

Мирошникова Е.П., Аринжанов А.Е., Килякова Ю.В.  
Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, Россия  
E-mail: arin.azamat@mail.ru

## ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ РЫБ ПРИ ВВЕДЕНИИ В РАЦИОН БИОДОБАВОК И НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА

Достижения последних лет в области кормления животных позволили существенно увеличить ассортимент используемых биодобавок, положительно влияющих на скорость роста, конверсию кормов и резистентность организма. Исследования на теплокровных животных показали перспективность совместного использования биодобавок и наночастиц металлов в кормлении, однако экспериментальные работы в рыбоводстве по данной тематике единичны.

Мы впервые изучили перспективы совместного использования препаратов наночастиц железа и биодобавок в кормлении рыб и показали, что их одновременное применение способствует повышению показателей прироста живой массы до 28% по сравнению с контролем. При введении в рацион Fe НЧ (наночастиц) констатировали достоверное повышение концентрации макро- и микроэлементов по сравнению с контролем: кальция на 42% (P<0,001), калия на 8,2% (P<0,05), магния на 19% (P<0,001), натрия на 27% (P<0,001), фосфора на 32% (P<0,001), хрома на 6% (P<0,05), меди на 18,8% (P<0,05), кобальта на 6% (P<0,05), марганца на 72,2% (P<0,001), селена на 17,5% (P<0,001) и цинка на 34% (P<0,001). При добавлении в рацион Fe НЧ и ферментного препарата Ровабио XL отмечено достоверное повышение концентрации натрия на 13% (P<0,01), меди на 14% (P<0,05), кобальта на 9,6% (P<0,05), марганца на 26,6% (P<0,05), селена на 9,2% (P<0,01) и цинка на 42,5% (P<0,001) и снижение концентрации кальция на 26% (P<0,001) по сравнению с контролем. При включении в рацион Fe НЧ и *Bifidobacterium bifidum* зафиксировано значительное повышение содержания элементов по сравнению с контролем: кальция на 148% (P<0,001), калия на 62% (P<0,001), магния на 111% (P<0,001), натрия на 100% (P<0,001) и фосфора на 100% (P<0,001), хрома на 36,8% (P<0,001), меди на 84% (P<0,001), кобальта на 174% (P<0,001), железа на 58% (P<0,001), марганца на 270% (P<0,001), селена на 82% (P<0,001) и цинка на 125% (P<0,001). Анализ содержания токсических элементов в теле рыб показал, что для опытных групп было характерно снижение концентрации элементов, за исключением свинца.

Таким образом, установлено, что совместное включение в рацион карпа наночастиц железа и биодобавок положительно влияет на накопление макро- и микроэлементов и не сказывается на аккумуляровании токсических элементов в теле рыб, при этом наилучшие показатели по динамике живой массы были получены при совместном использовании Fe НЧ и пробиотического препарата *Bifidobacterium bifidum*.

**Ключевые слова:** ферменты, пробиотики, кормление рыб, наночастицы, железо, макроэлементы, микроэлементы.

На сегодняшний день современная интенсивная индустрия рыбоводства основывается на использовании в качестве обязательных компонентов комбикормов различных биологически активных стимуляторов обмена веществ. Для повышения перевариваемости и усвояемости кормов, стимуляции роста и развития, повышения неспецифического иммунитета применяются ферментные и пробиотические препараты [1]–[3]. Обнадеживающие результаты применения биодобавок в рыбоводстве дают основания для расширения исследований в данном направлении [4]–[5].

Однако, существуют данные, согласно которым присутствие ферментных препаратов в рационе животных, может сопровождаться снижением биологической доступности отдельных микроэлементов питания в том числе и эссенциальных [6].

Способность ферментных препаратов избирательно влиять на усвоение минеральных веществ из пищи, усиливая ретенцию одних элементов и ограничивая поступление других, имеет важное практическое значение, в частности, сорбционные свойства ферментов по отношению к токсичным элементам могут быть использованы в целях снижения хронической интоксикации в организме. При этом каталитическая активность ферментов во многом зависит от присутствия микроэлементов, в частности железа. Известно, что химические элементы могут проявлять как потенцирующее, так и подавляющее влияние на активность ферментов.

Зачастую ионы металла выполняют функцию стабилизаторов молекулы субстрата, активного центра фермента и конформации белковой молекулы [7]–[8].

