

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



AZ ANTIOXIDÁNS RENDSZER ÉS EGYES TAKARMÁNYOZÁSI TÉNYEZŐ KAPCSOLATÁNAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ ÁLLATFAJOKBAN

Fébel Hedvig¹, Czabai Gábor², Blázovics Anna³

¹Allattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, 2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.

²Diachem Kft., 1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 4.

³Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. Belgyógyászati Klinika, 1088 Budapest, Szentkirályi u. 46.

febel.hedvig@atk.hu

Összefoglalás

Az utóbbi években az állattenyésztési kutatások egyik fő iránya a funkcionális élelmiszerek előállítására lett. Ennek egyik formája kedvező zsírsav-összetételű, lehetőleg emelt ω 3-zsírsavtartalmú húsok termelése. Számos tanulmány foglalkozik a hús zsírsavösszetételét módosító takarmányozási lehetőségekkel, viszont a különböző zsírok állatok szervezetére gyakorolt hatásával alig foglalkoztak, jóllehet a lipidek felvétele oxidatív stresszt indukálhat. Ennek ellensúlyozására gyakran E-vitamin-kiegészítést alkalmaznak. A szerzők azt vizsgálták, hogy hízómarhában, sertésben, nyúlban, valamint brojlersirkében a hizálás során a különböző zsírforrások etetése, illetve az E-vitamin adagolása miként befolyásolja a szervezet redox-homeosztázisát. A telítetlen zsírsavakat is tartalmazó lipidek etetése hízómarhában rontotta az állatok redox státuszát, mivel a plazmában az indukált szabadgyök-képződés nagyobb értéket (36%-ról 111%-ra) mutatott. Sertésekben a lenolaj etetése melletti E-vitamin-kiegészítés hatását tanulmányozva megállapítható, hogy a 100 ppm E-vitaminszint csökkentette legnagyobb mértékben a szabadgyökképződést. Nyulakban az olajkiegészítés hatására csökkent a plazma teljes gyökfogó kapacitása. A nagyobb PUFA-felvétel által előidézett oxidatív stresszt csak a nagy mennyiségű (230 mg/kg szintetikus dl- α -tokoferol-acetát) E-vitaminszint tudta ellensúlyozni, amit a plazma szignifikánsan magasabb összes antioxidáns kapacitása jelzett. Brojlersirkékben a nagy linolénsav-tartalmú (n-3) lenolajat tartalmazó takarmány etetésekor mérték a plazmában a legmagasabb összes antioxidáns kapacitást illetve az indukált szabadgyök-képződés értéke itt volt a legkisebb. A döntően linolsavat (n-6) tartalmazó napraforgóolaj etetésekor ezzel ellentétes változást tapasztaltak. Az állatok antioxidáns paramétereiben megfigyelt változások azt jelzik, hogy a többszörösen telítetlen zsírsavak ellentétes hatást gyakorolnak a szervezetre, illetve más védekező folyamatokat indukálnak az általuk előidézett oxidatív stresszhelyzetben.

Kulcsszavak: sertés, nyúl, hízómarha, brojlersirke, lenolaj, napraforgóolaj, E-vitamin, ω 3-zsírsavtartalom, antioxidáns rendszer

Investigation of connection of the antioxidant system and some nutritional factors in different animal species

Abstract

The production of different functional foods has been a primary area of animal studies in recent years. As a result, feeding strategies have been adopted to alter lipid composition, especially higher ω 3-fatty acid content of meat. There are many experimental results dealing with nutritional possibilities in order to modify fatty acid composition of meat. Only few studies have compared the effects of fat sources varying in ratio of n-6 and n-3 PUFA on antioxidant defence system of animals. The objective of the experiments was to investigate whether oil supplementation will impact antioxidant defence system of beef cattle, pig, rabbit and chicken, and different dietary levels of vitamin E have any protective role. The redox status of beef cattle was getting worse by the addition of higher level of unsaturated fatty acid supplementation (Magnapac) to diet, lower plasma total antioxidant capacity and higher free radical production rate (111% vs. 36%) were measured.



