УДК 577.12:636.59.085.16

Біохімічні критерії вітамінного живлення молодняку перепелів

В.В. ОТЧЕНАШКО, *кандидат сільськогосподарських наук, докторант*
Національний університет біоресурсів і природокористування України

У статті розглянуті теоретичні та практичні аспекти оцінки вітамінного живлення на основі вивчення специфічних біохімічних показників у перепелів породи фараон у 42-добовому віці. Встановлені зв'язки між рівнями вітаміну А та рибофлавіну у кормах й вмістом вітамінів у плазмі крові, печінці. Використано коефіцієнт активності глутатіонредуктази еритроцитів як критерій оцінки рибофлавінового статусу організму перепелів.

Перепели, порода фараон, біохімія, вітамін А, рибофлавін

Біохімічний статус птиці, наявність референтних значень показників біорідин чи тканин, поняття фізіологічної норми – все це є предметом дискусій спеціалістів з живлення тварин, ветеринарної медицини, біохіміків, оскільки норма визначається комплексом показників, які свідчать про функціональний статус організму у конкретних умовах.

Вікова динаміка фізіологічних, біохімічних та імунологічних показників у молодняку є відображенням адаптаційно-компенсаторних процесів становлення організму, формування динамічної стійкості внутрішнього середовища, що пояснює відмінності у біохімічних показниках у молодняку та дорослих тварин [4].

Класичний підхід до оцінки вітамінної забезпеченості птиці передбачає використання таких методів діагностування [1, 3]:

1. Розрахункові (оцінка надходження вітамінів до організму за даними хімічного складу кормів раціону).
2. Фізіологічні дослідження функцій організму, у яких беруть участь вітаміни.
3. Визначення вмісту вітамінів та продуктів їх обміну у біологічних субстратах (кров, послід, тканини) та виділеній продукції (яйця).
4. Функціональні методи, засновані на оцінці метаболічних процесів, у яких безпосередньо беруть участь вітаміни.

Розробляючи норми вітамінного живлення птиці, дослідники за вибору тестів орієнтуються на біологічну роль вітаміну, доступність методики під час лабораторних випробувань зразків та його надійність.

Проблема інтерпретації результатів експериментів особливо ускладнена за умов відсутності клінічних проявів дефіциту вітамінів, тим більше коли поставлено завдання оптимізувати вміст вітамінів у кормі. Далеко не завжди визначення вмісту вітамінів у сироватці (плазмі) крові є надійним критерієм вітамінної забезпеченості птиці. Не випадково, що визначальним фактором, що обумовлює вибір оптимальних параметрів вітамінного живлення, часто є рівень продуктивності птиці.

Відносно повноцінності А-вітамінного живлення, враховуючи широкий спектр біологічної ролі цього вітаміну, тестування здійснюється шляхом вивчення його нагромадження у органах і тканинах й порівняння з референтними значеннями для виду птиці [1].

Біохімічним індикатором рибофлавінового статусу є коефіцієнт активності глутатіонредуктази еритроцитів (EGRAC) [6, 7, 8].

Глутатіонредуктаза (КФ 1.8.1.7, англ. Glutathione reductase) – фермент, який відновлює дисульфідний зв'язок окисленого глутатіону

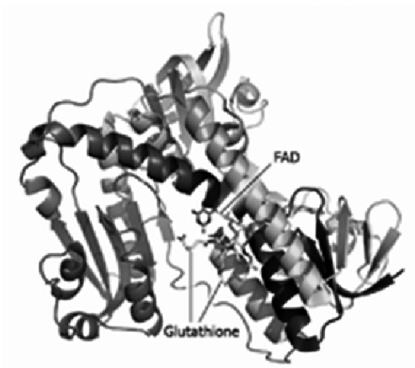

Рис. 1 Структура глутатіонредуктази

(GSSG) до його сульфгідрильної форми (GSH). Відновлення глутатіону відбувається за рахунок енергії НАДФ-Н, що утворюється в пентозному циклі. Активність цього флавін-залежного ферменту визначається без або з додаванням у середовище флавідаденіндиклеотиду (ФАД) й розрахунком співвідношення між активностями *(Рис. 1).* Високе значення цього коефіцієнту (понад 1,3) може свідчити про дефіцит рибофлавіну.

