

**СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ УЛЬТРАДИСПЕРСНОГО СПЛАВА, СОЛЕЙ И ОРГАНИЧЕСКИХ ФОРМ Cu И Zn КАК ИСТОЧНИКОВ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В КОРМЛЕНИИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ\*****Е.А. СИЗОВА<sup>1, 2</sup>, С.А. МИРОШНИКОВ<sup>1</sup>, С.В. ЛЕБЕДЕВ<sup>1, 2</sup>,  
Ю.И. ЛЕВАХИН<sup>1</sup>, И.А. БАБИЧЕВА<sup>3</sup>, В.И. КОСИЛОВ<sup>3</sup>**

Необходимость максимальной реализации генетического потенциала современных пород и кроссов сельскохозяйственных животных предполагает, в том числе, повышение насыщенности рациона минеральными веществами, что сопряжено с возрастанием экологической нагрузки. В связи с этим актуальны исследования по созданию новых источников эссенциальных химических элементов с относительно меньшей токсичностью и более высокой биодоступностью компонентов. К перспективным препаратам можно отнести ультрадисперсные частицы (УДЧ). Мы впервые сравнили продуктивное и биологическое действие разных форм двух эссенциальных микроэлементов — цинка и меди (УДЧ их сплава, аспарагинаты и сульфаты) на цыплят-бройлеров кросса Смена 7 и показали в целом большую доступность, более выраженный положительный эффект УДЧ и неодинаковое влияние изученных форм на минеральный обмен. Введение препарата УДЧ в рацион подопытной птицы сопровождалось повышением интенсивности ее роста на 3,9 % ( $P \leq 0,05$ ) в сравнении с показателями при применении минеральных солей и на 4,7 % ( $P \leq 0,01$ ) — относительно аспарагинатов. В сыворотке крови цыплят, получавших УДЧ, концентрация NO-метаболитов увеличивалась на 9,8 % ( $P \leq 0,05$ ); 21,0 ( $P \leq 0,01$ ); 13,0 ( $P \leq 0,05$ ) и 11,0 % ( $P \leq 0,05$ ) относительно контроля соответственно на 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сут эксперимента. Аналогичная разница с контролем по количеству эритроцитов и гемоглобина в крови к окончанию исследований составила 6,27 ( $P \leq 0,05$ ) и 19,40 % ( $P \leq 0,001$ ), относительно группы, получавшей аспарагинаты, — соответственно 5,21 и 12,60 %. Замена в рационе минеральной соли меди на препарат УДЧ и аспарагинат сопровождалась увеличением пула этого элементов в организме в 42-суточном возрасте соответственно на 51,6 ( $P \leq 0,01$ ) и 13,2 %. В то же время при оценке пула цинка мы отмечали его снижение при скармливании аспарагината к концу эксперимента на 22,9 % относительно контроля, тогда как при использовании УДЧ, напротив, величина пула цинка превышала контроль на 12,5 % ( $P \leq 0,05$ ). Используемые препараты меди и цинка неодинаково повлияли на обмен ряда химических элементов в организме цыплят. Так, при скармливании УДЧ и аспарагинатов пулы Ni, Al, Sn уменьшались, I и Co — значительно увеличивались относительно контроля. Отличительной особенностью действия УДЧ в сравнении с аспарагинатами стал рост пула Pb и Cd, что могло быть результатом изменения нагрузки на транспортные системы в кишечнике при использовании ультрадисперсного препарата.

**Ключевые слова:** ультрадисперсные частицы сплава меди и цинка, аспарагинаты, цыплята-бройлеры, продуктивность, элементный состав, биохимические и морфологические показатели крови.