The pigs fed linseed oil diet with 100 mg added vitamin E more effectively maintained their redox status with enhanced total radical scavenging capacity in plasma. Total radical scavenging capacity of plasma significantly decreased in rabbits fed oil supplemented diet. Feeding of supranutritional level of vitamin E (230 mg dl- α -tocopherol-acetate supplementation/kg diet) improved the antioxidant status of rabbits fed diets high in PUFA which was indicated by the higher level of antioxidant capacity.

The broilers fed linseed oil diet more effectively maintained their antioxidant status with enhanced plasma antioxidant capacity and lower free radical production rate. The chemiluminescent intensity was significantly higher in broilers fed sunflower oil. The investigated changes in antioxidant parameters of animals may be related to the compounds produced after different biochemical pathways of n-6 and n-3 FAs to counteract the oxidative injury.

Keywords: pig, rabbit, beef cattle, Broiler chicken, linseed oil, sunflower oil, vitamin E, ω 3-fatty acid content, antioxidant system

Irodalmi áttekintés

Napjainkban a különböző gazdasági haszonállatok takarmányát, humán táplálkozás-élettani szempontból kedvezőbb összetételű élelmiszerek (hús, tojás) előállítására érdekében, zsírokkal illetve különböző növényi olajokkal egészítik ki. Az elmúlt évtizedben számos kísérletben bizonyítást nyert, hogy az élelmiszerforrások közül a hús, a tej valamint a tojás zsírsav-összetételét takarmányozással kedvezően befolyásolhatjuk, jelentősen növelhetjük a többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA) közül a humán egészség szempontjából rendkívül fontos n-3 zsírsavak mennyiségét. Az egyes állatfajok fejadagjában ugyanakkor, az emésztés-élettani különbségek miatt, eltérő mennyiségű és összetételű zsírforrást használhatunk. Napjainkban zsírkiegészítésként kizárólag növényi eredetű alapanyagokat használhatunk. A humán egészségügyi szempontokat figyelembevevő különböző zsírsav-összetételű (telítetlen kötések, eltérő mennyiségű ω 6 és ω 3 zsírsavak) takarmányok etetésekor ugyanakkor figyelembe kell venni azt a tényt, hogy ez az állatok szervezetében oxidatív stresszt idézhet elő. Ezzel a problémával eddig keveset foglalkoztak, jól lehet ez utóbbi kihat az állatok termelési mutatóira is. Ezen túlmenően a nagyobb PUFA bevitel (több kettős kötésű zsírsav) az élelmiszer alapanyagok oxidációs stabilitását is csökkentik. Ezen káros folyamatok elkerüléséhez különböző antioxidáns vegyületeket kevernek a takarmányhoz. Az utóbbi években több kutató is vizsgálta, hogy antioxidánsok adagolásával miként segíthetjük az állatok redox védelmi rendszerét, illetve milyen mértékben gátolható az oxidációs stabilitás csökkenése (Husvéth és mtsai, 2000; Surai és Sparks, 2000; Formanek és mtsai, 2001). Az antioxidánsok közül leggyakrabban az E-vitamint alkalmazzák, mivel a sejtmembrán egyik alkotójaként a reaktív oxigén gyökök által megtámadott membránalkotó foszfolipidekben lévő telítetlen zsírsavakat regenerálja. Az E-vitamin adagolás kedvező hatása nemcsak az élő szervezetben érvényesül, hanem postmortem a hús feldolgozása és tárolása során is segíti az oxidációs stabilitást.



Kutatásainkban azt vizsgáltuk, hogy a hizlalás során a különböző zsírforrások etetése illetve az E-vitamin adagolása miként befolyásolja a szervezet redox-homeosztázisát. Így hízómarhában, sertésben, nyúlban valamint brojlersirkében tanulmányoztuk a különféle zsírsav-összetételű takarmányok, illetve az E-vitamin adagolás hatását egyes antioxidáns rendszert mérő paraméterre.

