

Актуальность. В условиях интенсивного животноводства инфекционные заболевания систем пищеварения животных являются наиболее распространенными (более 60 % от общей численности заболеваний) и затратными, как по расходам на лечение, так и по недополученной прибыли. Предпосылками заболеваний являются различные стресс-факторы, вызванные, в том числе, нарушениями кормления и содержания животных. Для сохранения показателей производства продукции животноводства применяются различные средства, среди которых антибиотики являются одними из самых эффективных. Однако антибактериальные факторы роста (AGF), при видимых преимуществах обладают и выраженными недостатками, отражающимися, в частности, в нарушении биоценоза кишечника, формировании резистентных патогенных бактерий, негативном влиянии на здоровье человека и др. Запрет на применение антибиотиков в кормах животным в Европе дал толчок к поиску альтернативных решений в промышленном животноводстве. Хорошо зарекомендовавшими себя средствами являются органические кислоты и их соли, применяемые в качестве кормовых добавок. В последние годы интенсивно развивается применение пробиотиков бактериальных препаратов на основе различных представителей симбиотной микрофлоры кишечника и пребиотиков – веществ, стимулирующих селективный рост собственной полезной микрофлоры кишечника. Пребиотики, функциональные олиго и полисахара при ярких результатах в питании человека, в животноводстве находят пока относительно ограниченное применение. Это может объясняться множеством факторов, среди которых сырьевой фактор имеет, пожалуй, определяющее значение. Тем не менее, многие из функциональных олигосахаров обладают вполне выраженным физиологическим действием. К примеру, заметными эффектами являются стимуляция развития собственной полезной микрофлоры, образование важнейших для обмена веществ животного метаболитов жизнедеятельности кишечных бактерий, иммуностимулирующее действие, повышение усвоения минералов, снижение образования аммиака и др. [1-6]. На наш взгляд интересным и важным может быть антиадгезивный эффект некоторых олигосахаров. Под этим подразумевается активное взаимодействие олигосахаров со слизистой поверхностью кишечника, с эпителиальными клетками, патогенными микроорганизмами, приводя к снижению их адгезии и, соответственно, общего негативного воздействия. Как известно, инфекционное заражение организма начинается с адгезии патогенных бактерий на поверхности ткани кишечника с помощью собственных поверхностных структур (фимбрии, пили) [7]. Для эффективного применения олигосахаров в кормлении животных важно знать взаимосвязь их состава и свойств. С этой целью рассмотрим основные олигосахара, как поступающие с кормами, так и коммерческие пребиотики и функциональные олигосахара. В составе рациона сельскохозяйственных животных основную долю занимают источники энергии –

углеводы, которые подразделяются на структурные (составляющие клеточной стенки - целлюлоза, пектины, арабиноксиланы, лигнин и др.) и неструктурные (запасные вещества клетки - крахмал, инулин). Самым широко представленным неструктурным углеводом кормов является крахмал. Таким образом, в рационе животных присутствует широкий спектр различных углеводов, которые потенциально могут обладать пребиотическим действием. Возможно, этим обуславливается относительно скромный эффект действия некоторых дополнительно введенных в корма коммерческих пребиотиков. В таблице 1 приведены состав и содержание структурных углеводов в кормах. Согласно этим данным, большинство трудноусваиваемых углеводов рациона представлены преимущественно биополимерами и олигомерами пентоз и гексоз. Их важная роль заключается в создании структуры пищевого кома, благодаря высокой водосвязывающей способности. Недостаток этих компонентов приводит к нарушениям перистальтики кишечника, а избыток, в свою очередь, повышает вязкость содержимого кишечника, что приводит к снижению питательной ценности корма и продуктивности производства. Обращает на себя внимание, что основные связи полисахаридов и олигосахаров в кормах представлены α (1 - 4) связью (крахмал), β (1 - 4) (целлюлоза), β (1 - 3) и β (1 - 4) (глюканы и пентозаны). Таблица 1 - Содержание некрахмалистых полисахаридов в кормах

Корма	Всего, г/100г	целлюлоза	β -глюканы	арабиноксиланы
Пшеница	11,4	2,0	1,3	8,1
Отруби пшеничные	40,9	8,0	4,3	28,6
Рожь	13,2	1,5	2,8	8,9
Овёс без пленки	7,8	0,7	5,0	2,1
Ячмень	16,7	3,9	4,9	7,9
Горох	14,6	5,8	3,3	5,5
Тритикале	15,0	2,5	1,7	10,8
Кукуруза	7,2	2,0	0	5,2
Шрот соевый	20,0	4,5	3,8	11,7
Шрот подсолнечный	28,0	10,0	4,9	13,1