По некоторым оценкам, развитие нанотехнологий обеспечит к 2020 году создание отраслей промышленного и сельскохозяйственного производства с годовым оборотом от \$3,0 (1) до \$3,4 трлн (2). Уже сейчас фактическое производство наноматериалов превышает 100 тыс. т в год (3). Наноматериалы, наряду со все более широким использованием в медицине и биологии (4-6), получают распространение в сельском хозяйстве (7, 8), пищевой и перерабатывающей промышленности (9, 10). Только в США ежегодный темп роста этого сектора составляет 25 % (\$1,08 млрд) (11). В сельском хозяйстве использование наноматериалов в качестве препаратов микроэлементов определяется их заметно меньшей токсичностью (12, 13) и более высокой биодоступностью (14, 15). Последнее, в частности, позволило в условиях КНР обеспечить снижение загрязнения окру-

\* Образцы изучали в лаборатории «Агроэкология техногенных наноматериалов» Испытательного центра ФГБНУ Всероссийского НИИ мясного скотоводства РАН (аттестат аккредитации RA. RU.21ПФ59 от 02.12.15) с использованием оборудования ЦКП ВНИИМС РАН. Анализ элементного состава выполнен в лаборатории АНО «Центр биохимической медицины», г. Москва (аттестат аккредитации ГСЭН.RU.ЦАО.311, Регистрационный номер в Государственном реестре РОСС RU. 0001.513118). Работа проведена в рамках проекта РНФ № 14-16-00060-П.

жающей среды при производстве и использовании кормов (16).

Возможность применения наноразмерных форм микроэлементов впервые показали в медицине, в частности, были созданы препараты для лечения анемии. Так, Ferumoxytol (Feraheme®, «AMAG Pharmaceuticals, Inc.», США), содержащий суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (USPIO), одобрен US Food and Drug Administration (FDA) для железо-заместительной терапии, прежде всего у пациентов с хронической болезнью почек (17), и получил распространение при МРТ-исследованиях (18).

В настоящее время в литературе есть указания на использование в животноводстве различных наноструктурных источников микроэлементов, в том числе селена (19), железа (20), хрома (21) цинка (22), меди (23) и др. Как правило, это препараты, содержащие один микроэлемент в форме наночастиц. Однако по мере развития концепции синтеза и применения этих веществ становится очевидной перспективность комплексов микроэлементов, в том числе антагонистов (24).

Наука накопила большой объем знаний о характере и механизмах антагонистических взаимодействий химических элементов с другими элементами (25-27), фитатом (28), аминокислотами и их солями (29), полифенолами и пептидами (30) и др. в организме человека и животных, особенно на этапе абсорбции в пищеварительном тракте. Целесообразность изучения таких взаимодействий определяется необходимостью решения задач по донозологической диагностике и лечению элементозов, коррекции диет (31), оценке истинной питательности рационов (32). Антагонизм способен снизить усвояемость некоторых элементов, что требует увеличения нормы их ввода и может негативно сказаться на окружающей среде. Для исключения антагонистических взаимоотношений при всасывании ранее предлагалось раздельное скармливание веществ-антагонистов (Патент на изобретение RUS 2195269 14.02.2001).

В этом сообщении нами впервые показано, что продуктивное и биологическое действие разных форм двух эссенциальных микроэлементов — цинка и меди (сплав в виде УДЧ, аспарагинаты и сульфаты) и их влияние на минеральный обмен цыплят-бройлеров кросса Смена 7 неодинаково, при этом УДЧ имели в целом большую доступность и более выраженное положительное действие.

Целью работы было изучение эффективности препарата ультрадисперсных частиц сплава меди и цинка как минеральной добавки в кормлении цыплят-бройлеров в сравнении с минеральными солями и органической формой этих элементов.

*Методика.* В качестве источников микроэлементов использовали аспарагинаты меди и цинка (ООО «В-Мин+», г. Сергиев Посад, Россия), минеральные соли  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  и  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  («Ленреактив», г. Санкт-Петербург, Россия) и порошок ультрадисперсных частиц сплава Cu-Zn (УДЧ Cu-Zn) производства ООО «Передовые порошковые технологии» (г. Томск, Россия). УДЧ Cu-Zn получали методом электрического взрыва проводника в атмосфере аргона. Материаловедческая аттестация УДЧ включала электронную сканирующую и просвечивающую микроскопию на JSM 7401F и JEM-2000FX («JEOL», Япония). Рентгенофазовый анализ выполняли на дифрактометре ДРОН-7 (НПО «Буревестник», Россия). По итогам аттестации размер частиц (d)  $65 \pm 15$  нм с соотношением  $Cu^0$   $60 \pm 3,5$  %,  $Zn^0$   $40 \pm 2,9$  %; Z-потенциал  $12 \pm 0,4$  мВ, удельная поверхность  $5 \pm 1,6$  м<sup>2</sup>/г. При получении лиозолей водные взвеси УДЧ Cu-Zn обрабатывали ультразвуком на диспергаторе УЗДН-2Т («НПП Академприбор», Россия) при 35 кГц, 300/450 Вт, 10 мкА в течение 30 мин. Лиозоль вводили в