Az állati szervezetben kialakuló oxidatív károsodást illetve az antioxidáns védelem fenntartását több vegyület plazmában, vörösvértestben, illetve májban lévő koncentrációjának mérésével monitoroztuk. Előadásunkban a számos vizsgált paraméter közül, a kísérleti eredmények egyértelműbb bemutatása illetve a különböző állatfajok és kezelések összehasonlíthatósága érdekében kizárólag a szervezet általános antioxidáns státuszát jellemző paraméterek plazmában mért alakulását ismertetjük.

Anyag és módszer

Zsíretetési kísérlet hízómarhákkal

Három kísérleti csoportot alakítottunk ki. A zsírtkiegészítés nélküli kontrollcsoporton kívül a hízómarhákkal (csoportonként 10-10 magyar tarka holstein friz keresztezett állatok) 90 napig két különböző készítményt *Alifet*[®] (Ernst Boehlen Co, Langenthal, Svájc) = csak telített zsírsavakból áll, 31% palmitinsav, 64% sztearinsav; illetve *Magnapac*[®] (NOREL Co, Madrid, Spanyolország) = több telítetlen zsírsav, 53% palmitinsav mellett 35% olajsav, 8% linolsav) etettünk. A hizlalás végén a v. jugularisból vért vettünk.

Kísérlet hízósertésekkel

Négy csoportot alakítottunk ki. A kontrollkezelés lenolaj nélküli takarmány volt, DE-tartalma alacsonyabb (13,9 MJ/kg) lizin/energia aránya viszont azonos a kísérleti kezelésekkel. A takarmány 50 ppm E-vitamint tartalmazott. A másodiktól a negyedik kezelésig 4% lenolajtartalmú takarmányt etettünk. A második (kísérleti 1) csoport takarmánya 50 ppm, a harmadiké (kísérleti 2) 70 ppm míg a negyedik (kísérleti 3) csoporté 100 ppm E-vitamint tartalmazott. A kísérlet végén kezelésenként 10-10 állattól vettünk vért.

Hizlalási kísérlet nyulakkal

A nyúl-kísérletben 4 csoportot alakítottunk ki:

1. csoport: negatív kontroll (alacsony energiatartalmú, olaj- és E-vitamin-kiegészítés nélküli táp).
2. csoport: pozitív kontroll (2% lenolaj+2% napraforgóolaj-kiegészítés E-vitamin-kiegészítés nélküli táp).
3. csoport: 2% lenolaj+2% napraforgóolaj-kiegészítés és + 80 mg/kg szintetikus dl- α -tokoferol-acetát.



4. csoport: 2% lenolaj+2% napraforgóolaj-kiegészítés és + 230 mg/kg szintetikus dl- α -tokoferol-acetát.

A kísérlet végén kezelésként 10-10 állattól vettünk vért.

Brojlercsirke felnevelési kísérlet

A kakascsikéket, a hizlalás során etetett táp lipid-kiegészítésének megfelelően, négy csoportba osztottuk. Így az 1. csoportban sertézsír, a 2.-ban napraforgóolaj, a 3.-ban a *full-fat* szója illetve a 4.-ben a lenmagolaj biztosította a nagyobb (5,7%) nyerszsírtartalmat. A hizlalási periódus végén (5. hét) kezelésként 10 állat szárnyvénájából vérmintát vettünk.

Analitikai vizsgálatok

A vérmintákból számos paraméter (szérum ALP, AST, GGT, LDH enzimaktivitását, a triglicerid, koleszterin (összes, LDL, HDL), húgysav, glükóz, bilirubin, albumin koncentrációja, glutation redoxrendszer (GSH, GSSG, GSH-Px) illetve a malondialdehid-tartalom) meghatározása mellett a szabadgyök-reakciók vizsgálatára, valamint a szervezet antioxidáns rendszer működésének nyomon követésére lemértük a plazma teljes gyökfogó kapacitását valamint az összes antioxidáns kapacitást. A teljes gyökfogó kapacitás meghatározására kemilumineszcenciás módszert alkalmaztunk Blázovics és mtsai, (1999) szerint. A mérés elve az, hogy a $H_2O_2/OH\cdot$ mikroperoxidáz rendszer lúgos pH-n fényt bocsát ki, mert a komplex vas hatására a H_2O_2 -ből $OH\cdot$ gyök keletkezik - Fenton-típusú reakcióban – és a gyök a luminolt gerjeszti. A luminol aminosavakat stabil anionná alakul át és hv kvantum (420 nm) távozik, amelyet luminométerben lehet detektálni. Ha a rendszerhez bármilyen szöveti mintát, szuszpenziót adunk, akkor ez a kemilumineszcenciás reakciót gátolja. Az eredményeket relative light unit (RLU) egységben adtuk meg.