Также могут присутствовать вещества с α (1 - 1) связью (например, трегалоза дрожжей). В составе основных кормов ограничено присутствие сахаров с α и β (1 - 2), (1 - 3) и (1 - 6) связями. Исходя из этого, можно предположить, что дополнительный ввод олигосахаров в корма в качестве профилактических средств целесообразен только для тех из них, которые не представлены в кормах. С целью оценки свойств олигосахаров рассмотрим химическую структуру молекул и особенности их конформации. Для описания конформации гликозидной связи используются торсионные углы, описывающие вращение молекул вокруг связей C1-Ox и Cx-Ox, где x - положение гликозилирования. Эти углы обозначаются символами ϕ и ψ соответственно (рис.1). Рис. 1 - Торсионные углы при гликозидной связи

Значения торсионных углов гликозидных связей получают на основе моделирования экспериментальных данных ЯМР и кристаллографии различными методами (молекулярная динамика, молекулярная механика) или расчетными методами квантовой механики [8]. В таблице 2 представлены торсионные углы гликозидных связей наиболее распространенных дисахаров. Таблица 2 - Торсионные углы в α - и β -изомерах гликозидов

Гликозидная связь	Наименование дисахара	Характеристика связи, (град)	ϕ	ψ	ω
	Гомосахара на основе глюкозы как				

мономерной единицы α -изомеры 1-1 Трегалоза 78 78 - 1-2 Коджибиоза 95,8 114,7 - 1-3 Нигероза 95,7 -119,4 - 1-4 Мальтоза 87,2 100,5 - 1-6 Изомальтоза 82,7 167,5 60 β -изомеры 1-1 β - трегалоза -78 -72 - 1-2 Софороза -83,8 119,8 - 1-3 Ламинарибиоза -72,6 -114,2 - 1-4 Целлобиоза -77,5 111,4 - 1-6 Гентиобиоза -81,6 173,1 66 В таблице 3 приведена характеристика связей в дисахарах на основе других моносахаридов. Таблица 3 - Характеристики связей в дисахаридах на основе фруктозы, маннозы, галактозы, рамнозы и ксилозы Гликозидная связь

Наименование дисахара Гомосахара на основе фруктозы как мономерной единицы α - изомеры 1-3 Тураноза 1-4 Мальтулоза 1-6 Палатиноза (изомальтулоза) β - изомеры 1-6 Гентиобиулоза Гомосахара на основе маннозы α -изомеры Маннобиозы Гетеро- и гомосахара на основе галактозы как мономерной единицы α (1-6) Мелибиоза α (1-6) Мелибиулоза Лактоза Гомосахара на основе рамнозы α (1-6) Рутиноза β (1-6) Рутинулоза Гомосахара на основе ксилопиранозы Ксилобиоза На рис. 2 представлена иллюстрация структур молекул дисахаридов, соответствующих минимальной свободной энергии в стабильном конформационном состоянии [9]. На практике φ и ψ – это средние значения углов, которые занимают различное положение, согласно данным конформационных карт. Возможны несколько пространственных взаимоположений молекул в дисахарах: - аксиальные – перпендикулярно плоскости оси; - экваториальные – в той же плоскости и их комбинации. Согласно этому, представленные дисахара можно разделить на следующие группы: 1. один дисахарид с аксиально-аксиальной связью (трегалоза α - α T $\alpha\alpha$) без внутримолекулярных водородных связей и низкой конфигурационной энтропией; 2. четыре дисахарида α (1 - n), n = 1, 2, 3, 4, с аксиально-экваториальной связью (трегалоза α - β (T $\alpha\beta$), коджибиоза (K), нигероза (N) и мальтоза (M)) две альтернативные внутримолекулярные связи со средней конфигурационной энтропией; 3. четыре дисахарида бета 1 - n (n = 1, 2, 3, 4) с экваториально-экваториальной связью (трегалоза β - β (T $\beta\beta$), софороза (S), ламинаробиоза (L), и целлобиоза (C)) с одной внутримолекулярной водородной связи и средней конфигурационной энтропией; 4. два дисахарида с 1 - 6 связью (изомальтоза (I) и гентиобиоза (G)) характеризуется присутствием экстра дигидрального угла ω и двумя доминирующими конформационными состояниями без внутримолекулярных водородных связей. Рис. 2 - Иллюстрация структур, соответствующих минимальной свободной энергии в стабильном конформационном состоянии: T – трегалоза; K – коджибиоза; S – софороза; N – нигероза; L- ламинаробиоза; M – мальтоза; C – целлюлоза; I - изомальтоза; G- гентиобиоза Предполагается, что диэкваториальные связи (в β - дисахарах) более гибки, чем аксиально-экваториальные (α - дисахара) [10]. В данных группах олигосахаров наибольшие отличия имеют изомальтоза и гентиобиоза (I,G), с α и β (1 – 6) связями. Большая удаленность колец благодаря дополнительному узлу гликозидной связи повышает гибкость этих молекул и,