Враховуючи, що проблема вітамінного живлення молодняку перепелів м'ясного напряму продуктивності недостатньо висвітлена у спеціальній літературі, актуальним є вивчення не лише цього питання, але й аналізу надійності критеріїв оцінки повноцінності вітамінного живлення.

Мета досліджень полягає у вивченні біохімічних показників та зв'язку їх із вмістом вітаміну А та рибофлавіну в комбікормах для молодняку перепелів м'ясного напряму продуктивності.

Матеріал та методи досліджень. Науково-господарський дослід проводився за методом груп в умовах проблемної науково-дослідної лабораторії кормових добавок НУБіП України. Матеріалом для досліду був молодняк перепелів породи фараон. Згідно зі схемою досліду *(табл. 1)* у добовому віці було відібрано 600 перепелів, з яких сформували 6 груп – контрольну і 5 дослідних, по 100 голів у кожній.

Тривалість зрівняльного періоду становила п'ять діб, основного – 37 діб. Піддослідне поголів'я молодняку перепелів утримувалося у одноярусних кліткових батареях. Напування птиці здійснювалося за допомогою вакуумних напувалок. Параметри мікроклімату приміщення, де утримувалася птиця, відповідали встановленим нормативам [2].

Годували піддослідних перепелів розсипними повнораціонними комбікормами за спеціальною рецептурою (на основі кукурудзи, пшениці та шроту соєвого). Вміст вітаміну А та рибофлавіну в комбі-

1. Схема науково-господарського досліду

Група	Поголів'я птахів, гол.	Період досліду			
		зрівняльний (5 діб)		основний (37 доби)	
		вміст вітаміну 1 кг корму			
		А, МО	рибофлавіну, мг	А, МО	рибофлавіну, мг
1 – контрольна	100	15000	5	15000	5
Дослідні: 2	100			18000	5
3	100			12000	5
4	100			9000	5
5	100			15000	7

2. Вміст поживних речовин у 100 г комбікорму, %

Показник	Група					
	1	2	3	4	5	6
Обмінна енергія, МДж	1,28					
Сирий протеїн	28,00					
Сирий жир	5,393					
Сира клітковина	2,293					
Кальцій	1,0					
Фосфор загальний	0,80					
Натрій	0,15					
Лізин	1,60					
Метіонін	0,75					
Вітамін А, МО	1500	1800	1200	900	1500	1500
Вітамін D_3, МО	424					
Вітамін B_2, мг	0,5	0,5	0,5	0,5	0,7	0,3
Цинк, мг	4,8978					

Примітка: вміст у 1 кг корму вітаміну Е – 54 мг, К – 2,7 мг, тіаміну – 7,36 мг, B_3 – 20,2 мг, B_4 – 1393 мг, B_5 – 50,4 мг, B_6 – 5,92 мг, B_7 – 108,04 мкг, B_{12} – 21,60 мкг, Fe – 60,68 мг, Cu – 7,4 мг, Mn – 118,4 мг, I – 1,48 мг, Co – 1,18 мг, Se – 0,44 мг.

3. Вміст вітамінів у плазмі крові

Показник	Група					
	1	2	3	4	5	6
Ретинол, мг/л	1,23±0,01	1,28±0,01	1,21±0,01	1,07±0,03*	1,34±0,01***	1,25±0,02
Тіамін, мкг/л	51,0±1,76	50,33±1,76	56,33±6,67	57,67±8,09	55,67±4,67	44,67±5,24
Рибофлавін, мкг/л	42,33±2,60	45,33±1,45	39,33±1,76	37,00±2,31	53,33±2,60*	35,33±2,85
Піридоксин, мкг/л	118,33±7,51	121,33±8,29	125,33±7,45	110,33±7,54	123,33±9,53	115,67±6,06
Пантотенова кислота, мкг/л	263,33±59,98	281,00±46,29	276,00±16,20	253,00±34,95	317,00±28,92	277,33±13,28
Фолієва кислота, мкг/л	22,00±2,89	23,67±2,85	16,33±3,18	12,67±1,20	27,33±2,03	18,67±2,40
Біотин, мкг/л	4,33±0,41	5,33±0,41	3,37±0,38	4,03±0,34	5,52±0,72	3,83±0,47
Ніацин, мкг/л	457,00±40,58	331,33±67,87	334,00±40,78	296,67±69,44	401,67±26,44	258,67±66,10