Az összes antioxidáns kapacitás mérése 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) segítségével történt (Blois, 1958). A DPPH viszonylagos stabilitása révén megbízhatóan fotometrálnak gyök-molekula, melynek abszorbancia maximuma 517 nm-nél jelentkezik. Az analitikai reakcióban a molekula H-atomok jelenlétében (melyet a vizsgálandó H-donor aktivitással rendelkező vegyületek szolgáltatnak) könnyen protonálódik, mely folyamat eredményeként az abszorbancia csökken.

Eredmények és értékelés

A hízómarhákkal folytatott kísérletben a plazma mért antioxidáns paramétereinek értékeit az 1. táblázat mutatja.



A zsírtelítések rontották az állatok redox státuszát, mivel a gyökfogó kapacitás értéke szignifikánsan nagyobb volt. Különösen igaz ez a telítetlen zsírsavakat tartalmazó Magnapac-ra, ugyanis etetésekor a plazmában az indukált szabadgyök-képződés (RLU %) a legnagyobb értéket (36%-ról 111%-ra) mutatta. Ezzel párhuzamosan a kontrollhoz viszonyítva a plazma összes antioxidáns kapacitása szignifikánsan kisebb volt. *Firkins és Eastridge* (1994) 11 különböző zsírtelítéssel folytatott kísérlet eredményeit összegezve megállapította, hogy a zsírsavak vékonybélbeli emészthetősége a telített zsírsavak arányának növekedésével párhuzamosan csökken.

1. táblázat: Különböző zsírforrások etetésének hatása hízómarhák antioxidáns paramétereire

	Kontroll ¹	Alifet ¹	Magnapac ¹
Teljes gyökfogó kapacitás, RLU ²	36,1 ± 28,9 ^a	51,7 ± 58,3 ^{ab}	110,6 ± 71,3 ^b
Összes antioxidáns kapacitás, % ³	55,3 ± 1,9 ^a	52,8 ± 1,7 ^b	50,2 ± 1,5 ^c

¹Kísérleti csoportok: Kontroll= zsírtelítés nélkül; Alifet= telített zsírsavak; Magnapac= telítetlen zsírsavakat is tartalmaz

^{a,b,c} a különböző betűvel jelölt értékek szignifikánsan eltérnek egymástól $p \leq 0,05$ szinten.

Table 1. Effect of different fat supplementation on antioxidant parameters of beef cattle

¹Treatment groups are based on the source of added fat in the diet; Control= no fat supplementation; Alifet= saturated fatty acid; Magnapac= saturated and unsaturated fatty acid

²Total radical scavenging capacity, RLU= Relative Light Unit

³Total antioxidant capacity, % of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)• quenched in the direct reaction between the DPPH radical and antioxidant of plasma

^{a,b,c} Means within a row with different superscripts are significantly different at $p \leq 0.05$.

A telített és telítetlen zsírsavak eltérő mértékű intesztinális felszívódása következtében a Magnapac etetésekor több zsírsav szívódhatott fel. A nagyobb zsírsav abszorpció az állatok redox homeosztázisát jelentősen befolyásolta, amit a kisebb összes antioxidáns kapacitás jelzett.

Sertésekben a zsírtelítés melletti E-vitamin-kiegészítés hatását tanulmányozva megállapítottuk, hogy az E-vitamin-kiegészítés növelésével párhuzamosan a plazmában mért teljes gyökfogó kapacitás értéke emelkedett. A táp 100 ppm E-vitaminszintje csökkentette legnagyobb mértékben a szabadgyökképződést (2. táblázat). Ezzel párhuzamosan a plazma összes antioxidáns kapacitás értéke is ebben a csoportban volt a legmagasabb.