комбикорм ступенчатым смешиванием.

Исследования проводили на цыплятах-бройлерах кросса Смена 7 в условиях вивария Института биоэлементологии Оренбургского государственного университета. Содержание птицы и процедуры при выполнении экспериментов соответствовали требованиям инструкций и рекомендациям российского регламента (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977) и The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press, Washington, 1996). Были предприняты все усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшить число используемых образцов. Для эксперимента отобрали 90 цыплят в возрасте 1 сут. Птицу, получившую индивидуальный номер (ножные пластиковые бирки), взвешивали и далее содержали в одинаковых условиях. В 2-недельном возрасте на основании данных индивидуального ежесуточного взвешивания и учета затрат корма методом пар-аналогов сформировали три группы: одну контрольную и две опытные (по  $n = 24$ ). Птицу кормили полнорационными комбикормами, составленными с учетом рекомендаций (33) в соответствии с возрастными периодами. Состав основного рациона (ОР) (г/кг) в период с 7-х по 28-е сут: зерно пшеницы — 475, зерно ячменя — 30, кукуруза — 80, шрот соевый — 250, шрот подсолнечный — 70, масло подсолнечное — 50, премикс (приготовлен на основании существующих рекомендаций) — 20, соль поваренная — 3,4, монокальцийфосфат — 13, известняковая мука — 5, DL-метионин 98,5 % — 1,6, монохлоргидрат лизина 98 % — 1, сода пищевая — 1; в возрасте 28-42 сут: зерно пшеницы — 435, кукуруза — 226, шрот соевый — 150, шрот подсолнечный — 100, масло подсолнечное — 50, премикс — 20, соль поваренная — 3, монокальцийфосфат 10,5, известняковая мука — 1, DL-метионин 98,5 % — 1,2, монохлоргидрат лизина 98 % — 2,3, сода пищевая — 1. Контрольные цыплята на протяжении всего эксперимента получали ОР, в который медь и цинк вводили в виде  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  в состав изготовленного премикса, включающего все нормируемые микроэлементы. Птице из опытных групп в период с 14-х по 42-е сут сульфаты меди и цинка в премиксе заменяли на УДЧ Cu-Zn в дозе 2,84 мг/кг корма (I группа) или на аспарагинаты Cu и Zn в той же дозе (II группа). Во всех группах цыплят поили дистиллированной водой.

Рост птицы контролировали ежедневно индивидуальным взвешиванием утром до кормления.

Кровь брали из подкрыльцовой вены утром натошак перед убоем птицы в 21-, 28-, 35- и 42-суточном возрасте (для морфологического исследования — в вакуумные пробирки с антикоагулянтом EDTA, для биохимического — в вакуумные пробирки с тромбином как активатором свертывания). Сыворотку крови исследования не позднее 3 ч после отбора проб.

Морфологические показатели определяли с помощью автоматического гематологического анализатора URIT-2900 Vet Plus («URIT Medial Electronic Co., Ltd», КНР). Биохимические исследования сыворотки крови проводили на автоматическом анализаторе CS-T240 («DIRUI Industrial Co., Ltd», КНР) с использованием коммерческих наборов для ветеринарии (ДиаВетТест, ЗАО «ДИАКОН-ДС», Россия; «Randox Laboratories, Ltd», Великобритания).