На сегодняшний момент известно, что наночастицы железа обладают биологически активными свойствами, при этом они менее токсичны по сравнению с неорганическими солями железа [9]–[11]. К тому же наноразмерное железо выгодно отличается от солей пролонгированным воздействием на биологические объекты. На основе наночастиц железа созданы биопрепараты нового поколения, успешно испытанные в растениеводстве, птицеводстве и животноводстве [12]–[15].

Целью исследований являлось установить особенности обмена макроэлементов, эссенциальных и токсических элементов в организме карпа при введении в рацион наночастиц железа совместно с ферментными и пробиотическими препаратами.

### **Материалы и методы**

Для проведения эксперимента было отобрано 200 сеголетков (0+) карпа с навеской 10–15 г, выращенные в условиях садкового хозяйства ООО «Озерное» г. Оренбург, которых методом параналогов разделили на четыре группы ( $n = 50$ ) – контрольная и три опытных.

Исследования выполнены в условиях аквариумного стенда кафедры «Биотехнология животного сырья и аквакультура» Оренбургского государственного университета. Условия выращивания и содержания рыб соответствовали правилам OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) [16]. Эксперименты выполняли в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 534342009), а также с инструкциями «The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)».

Эксперименты проводили в аквариумах объемом 300 литров, при температуре воды  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ . Кормление подопытной рыбы осуществлялось 6–8 раз в сутки. Расчет массы задаваемого корма производили с учетом рекомендаций на основе поедаемости корма.

Наночастицы железа (Fe НЧ) синтезировали методом высокотемпературной конденсации (установка Миген-3, Институт энергетических проблем химической физики РАН, г. Москва) согласно описанию [17]. Материаловедческая аттестация препаратов включала электронную сканирующую и просвечивающую микроскопию

на JSM 7401F и JEM-2000FX («JEOL», Япония). Рентгенофазовый анализ выполняли на дифрактометре ДРОН-7 (НПО «Буревестник», Россия). Размер ( $d$ ) полученных наночастиц  $100 \pm 2$  нм.

Основными компонентами комбикормов являлись: мука рыбная, мука мясокостная, мука пшеничная, шрот подсолнечный, шрот соевый, масло растительное, премикс ПМ-2. В качестве биодобавок использовали ферментный препарат Ровабио XL и пробиотический препарат Бифидобактерин бифидум (Bifidobacterium bifidum, КОЕ –  $10^7$ ). Производство комбикормов включало ступенчатое смешивание компонентов корма и экструдирование [18].

Исследования проводились в два этапа – подготовительный (7 суток) и учетный (56 суток). В период подготовительного этапа вся рыба находилась в одинаковых условиях содержания и кормления (основной рацион – ОР). После подготовительного периода подопытные рыбы были переведены на рационы: рыбе контрольной группы скармливали ОР, в рацион I опытной группы включали Fe НЧ (30 мг/кг корма); в рацион II группы включали Fe НЧ (30 мг/кг корма) и ферментный препарат Ровабио XL (6,75 г/кг); в рацион III группы включали Fe НЧ (30 мг/кг корма) и пробиотический препарат Бифидобактерин бифидум (14 доз).

Содержание в тканях рыб и используемых комбикормов химических элементов исследовали в лаборатории АНО «Центра биотической медицины» (Registration Certificate of ISO 9001: 2000, Number 4017-5.04.06) методом атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии (АЭС-ИСП и МС-ИСП) на оборудовании Elan 9000 (Perkin Elmer, США) и Optima 2000 V (Perkin Elmer, США).

Данные представлены в виде среднего ( $M$ ) и стандартной ошибки среднего ( $m$ ). Статистический анализ выполняли с использованием стандартных методик ANOVA. Различия считались статистически значимыми при  $P < 0,05$ .

### **Результаты исследований**

Установлено, что использованный в рационе спектр препаратов оказал положительное влияние на рост и развитие подопытной рыбы (табл. 1).

Наилучшие показатели по динамике живой массы были получены в III опытной группе, в рацион которого включали Fe НЧ и пробиоти-

ческий препарат, масса карпа к середине опыта превышала контроль на 18% ( $P < 0,01$ ), а концу опыта на 28% ( $P < 0,001$ ), что демонстрирует хорошо выраженный синергизм в воздействии этих веществ на рост рыбы.

Включение в рацион рыб наночастиц совместно с биодобавками повлияло на обмен химических элементов в организме, что наглядно демонстрирует его элементный статус (табл. 2–4).

Установлено, что при введении в рацион Fe НЧ (I группа) наблюдается достоверное повышение концентрации макроэлементов по сравнению с контролем (табл. 2): кальция на 42% ( $P < 0,001$ ), калия на 8,2% ( $P < 0,05$ ), магния на 19% ( $P < 0,001$ ), натрия на 27% ( $P < 0,001$ ) и фосфора на 32% ( $P < 0,001$ ).