возможно, их адгезивность [11]. Отсутствие внутренних водородных связей делает эти компоненты легко растворимыми в воде без существенного изменения вязкости, что позволяет им легко диффундировать к поверхности поглощения (эпителию) в процессе пищеварения. В зависимости от молекулярной массы данные вещества могут либо проникать через эпителий, либо адсорбироваться на поверхности стенок, вступая во взаимосвязь с симбиотной микрофлорой. Некоторые из представленных сахаров, имеющие связи α и β (1 - 2), (1 - 3) и (1 - 6) (коджибиоза К, нигероза N, ламинаробиоза L, изомальтоза I, гентиобиоза G) являются продуктами ферментативных реакций трансфераз и в природе встречаются в высших грибах, меде, некоторых лекарственных растениях, внеклеточных полисахаридах. В опыте по определению влияния различных гликозидных связей на селективность микробной ферментации рассчитывали пребиотический индекс (PI) для каждого дисахарида. Дисахара со связью α и β (1 - 2), (1 - 4) и (1 - 6) давали более высокий PI, среди которых коджибиоза и софороза показали более высокие значения [12]. Олигосахара со связями α и β (1 - 3) и (1 - 6) обладают способностью снижать адгезию патогенных бактерий к слизистой поверхности кишечника. Интересен опыт снижения адгезивной активности *Corynebacterium diphtheriae* на эритроциты с помощью биополимеров природного происхождения. Исследовались полимеры на основе (1 - 3) и (1 - 6) β - D глюканов. Обработка микроорганизмов данными полимерами приводило к 1,5 - 2 кратному снижению адгезивной активности. Результаты эксперимента коррелируют с молекулярной массой и концентрацией полисахаридов. По-видимому, исследуемые полисахариды частично экранируют рецепторы мембран эритроцитов, что приводит к снижению возможности *C. diphtheriae* осуществлять адгезию на слизистых оболочках [13]. Кроме химической структуры, большое значение имеет и степень полимеризации (СП) олигосахаров. В опытах [14] исследовалось влияние СП олигосахара на селективный рост фекальных бактерий. Так олигосахара с СП 3, полученные на основе мальтозы (альтернасахаразы и декстрансахаразы) в анаэробной ферментации *in vitro* обладают высокой селективностью по отношению к бифидобактериям. СП 6-7 также влияет на селективную ферментацию. СП более 7 не влияет на рост полезной микрофлоры. Таким образом, ростом бактерий (полезной микрофлоры) можно управлять с помощью СП олигосахаров, обладающих селективной активностью. Повышая СП можно повысить адгезионную активность некоторых олигосахаров. С точки зрения производства, среди олигосахаров с ограниченным поступлением в корма - α и β (1 - 2), (1 - 3) и (1 - 6), наиболее привлекательными являются олигосахара со связями α (1 - 6), которые могут быть получены микробиологическим способом с использованием ферментов и микроорганизмов-продуцентов, в частности декстраны и олигодекстраны, получаемые микробиологическим способом. Большинство олигосахаров являются питательной средой для микрофлоры

верхних отделов кишечника и до нижних отделов они практически не доходят, так как продолжительность прохождения корма через ЖКТ животного, например, свиньи более 30 часов. Олигодекстраны являются более устойчивыми к действию пищеварительных соков и в зависимости от СП способны селективно стимулировать рост собственной микрофлоры кишечника, обладать антиадгезивным действием и служить источником энергии для микрофлоры нижних отделов кишечника (толстая кишка). Кишечная микрофлора является сложнейшим симбиозом различных микроорганизмов. На рис.3 представлены основные виды бактерий ЖКТ однокамерных животных (молодняк свиней) [15].