Метаболизм химических элементов изучали методом сравнительных убоев. При убое учитывали массу и отбирали образцы тканей и органов для оценки элементного состава, которые замораживали и хранили при  $-18^\circ\text{C}$ . В образцах определяли содержание 25 химических элементов (Ca, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Ni, As, Cr, K, Na, P, Zn, I, V, Co, Se, Ti, Al, Be, Cd, Pb, Hg, Sn, Sr). Совокупный пул элемента в организме на момент убоя

рассчитывали как суммарное содержание в органах и тканях, ретенцию определяли по разнице пулов в конце и начале оцениваемого периода.

Элементный состав органов и тканей изучали методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (Optima 2000 V, «PerkinElmer», США) и масс-спектрометрии (Elan 9000, «PerkinElmer», США). Озоление биосубстратов проводили в микроволновой системе разложения Multiwave-3000 («Anton Paar», Австрия).

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 («StatSoft, Inc.», США) и пакета MS Excel 2000. Представлены средние ( $M$ ) и стандартные ошибки средних ( $\pm SEM$ ). Достоверность различий оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента, статистически значимыми считали различия  $P \leq 0,05$ .

**Результаты.** Контрольные особи на 4,5 % превосходили сверстников из II группы по потреблению комбикормов за период эксперимента. При этом расход корма на прирост 1 кг живой массы в контроле составлял 1,73 кг, что на 3,40 и 4,04 % больше, чем соответственно в I и II группах. Скармливание цыплятам-бройлерам УДЧ Cu-Zn сопровождалось повышением интенсивности роста (рис. 1).

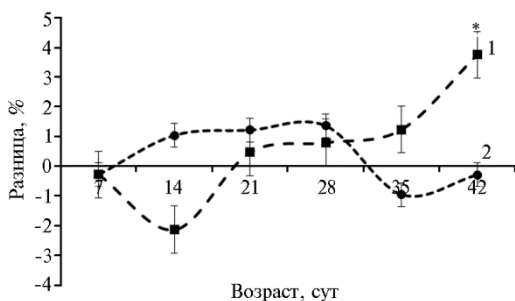


Рис. 1. Разница в живой массе между цыплятами-бройлерами кросса Смена 7 в I группе, получавшей ультрадисперсные частицы сплава Cu-Zn (1), и во II группе, где птице скармливали аспарагинаты Cu и Zn (2), по сравнению с контрольной группой, в которой Cu и Zn в рационе нормировали с использованием сульфатов элементов (группы по  $n = 24$ , опыт в условиях вивария). Звездочка означает, что различия с контролем статистически значимы при  $P \leq 0,05$ .

За основной учетный периода (14-42-е сут жизни) в I группе получили прирост живой массы 2349,9 г, что соответственно на 3,9 ( $P \leq 0,05$ ) и 4,7 % ( $P \leq 0,01$ ) превышало аналогичный показатель в контроле и во II опытной группе. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, описывающих ростостимулирующие эффекты препаратов УДЧ металлов, в том числе в сравнении с традиционными источниками микроэлементов (34, 35). Отметим, что достоверную разницу между группами по интенсивности роста в нашем эксперименте отмечали при высокой скорости роста подращенной птицы (80,8-83,9 г/сут). Это сложно объяснить только большей биодоступностью микроэлементов из препаратов УДЧ, так как птица до начала основного учетного периода содержалась на сбалансированном рационе и накопила пул оцениваемых микроэлементов, вполне достаточный для последующего активного роста, тем более что их необходимое количество поступало на протяжении всего эксперимента.

#### 1. Содержание NO-метаболитов (мкмоль/л) в сыворотке крови цыплят-бройлеров кросса Смена 7 в зависимости от химической формы Cu и Zn, используемой для нормирования рациона по микроэлементам ( $M \pm SEM$ , $n = 6$ , опыт в условиях вивария)

Группа	Возраст, сут			
	21	28	35	42
I опытная	28,9±0,27*	33,8±1,05**	33,5±1,27*	31,0±0,59*
II опытная	24,7±0,70	28,6±0,77	30,5±0,49	32,4±1,96*
Контроль	26,4±0,20	27,9±0,44	29,6±0,78	27,8±2,36

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

\*, \*\* Различия с контролем статистически значимы при  $P \leq 0,05$  и  $P \leq 0,01$ .