Во II опытной группе зафиксировано достоверное снижение концентрации кальция на 26% ( $P < 0,001$ ) и повышение концентрации натрия на 13% ( $P < 0,01$ ) по сравнению с контролем. Повышение же концентрации калия, магния и фосфора были не достоверно различимы.

Наиболее сильное воздействие на накопление макроэлементов было проявлено в III группе (Fe НЧ + *Bifidobacterium bifidum*). Отмечено значительное повышение содержания макроэлементов по сравнению с контролем: кальция на 148 % ( $P < 0,001$ ), калия на 62% ( $P < 0,001$ ), магния на 111% ( $P < 0,001$ ), натрия на 100% ( $P < 0,001$ ) и фосфора на 100% ( $P < 0,001$ ).

При сравнении накопления эссенциальных микроэлементов в теле подопытных рыб выявлено, что при введении в рацион Fe НЧ (I группа) повышается концентрация большинства микроэлементов по сравнению с контрольной группой: хрома на 6% ( $P < 0,05$ ), меди на 18,8% ( $P < 0,05$ ), кобальта на 6% ( $P < 0,05$ ), железа на 2,2%, марганца на 72,2% ( $P < 0,001$ ), селена на 17,5% ( $P < 0,001$ ), цинка на 34% ( $P < 0,001$ ). Схожую картину изменения накопления микроэлементов наблюдали и в остальных опытных группах (табл. 3).

Так, при включении в рацион Fe НЧ и ферментного препарата (II группе) отмечено повышение меди на 14 % ( $P < 0,05$ ), кобальта на 9,6% ( $P < 0,05$ ), марганца на 26,6% ( $P < 0,05$ ), селена на 9,2 % ( $P < 0,01$ ) и цинка на 42,5 % ( $P < 0,001$ ) по сравнению с контролем.

При включении в рацион Fe НЧ и пробиотического препарата (III группа) зафиксировано наиболее высокое увеличение содержания эссенциальных элементов относительно контрольной группы: хрома на 36,8% ( $P < 0,001$ ), меди на 84% ( $P < 0,001$ ), кобальта на 174% ( $P < 0,001$ ), железа на 58% ( $P < 0,001$ ), марганца на 270% ( $P < 0,001$ ), селена на 82 % ( $P < 0,001$ ) и цинка на 125% ( $P < 0,001$ ).

Таким образом, введение наночастиц совместно с биодобавками приводило к увеличению содержания большинства эссенциальных микроэлементов, за исключением йода уровень которого был недостоверно различим.

Таблица 1 – Рыбоводно-биологические показатели выращивания подопытного карпа

Группа	Масса рыб в начале эксперимента, г	Масса рыб в конце эксперимента, г	Абсолютный прирост, г
Контроль	22,3 ± 0,5	36,6 ± 1,1	14,3
I опытная	22,5 ± 0,6	38,7 ± 0,5*	16,2
II опытная	22,3 ± 0,5	38,5 ± 1,3*	16,2
III опытная	22,5 ± 0,5	46,8 ± 1,2**	24,3

Примечание: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ : Сравнимые пары групп: I–II, I–III, I–IV

Таблица 2 – Содержание макроэлементов в теле рыб, мкг/гол.

Элемент	Группа			
	Контроль	I	II	III
Ca	52745 ± 1738	74868 ± 2332***	38925 ± 1101***	131127 ± 3570***
K	57312 ± 1739	61988 ± 2332*	57650 ± 1630	92763 ± 2236***
Mg	4612 ± 152	5486 ± 171***	4850 ± 137	9745 ± 235***
Na	17330 ± 571	22040 ± 687***	19575 ± 554**	34669 ± 836***
P	50074 ± 1651	66241 ± 2064***	51900 ± 1468	100545 ± 2628***

Примечание: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ .  
Сравнимые пары групп: Контроль – I, Контроль – II, Контроль – III.

Из полученных данных следует, что потребление наночастиц железа совместно с биодобавками в составе комбикормов оказывает влияние на депонирование химических элементов, участвующих в формировании опорно-двигательного аппарата, а именно: Ca, Mg, P, Cu и Se.

Анализ содержания токсических элементов в теле рыб показал, что для опытных групп было характерно снижение концентрации элементов, за исключением свинца (табл. 4).