Рис. 3 - Влияние диеты на содержание аэробов, анаэробов, лактобацилл, колиформ, стрептококков, стафилококков, плесени и дрожжей в кишечнике В работе [16] методом ПЦР определены представители кишечной микрофлоры (свиней), среди которых эубактерии, клостридии и лактобациллы являются наиболее представительными и многочисленными. Согласно этим данным все отделы кишечника колонизированы большим количеством различных представителей микрофлоры и представляют собой сложнейшую симбиотическую систему, которая тонко реагирует на любые изменения в окружающей среде в тесной взаимосвязи с поверхностью эпителия. Питательной средой для жизнедеятельности кишечной микрофлоры являются устойчивые к действию пищеварительной системы компоненты кормов, среди которых олигосахара являются наиболее значимыми. При избытке белковых веществ и недостатке углеводов некоторые бактерии (клостридии) способны извлекать энергию из аминокислот, образуя в качестве побочных продуктов токсичные вещества. Ключевым критерием функциональности олигосахаров является их устойчивость к действию пищеварительной системы [1]. В силу особенностей строения олигодекстраны обладают довольно высокой устойчивостью к действию пищеварительных ферментов, а также многих бактерий кишечника, и в зависимости от СП они способны дойти до низших отделов кишечника. При наличии сбраживаемых сахаров в толстом кишечнике наблюдается эффект переключения процессов образования токсичных веществ (аммиака, изовалериатов и т.д.), образуемых в результате сбраживания неусвоенных белков и аминокислот на процессы образования ЛЖК (преимущественно, масляная кислота), как например в опыте с использованием инулина на микрофлоре кишечника человека с добавлением *Clostridium difficile* [17]. Масляная кислота является антагонистом патогенных бактерий и служит источником энергии для клеток эпителия, способствуя их размножению и росту. Кроме того, благоприятные условия в толстом кишечнике способствуют образованию иммуноглобулинов и соответственно формированию качественного иммунного ответа организма. В работе [18] исследовалось влияние олигодекстранов с различной СП (от 12 до 37 глюкозных единиц) на численность бактерий определенных представителей фекальной массы. Согласно

полученным данным видно, что при относительно низкой СП происходит заметная селективная стимуляция роста бифидобактерий и эубактерий, исходя из чего можно предположить способность этих бактерий поглощать данные олигосахара и наличие у них ферментативной системы способной гидролизовать связи в олигодекстрани. Интересное явление наблюдается при СП 19, когда на 24-м часе происходит практически одинаковый рост всех бактерий. Возможно, поглощающая способность бактерий ограничивается размерами молекул и для их усвоения необходим предварительный гидролиз более крупных молекул олигодекстрана бактериями, имеющими соответствующие ферменты, что позволяет другим бактериям использовать остаточные продукты гидролиза. При дальнейшем увеличении СП происходит преимущественно рост тех же бактерий, что и при низкой СП - бактерии отщепляют от больших молекул только то, что могут поглотить. Метаболитами ассимиляции олигодекстрана являются такие важные короткоцепочечные жирные кислоты как уксусная, пропионовая и масляная кислоты, которые активно участвуют в энергообмене организма. До СП 19 наблюдается повышение их образования. При более высоких СП наблюдается рост только уксусной и пропионовой кислот. Таким образом, управляя СП олигодекстранов можно влиять на бактериальный фон микрофлоры и соотношение их метаболитов – органических кислот, обладающих высокой физиологической активностью. В промышленных опытах на птице сравнивали олигодекстраны с другим пребиотиком (МОС- маннанолигосахара) и антибиотиком по критериям сохранности, привесов, потребления корма и конверсии корма [19]. Согласно полученным данным сохранность птицы при применении олигодекстрана достигает 99 %, что превышает сохранность птицы при применении МОС (98,68 %) и близко к сохранности птицы при применении антибиотиков (99,3 %), т.е. по данному критерию олигодекстраны могут являться альтернативой антибиотикам. Показатель конверсии корма наилучший в кормах с олигодекстраном (1,833) по сравнению с МОС (1,839) и антибиотиками (1,851). Однако в опытах с олигодекстраном отмечается меньшая поедаемость корма и более низкие привесы. Причина снижения потребления корма и соответственно привесов, вероятно, связана с энергонасыщенностью олигодекстранов, которые ферментируются кишечной микрофлорой с выделением энергии, которая не идет на привесы, а возможно поступает на другие цели. В заключении следует отметить, что корма животных богаты углеводами и дополнительный ввод олигосахаров имеет смысл только в случае положительного влияния на показатели продуктивности и сохранности животных. Предположительно, среди перспективных олигосахаров в качестве кандидатов в пребиотики или функциональные олигосахара могут выступать олигосахара со связями α и β (1 - 2), (1 - 3) и (1 - 6). С одной стороны, они могут стимулировать рост положительной микрофлоры, с другой выступать в качестве антиадгезивов, снижая негативное действие патогенной и условно-патогенной

микрофлоры, а также активных участников биопроцессов в нижних отделах кишечника