По нашему мнению, ростостимулирующий эффект УДЧ определялся специфическим механизмом действия наночастиц на организм животного (36), в том числе через усиление обмена аргинина и синтеза окиси азота. Эту гипотезу подтверждают данные (табл. 1), демонстрирующие нарастающие концентрации NO-метаболитов в сыворотке крови цыплят из I группы на протяжении всего эксперимента — на 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сут соответственно на 9,8 ( $P \leq 0,05$ ), 21,0 ( $P \leq 0,01$ ), 13,0 ( $P \leq 0,05$ ) и 11,0 % ( $P \leq 0,05$ ) относительно контроля.

Различие в механизмах действия оцениваемых препаратов на птицу подтвердила и оценка гематологических параметров. Так, использование препаратов УДЧ и аспарагинатов стимулировало эритропоэз. Это хорошо видно в первые 3 нед применения препаратов (табл. 2).

**2. Возрастная динамика некоторых гематологических показателей у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 в зависимости от химической формы Cu и Zn, используемой для нормирования рациона по микроэлементам ( $M \pm SEM$ ,  $n = 6$ , опыт в условиях вивария)**

Группа	Возраст, сут			
	21	28	35	42
	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$			
I опытная	2,76 $\pm$ 0,095*	2,39 $\pm$ 0,179*	2,27 $\pm$ 0,083	2,71 $\pm$ 0,139*
II опытная	2,95 $\pm$ 0,041**	2,40 $\pm$ 0,182*	2,35 $\pm$ 0,018	2,27 $\pm$ 0,076*
Контроль	2,41 $\pm$ 0,635	2,16 $\pm$ 0,081	2,26 $\pm$ 0,145	2,55 $\pm$ 0,030
	Гемоглобин, г/л			
I опытная	116,7 $\pm$ 1,84	135,7 $\pm$ 1,36**	134,3 $\pm$ 2,67	146,7 $\pm$ 1,57**
II опытная	117,3 $\pm$ 1,76	125,0 $\pm$ 1,72	139,7 $\pm$ 1,96*	130,3 $\pm$ 5,93
Контроль	97,5 $\pm$ 2,50	125,0 $\pm$ 5,00	132,0 $\pm$ 6,03	139,3 $\pm$ 2,19
	Гематокрит, %			
I опытная	21,83 $\pm$ 0,067**	28,10 $\pm$ 1,854**	26,40 $\pm$ 0,529	27,53 $\pm$ 1,780*
II опытная	24,50 $\pm$ 0,321*	28,40 $\pm$ 1,629*	27,97 $\pm$ 0,463*	26,60 $\pm$ 1,790
Контроль	20,05 $\pm$ 0,150	25,10 $\pm$ 0,529	25,47 $\pm$ 1,017	25,17 $\pm$ 0,467
	Лейкоциты, $\times 10^9/л$			
I опытная	28,10 $\pm$ 0,290	39,37 $\pm$ 0,406	36,73 $\pm$ 0,687	30,43 $\pm$ 0,767
II опытная	32,97 $\pm$ 0,373	33,50 $\pm$ 0,139	40,93 $\pm$ 0,476	35,40 $\pm$ 0,312
Контроль	28,45 $\pm$ 0,850	34,30 $\pm$ 0,921	36,33 $\pm$ 0,998	35,73 $\pm$ 0,307
	Лимфоциты, $\times 10^9/л$			
I опытная	12,73 $\pm$ 0,024	18,20 $\pm$ 0,781*	15,73 $\pm$ 0,210	13,13 $\pm$ 0,820
II опытная	11,20 $\pm$ 0,195	12,97 $\pm$ 0,730	18,20 $\pm$ 0,318*	15,63 $\pm$ 0,524
Контроль	11,00 $\pm$ 0,600	10,87 $\pm$ 0,822	15,87 $\pm$ 0,513	15,77 $\pm$ 0,724

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

\*, \*\* Различия с контролем статистически значимы при  $P \leq 0,05$  и  $P \leq 0,01$ .