В частности, в I опытной группе констатировали достоверное снижение концентрации Al, Hg, Pb, и Sn на 14%, 15%, 47% и 36%, соответственно, по сравнению с контрольной группой.

Во II опытной группе наблюдали снижение алюминия на 43% ( $P < 0,001$ ), кадмия на 45% ( $P < 0,001$ ), ртути на 78% ( $P < 0,001$ ), олова на 78% ( $P < 0,001$ ) и стронция на 9% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

В III опытной группе констатировали достоверное снижение алюминия на 19% ( $P < 0,001$ ), олова на 83% ( $P < 0,001$ ) и стронция на 28% ( $P < 0,001$ ).

Таким образом, были подтверждены положительные способности применявшихся биодобавок

снижать содержание в продукции ряда токсичных элементов.

В результате исследования выявлено, что включение в рацион рыб наночастиц железа совместно с ферментным и пробиотическим препаратом влияет на показатели минерального обмена. Совместное использование в рационе карпа наночастиц железа и биодобавок положительно влияет на накопление макро- и микроэлементов (меди, кобальта, железа, марганца, селена, цинка, лития, никеля, кремния, вольфрама) и не сказывается на аккумуляции токсических элементов (Al, Sn, Sr, Cd) в теле рыб.

Так, повышение содержания микроэлементов в организме рыб при совместном использовании наночастиц железа и биодобавок можно объяснить тем, что более доступная форма железа (высокодисперсный порошок) имеет выраженное стимулирующее воздействие на пробиотики, в результате усиливается благотворное воздействие на микрофлору кишечника (баланс микробиоценоза) [19]. Ферментный препарат проявляет синергизм с Fe НЧ и в итоге железо принимает активное участие в окислительно-восстановительных процессах, способствует росту и развитию тканей.

Таблица 3 – Содержание эссенциальных микроэлементов в теле рыб, мкг/гол.

Элемент	Группа			
	Контроль	I	II	III
Cr	0,913 ± 0,03	0,967 ± 0,03*	0,750 ± 0,02***	1,249 ± 0,03***
Cu	11,19 ± 0,37	13,29 ± 0,41*	12,75 ± 0,36*	20,61 ± 0,50***
Co	0,228 ± 0,008	0,242 ± 0,007*	0,250 ± 0,007*	0,625 ± 0,015***
Fe	275 ± 9,0	281 ± 8,6	262 ± 7,4*	435 ± 10,1***
I	6,39 ± 0,21	6,04 ± 0,19	6,49 ± 0,18	6,56 ± 0,16
Mn	11,65 ± 0,38	20,06 ± 0,63***	14,75 ± 0,42*	43,10 ± 1,04***
Se	2,06 ± 0,068	2,42 ± 0,075***	2,25 ± 0,064**	3,75 ± 0,09***
Zn	669 ± 22	897 ± 28***	953 ± 27***	1509 ± 36***

Примечание: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ .

Сравниваемые пары групп: Контроль – I, Контроль – II, Контроль – III.

Таблица 4 – Содержание токсических элементов в теле рыб, мкг/гол.

Элемент	Группа			
	Контроль	I	II	III
Al	31,74 ± 1,1	27,31 ± 0,9***	18,00 ± 0,6***	25,61 ± 0,6***
Cd	0,046 ± 0,002	0,073 ± 0,002***	0,025 ± 0,001***	0,025 ± 0,001***
Hg	0,114 ± 0,004	0,097 ± 0,003**	0,025 ± 0,001***	0,187 ± 0,005***
Pb	0,457 ± 0,015	0,242 ± 0,008***	0,750 ± 0,021***	0,625 ± 0,015***
Sn	0,114 ± 0,004	0,073 ± 0,002***	0,025 ± 0,001***	0,019 ± 0,001***
Sr	114 ± 3,76	232 ± 7,58***	104 ± 2,83*	82 ± 1,94***

Примечание: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ .

Сравниваемые пары групп: Контроль – I, Контроль – II, Контроль – III.

Полученные результаты исследований показывают перспективность совместного использования наночастиц железа и биодобавок, как высокоэффективных биологических катализаторов

биохимических процессов в организме, улучшающих физиологическое состояние и повышающие интенсивность роста рыб.