*Примітка: * – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001 порівняно з 1-ю групою.*

4. Активність глутатіонредуктази (ГР) в еритроцитах та біомаркер рибофлавінового статусу

Група	Активність ГР, ммоль/ г Hb / год	EGRAC
1	98,67 ± 6,69	1,25 ± 0,04
2	102,67 ± 12,25	1,28 ± 0,07
3	94,00 ± 5,20	1,23 ± 0,06
4	89,33 ± 10,40	1,30 ± 0,03
5	112,00 ± 7,37	1,19 ± 0,05
6	83,00 ± 6,66	1,35 ± 0,04

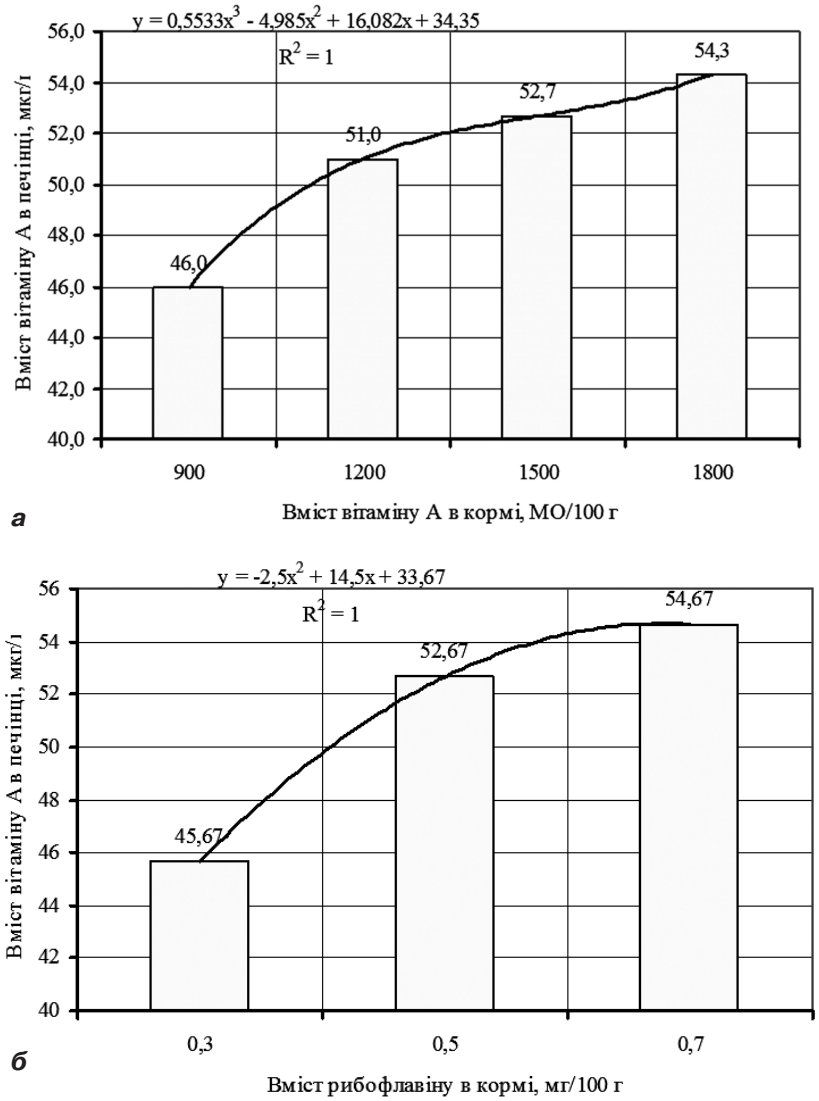

Рис. 2 Нагромадження ретинолу у печінці залежно від рівнів вітаміну А (а) та рибофлавіну (б) у кормі

кормах регулювали за рахунок відповідних вітамінних препаратів для забезпечення умов експерименту, тоді як за іншими поживними речовинами помітної різниці не спостерігалося *(табл. 2)*.

