Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health. *Adv Nutr. Nov*, 1(1), 31-37. [doi:10.3945/an.110.1008](https://doi.org/10.3945/an.110.1008)
- Yang, Ch., Chowdhury, M. A. K., Hou, Y., & Gong, J. (2015). Phytogetic Compounds as Alternatives to In-Feed Antibiotics: Potentials and Challenges in Application. *Pathogens*, 4(1), 137–156. doi.org/10.3390/pathogens4010137
- Zapadnyuk, I. P., Zapadnyuk, V. I., & Zakhariya, Ye. A. (1974). *Laboratornyye zhyvotnyye. Razvedeniye, sodержaniye, ispol'zovaniye v eksperimente*, 304 (in Russian)
- Zdarilova, A., Vrublova, E., Vostalova, J., Klejduš, B., Stejskal, D., Proskova, J., ... Simanek, V. (2008). Natural feed additive of *Macleaya cordata*: Safety assessment in rats a 90-day feeding experiment. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3721-6. [doi: 10.1016/j.fct.2008.09.054](https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.054)
- Zinchenko, D. A. (2014). Vliyaniye tkanevykh biostimulyatorov na organizm zhyvotnykh. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*, (3-1), 124-125 (in Russian)