11.05.2017

**Исследования выполнены при финансовой поддержке РНФ № 14-36-00023**

**Список литературы:**

1. Применение пробиотиков в осетровом рыбоводстве / А.А. Пышманцева и др. // Сборник научных трудов Северо-Кавказского научно-исследовательского института животноводства. – 2014. – Т.2. – №3. – С. 225–229.
2. Кцоева, И.И. Химический состав мышц радужной форели при использовании в кормах биологически активных добавок / И.И. Кцоева, Р.Б. Темираев // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2014. – Т. 51. – №4. – С. 150–153.
3. Influence of iodine on efficiency of fish / A.A. Vasiliev et al. // Journal of Agricultural Sciences. – 2014. – Т. 6. – №10. – P. 79.
4. A comprehensive assessment of the impact of the additive «Abiopeptide with iodine» on the growth, development and marketable quality of the Lena sturgeon grown in cages / I.V. Poddubnaya et al. // Biosciences Biotechnology Research Asia. – 2016. – Т. 13. – №3. – P. 1547–1553.
5. Mechanisms of the effects of probiotics on symbiotic digestion / N.A. Ushakova et al. // Biology Bulletin. – 2015. – Т. 42. – № 5. – P. 394–400.
6. Влияние ферментных препаратов на содержание микроэлементов в тканях и органах кур / Е.П. Мирошникова и др. // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2004. – № S4. – С. 60–61.
7. Miroshnikova, E.P. Influence of enzymatic preparations on elemental status of carp and hen / E.P. Miroshnikova, A.A. Barabash // Микроэлементы в медицине. – 2010. – Т. 11. – №2. – С. 46 а.
8. To the development of innovative mineral additives based on alloy of Fe and Co antagonists as an example / E.A. Sizova et al. // Agricultural Biology. – 2016. – V. 51. – № 4. – P. 553–562.
9. Comparative assessment of effect of copper nano- and microparticles in chicken / S.A. Miroshnikov et al. // Oriental Journal of Chemistry. – 2015. – Т. 31. № 4. – P. 2327–2336.
10. Antagonist metal alloy nanoparticles of iron and cobalt: impact on trace element metabolism in carp and chicken / A. Arinzhanov et al. // Human & Veterinary Medicine. International Journal of the Bioflux Society. – 2015. – Vol. 7. – Iss. 4. – P. 253–259.
11. Эффективность ферментсодержащих комбикормов в сочетании различными формами цинка в рационах жвачных / Д.В. Нестеров и др. // Вестник мясного скотоводства. – 2012. – Т.4. – №78. – С. 74–78.
12. Наноразмерное железо – кормовая добавка для сельскохозяйственной птицы / И.Н. Никонов и др. // Доклады Академии наук. – 2011. – Т. 440. – №4. – С. 565–569.
13. Nanoparticles in combination with amino acids change productive and immunological indicators of broiler chicken / E.V. Yausheva et al. // Agricultural Biology. – 2016. – V. 51. – №6. – P. 912–920.
14. Morphological and biochemical blood parameters in broilers at correction with dietary copper salts and nanoparticles / E.A. Sizova et al. // Agricultural Biology. – 2016. – V. 51. – №6. – P. 903–911.
15. To the development of innovative mineral additives based on alloy of Fe and Co antagonists as an example / E.A. Sizova et al. // Agricultural Biology. – 2016. – V. 51. – № 4. – P. 553–562.
16. OECD Guideline for Testing of Chemicals. Guideline 203. Fish, Acute Toxicity Test. – Organization of Economic Cooperation Development, Paris, France, 1992.
17. Установка для получения и исследования физико-химических свойств наночастиц металлов / А.Н. Жигач и др. // Приборы и техника эксперимента. – 2000. – №6. – С. 122–127.
18. Патент РФ 2517228. Способ производства корма для рыб. Аринжанов А.Е., Мирошникова Е.П., Сизова Е.А., Килякова Ю.В., Родионова Г.Б., Глушенко Н.Н. Заявлено 27.12.2012. Опубликовано 27.05.2014.
19. Сизова, Е.А. Некоторые биохимические и морфологические показатели крови при введении в организм наночастиц меди / Е.А. Сизова, Е.А. Русакова, Ю.А. Сизов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – Т. 4. – №32-1. – С. 308–309.

**Сведения об авторах:**

**Мирошникова Елена Петровна**, заведующий кафедрой биотехнологии животного сырья и аквакультуры Оренбургского государственного университета, доктор биологических наук, профессор 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: elenaakva@rambler.ru

**Аринжанов Азамат Ерсанович**, старший преподаватель кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры Оренбургского государственного университета, кандидат сельскохозяйственных наук 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: arin.azamat@mail.ru

**Килякова Юлия Владимировна**, доцент кафедры биотехнологии животного сырья и аквакультуры Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, e-mail: fish-ka06@mail.ru