У кінці експерименту з метою дослідження біохімічних показників крові та печінки здійснювали контрольний забій перепелів. Птиці перерізували кровоносні судини із внутрішньої сторони шиї, з кожної групи було відібрано по три типових перепели 42-добового віку.

Визначення вітамінів у тканинах здійснювали методом високоефективної рідинної хроматографії з використанням рідинного хроматографу "Хромос ЖХ-301".

Активність глутатіонредуктази в еритроцитах вимірювали за швидкістю зменшення оптичної щільності при довжині хвилі 340 нм, зумовленої окисленням НАДФН.Н+ [5]. Коефіцієнт активності глутатіонредуктази (EGRAC) визначали за методикою G.E. Nichoalds [7], як співвідношення активності ферментів з додаванням ФАД у реакційне середовище та без додавання ФАД.

Біометричну обробку даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення MS Excel з використанням вбудованих статистичних функцій.

Результати досліджень. Критика окремими дослідниками доцільності визначення вмісту вітамінів у плазмі (сироватці) крові у зв'язку з їх ненадійністю, внаслідок того, що функції вітамінів проявляються лише усередині клітини, є не зовсім обґрунтованою. Доказами цього є не лише наявність великої кількості позаклітинних ферментних систем, але й особлива роль крові як транспортної системи.

Дані відносно вмісту вітамінів у крові перепеленят *(табл. 3)* свідчать не лише про вплив на них рівнів ретинолу та рибофлавіну в кормі, але й про взаємозв'язки між різними вітамінами.

Встановлено, що зниження вмісту вітаміну А в кормі від 1500 до 900 МО/100 г призводило до вірогідного ($P<0,05$) зниження вмісту ретинолу в плазмі крові на 13%, а також позитивний вплив збільшення вмісту рибофлавіну в кормі на вміст ретинолу (+9%, $P<0,001$).

Відносно залежностей між рівнями вітамінів у кормах та їх вмістом у крові, було встановлено помірний зв'язок між вмістом вітаміну А в кормі та вмістом піридоксину й ніацину (r_s = 0,40), а також сильний – відносно вмісту ретинолу (r_s = 0,82), тіаміну (r_s = –0,97), рибофлавіну (r_s = 0,82), пантотенової кислоти і біотину (r_s = 0,80), фолієвої кислоти (r_s =

0,99). Визначено помірний зв'язок між вмістом рибофлавіну в кормі й вмістом у плазмі крові ретинолу, пантотенової кислоти і ніацину (r_s = 0,50), а також сильний – відносно вмісту в плазмі рибофлавіну, тіаміну, піридоксину, фолієвої кислоти та біотину (r_s = 0,9).

Нагромадження ретинолу у печінці перепелів *(рис. 2)* відзначалося також прямою залежністю з рівнями вітаміну А і рибофлавіну у кормі та найкраще описувалося поліноміальною кривою.

Специфічні критерії для оцінки рибофлавінового статусу організму подані у *таблиці 4*.

Аналіз спеціальних джерел показує, що дослідження активності глутатіонредуктази є недостатнім для інтерпретації результатів, оскільки зміна активності цього ферменту залежно від дії різноманітних факторів може відбуватися у різному напрямі: як у сторону збільшення, так і зменшення. Тому використання такого індикатора як коефіцієнт активності ГР є найбільш раціональним як з точки зору визначення дефіцитних станів, так і порівняльної оцінки.

У проведеному експерименті можна відзначити статистично значущу різницю між 5-ю та 6-ю групами ($P<0,05$) як за активністю ГР, так і за коефіцієнтом. Відносно визначення оптимальної дози рибофлавіну у кормі за значенням EGRAC слід орієнтуватися, ймовірно, на найбільш низьке його значення у експерименті. Нині критичний рівень цього коефіцієнта, який може свідчити про наявність клінічних зрушень, залишається предметом досліджень.