**2. táblázat: Az antioxidáns paraméterek változása a plazmában hízósertésben**

	Kontroll ¹	L50 ¹	L70 ¹	L100 ¹
Teljes gyökfogó kapacitás, RLU ²	2,47 ± 0,90 ^a	1,90 ± 1,35 ^{ab}	1,52 ± 0,85 ^b	1,12 ± 0,93 ^b
Összes antioxidáns kapacitás, % ³	31,3 ± 5,0 ^a	34,0 ± 4,3 ^{ab}	35,9 ± 6,3 ^{ab}	39,2 ± 8,7 ^b

¹Kísérleti csoportok: Kontroll= olajkiegészítés nélkül 50 ppm E-vitamin; L50= 4% lenolaj 50 ppm E-vitamin; L70= 4% lenolaj 70 ppm E-vitamin; L100= 4% lenolaj 100 ppm E-vitamin

^{a,b} a különböző betűvel jelölt értékek szignifikánsan eltérnek egymástól p≤0,05 szinten.

Table 2. Antioxidant parameters of plasma in pigs

¹Treatment groups: Control= no fat supplementation 50 ppm vitamin E; L50= 4% linseed oil 50 ppm vitamin E; L70= 4% linseed oil 70 ppm vitamin E; L100= 4% linseed oil 100 ppm vitamin E

^{2,3,a,b} See Table 1.

Nyulakban az E-vitamin adagolás nélküli olajkiegészítés kismértékben rontotta a plazma teljes gyökfogó kapacitását, 214%-ról 244%-ra emelkedett az érték (3. táblázat). A nagyobb PUFA-felvétel által előidézett oxidatív stresszt csak a nagy mennyiségű (230 mg/kg szintetikus dl- α -tokoferol-acetát) E-vitamiszint tudta ellensúlyozni, amit a plazma szignifikánsan magasabb összes antioxidáns kapacitása jelzett.

3. táblázat: Olaj- illetve különböző mennyiségű E-vitamin-kiegészítés hatása nyulak redox státuszára

	Kontroll ¹	O ¹	O+80 ¹	O+230 ¹
Teljes gyökfogó kapacitás, RLU ²	214 ± 69	244 ± 54	231 ± 46	192 ± 88
Összes antioxidáns kapacitás, mmol/l TEAC ^{3,4}	0,17 ± 0,04 ^a	0,18 ± 0,04 ^a	0,20 ± 0,05 ^{ab}	0,24 ± 0,08 ^b

¹Kísérleti csoportok: Kontroll= olaj- és E-vitamin-kiegészítés nélküli táp; O= 2% lenolaj+2% napraforgóolaj-kiegészítés E-vitamin-kiegészítés nélküli táp; O+80= 2% lenolaj+2% napraforgóolaj-kiegészítés + 80 mg/kg szintetikus dl- α -tokoferol-acetát; O+230= 2% lenolaj+2% napraforgóolaj-kiegészítés + 230 mg/kg szintetikus dl- α -tokoferol-acetát

^{a,b} a különböző betűvel jelölt értékek szignifikánsan eltérnek egymástól p≤0,05 szinten.

Table 3. Effect of oil and different level of vitamin E supplementation on redox status of rabbits

¹Treatment groups: Control= no fat or vitamin E supplementation; O= control diet + oil supplementation (2% sunflower + 2% linseed oil); O+80= control diet + oil supplementation (2% sunflower + 2% linseed oil) + 80 mg/kg vitamin E; O+230= control diet + oil supplementation (2% sunflower + 2% linseed oil) + 230 mg/kg vitamin E

^{2,3,a,b} See Table 1.