Висновки

Оцінка вітамінного живлення птиці повинна здійснюватися за комплексом показників, які характеризують не лише нагромадження їх у кормі та біосубстратах, але й функції вітамінів. Критеріями для вибору оптимальної дози вітаміну А та рибофлавіну є відносно максимальний їх вміст у плазмі крові та печінці, сприятливий вплив на вміст інших вітамінів (тіаміну, фолієвої кислоти, біотину).

Застосування методики визначення коефіцієнту активності глутатіонредуктази еритроцитів (EGRAC) для оцінки рибофлавінового статусу перепелів може слугувати єдиним надійним критерієм, найнижче значення якого свідчить про оптимальний рівень вітаміну в кормі.

Перспективи подальших досліджень полягають у збільшенні експериментів на перепелах різних виробничих груп та напрямів продуктивності для встановлення референтних значень вмісту вітамінів у біосубстратах та критеріїв оцінки повноцінності вітамінного живлення.

В статье рассмотрены теоретические и практические аспекты оценки витаминного питания на основе изучения специфических биохимических показателей у перепелов породы фараон в 42-дневном возрасте. Установлены связи между уровнями витамина А и рибофлавина в кормах и содержанием витаминов в плазме крови, печени. Использовано коэффициент активности глутатионредуктазы эритроцитов как критерий оценки рибофлавинового статуса организма перепелов.

Перепела, порода фараон, биохимия, витамин А, рибофлавин

The article deals with theoretical and practical aspects of vitamin nutrition assessment based on the study of specific biochemical parameters in quail breed Pharaoh in 42-day age. Established links between levels of vitamin A and riboflavin in the feeds and vitamins in plasma, liver. Used the erythrocyte glutathione reductase activity coefficient (EGRAC) is a biochemical indicator of riboflavin status quail

Pharaoh breed, biochemistry, vitamin A, riboflavin

Література

1. Вальдман А. Р. Витамины в питании животных (Метаболизм и потребность) / А.Р.Вальдман, П.Ф.Сурай, И.А.Ионов, Н.И.Сахацкий. – Харьков : РИП "Оригинал", 1993. – С. 6-352.

2. Виробництво м'яса перепелів. Технологічний процес. Основні параметри: СОУ 01.24-37-537: 2006. – [Чинний від 2006-12-25] / О.Пономаренко, Т.Ручко, М.Сахацький, І.Хлюпка. – К. : Мінагрополітики України, 2006. – 16 с. (Стандарт організацій України).

3. Годівля сільськогосподарських тварин : підручник для підгот. фах. "Ветеринарна медицина" / І.І.Ібатуллін, Д.О.Мельничук, Г.О.Богданов [та ін.]; за ред. І.І.Ібатулліна. – Вінниця : Нова книга, 2007. – 612 с.

4. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической диагностики : Справочник / [И.П.Кондрахин, А.В.Архипов, В.И.Левченко и др.] ; под ред. И.П.Кондрахина. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.

5. Хотимченко С.А. Определение активности глутатионредуктазы эритроцитов и ФАД-эффекта. / Хотимченко С.А., Алексеева И.А., Гвоздева Л.Г., Смирнова А.Н. // Теоретические и клинические аспекты науки о питании. Методы оценки обеспеченности населения витаминами: Сб. научных трудов. – М., 1987. – Т. 8. – С. 107-109.

6. Hoey L. Studies of biomarker responses to intervention with riboflavin : a systematic review / L.Hoey, H.McNulty, J.J.Strain // The American Journal of Clinical Nutrition. – 2009. – Vol. 89 (suppl.). – P. 1960-1980.

7. Nichoalds G.E. Assessment of status of riboflavin nutriture by assay of erythrocyte glutathione reductase activity / G.E.Nichoalds // Clinical Chemistry. – 1974. – Vol. 20 (5). – P. 624-628.

8. Pettigrew J.E. Riboflavin Nutrition of Sows / J.E.Pettigrew, S.M.El-Kandelgy, L.J.Johnston, G.C.Shurson // Journal of Animal Science. – 1996. – Vol. 74. – P.2226–2230.