⁴TEAC= Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

Brojlersirkékben a nagy linolénsav-tartalmú (n-3) lenolajat tartalmazó takarmány etetésekor mértük a plazmában a legmagasabb összes antioxidáns kapacitást illetve az indukált szabadgyök-képződés (RLU %) értéke itt volt a legkisebb (4. táblázat). A döntően linolsavat (n-6) tartalmazó olaj etetésekor ezzel ellentétes változást tapasztaltunk.



A napraforgó illetve szójaolaj (sok linolsav) etetésekor 122 RLU%-ról 253 RLU% valamint 226%-ra nőtt a kemilumineszcenciás fényintenzitás értéke. A lenolaj-felvétel (sok linolénsav) ugyanakkor csökkentette az értéket 77 RLU%-ra.

4. táblázat: Az antioxidáns állapotot jelző paraméterek változása a plazmában 5 hetes brojlercsirkékben

	SZs ¹	NO ¹	SzO ¹	LO ¹	SEM	p
Teljes gyökfogó kapacitás, RLU ²	122,9 ^{ab}	253,2 ^c	226,4 ^{bc}	77,0 ^a	19,7	0,001
Összes antioxidáns kapacitás, % ³	41,7 ^b	34,7 ^a	41,1 ^b	46,9 ^c	1,1	0,001

¹Kísérleti csoportok: SZs= sertészsír; NO= napraforgóolaj; SzO= full-fat szója; LO= lenolaj
^{a,b,c} a különböző betűvel jelölt értékek szignifikánsan eltérnek egymástól

Table 4. Antioxidant parameters of plasma at 5 week of age of chickens

¹Treatment groups are based on the source of added fat in the diet; SZs= lard; NO= sunflower oil; SzO= full fat soybean; LO= linseed oil.

^{2,3, a,b,c} See Table 1.

Az állatok antioxidáns paramétereiben megfigyelt változások azt jelzik, hogy a többszörösen telítetlen zsírsavak ellentétes hatást gyakorolnak a szervezetre, illetve más védekező folyamatokat indukálnak az általuk előidézett oxidatív stresszhelyzetben.

Következtetések

A zsíretetés az állatokban jelentősen befolyásolja a szervezet antioxidáns státuszát és így módosulhat a citokinek, prosztaglandinok, leukotriének termelése, valamint a celluláris és humorális válaszok.

Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy az antioxidáns tulajdonsággal rendelkező E-vitamin képes kompenzálni a nagyobb PUFA-tartalmú takarmány felvételekor előidézett oxidatív stresszt. Ehhez azonban extra mennyiségű E-vitamin-kiegészítést szükséges alkalmazni.

Köszönetnyilvánítás

A vizsgálatokat a GVOP támogatta (3.1.1.-2004-05-0014/3.0 téma).



Irodalomjegyzék

- Blázovics, A.; Kovács, Á.; Lugasi, A.; Hagymási, K.; Bíró, L.; Fehér, J.* (1999): Antioxidant defence in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Crohn disease and ulcerative colitis: a chemiluminescent study. *Clin. Chem.*, 45, 895-896.
- Blois, M.S.* (1958): Antioxidant determination by use of a stable free radical. *Nature*, 4617. 1198-1200.
- Firkins, J.L., Eastridge, M.L.* (1994): Assessment of the effects of iodine value on fatty acid digestibility, feed intake, and milk production. *J. Dairy Sci.*, 77. 2357-2366.
- Formanek, Z., Kerry, J. P., Higgins, F. M., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., Farkas, J.* (2001): Addition of synthetic and natural antioxidants to α -tocopherol acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. *Meat Sci.*, 58. 337-341.
- Husvéth, F., Manilla, H. A., Gaál, T., Vajdovich, P., Balogh, N., Wágner, L., Loth, I., Németh, K.* (2000): Effects of saturated and unsaturated fats with vitamin E supplementation on the antioxidant status of broiler chicken tissues. *Acta Vet. Hung.*, 48. 69-79.
- Surai, P.F., Sparks, N.H.C.* (2000): Tissue specific fatty acid and α -tocopherol profiles in male chickens depending on dietary tuna oil and vitamin E provision. *Poultry Sci.*, 79. 1132-1142.