Наличие изменений в количестве эритроцитов находит отражение в показателе гематокрита, который через 7 сут после начала эксперимента был увеличен в I и II опытных группах на 8,8 и 22,0 % относительно контроля. В дальнейшем разница изменялась в пределах от 3,5 до 11,0 %. К окончанию исследований у цыплят из I опытной группы показатели по эритроцитам, гемоглобину и гематокриту оказались выше, чем в контроле и во II группе соответственно на 6,27 ( $P \leq 0,05$ ) и 19,4 % ( $P \leq 0,001$ ), 5,21 и 12,6 %, 8,66 ( $P \leq 0,05$ ) и 3,4 %. Аналогичное влияние УДЧ меди на количество гемоглобина и эритроцитов описано ранее (37, 38).

Изучение эффектов от введения в рацион различных форм микроэлементов демонстрирует их влияние на морфологическую картину крови и лейкограмму птицы на фоне стимулирования активности окислительно-восстановительных процессов, что, в свою очередь, способствует увеличению интенсивности обмена веществ (39-41). В нашем опыте количество белых клеток крови у цыплят-бройлеров из всех групп находилось в пределах физиологической нормы. К верхней границе нормы приблизились показатели у цыплят из I группы в возрасте 28 сут (через 2 нед после начала эксперимента) при разнице с контролем 14,7 %. При введении смеси аспарагинатов подобный результат (разница с кон-

тролем 12,6 %) отмечали только в 35-суточном возрасте, то есть через 3 нед после начала эксперимента. Увеличение популяции лейкоцитов в I и II группах происходило в основном за счет лимфоцитов (разница с контролем 67,0 и 15,2 %). Эффект увеличения количества белых клеток крови под влиянием ультрадисперсного препарата описывается не впервые. Ранее В.Б. Борисевичем и В.Г. Каплуненко (42) выявлен умеренный лейкоцитоз и усиление фагоцитарной активности лейкоцитарных клеток в результате внесения в корм бройлеров УДЧ меди и смеси наноаквахелатов Ag, Cu, Zn, Mg, Co.

Введение различных форм источников меди и цинка приводило к неодинаковым изменениям биохимических показателей крови цыплят-бройлеров (табл. 3).

### 3. Возрастная динамика биохимических показателей сыворотки крови у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 в зависимости от химической формы Cu и Zn, используемой для нормирования рациона по микроэлементам ( $M \pm SEM$ , $n = 6$ , опыт в условиях вивария)

Группа	Возраст, сут			
	21	28	35	42
	Аланинаминотрансфераза, IU/л			
I опытная	1,07±0,064*	2,83±0,129**	2,07±0,178	4,77±0,296**
II опытная	1,87±0,069*	3,17±0,437*	2,80±0,289	2,37±0,110
Контроль	3,35±0,150	1,30±0,189	1,97±0,198	2,83±0,189
	Аспартаминотрансфераза, IU/л			
I опытная	281,0±11,40	232,7±9,60	261,1±13,10	353,5±9,40
II опытная	231,0±9,60	244,6±18,10	221,9±12,70	272,0±8,70
Контроль	252,2±10,80	225,9±6,00	241,4±10,60	299,9±13,40
	Лактатдегидрогеназа, IU/л			
I опытная	3098,3±36,50*	2693,3±121,40	3104,3±25,00**	2008,0±24,10**
II опытная	3316,3±200,40	2992,3±462,30	2852,0±111,50	2801,3±11,30*
Контроль	3851,0±54,00	2512,0±71,10	2444,3±15,80	3252,0±33,80
	γ-Глутамилтрансфераза, IU/л			
I опытная	13,33±0,882**	19,67±1,764	18,67±0,333*	22,67±1,480
II опытная	19,00±1,155*	17,00±0,142	22,33±1,202	21,67±0,333
Контроль	28,50±1,500	14,67±0,882	20,00±1,646	19,33±1,404
	Креатинин, мкмоль/л			
I опытная	15,9±1,34	19,7±1,34	16,1±1,12	16,9±0,79
II опытная	16,5±0,72	17,2±0,38	15,9±1,39	17,2±1,28
Контроль	24,9±1,65	16,3±1,39	17,8±0,67	16,3±1,83
	Глюкоза, ммоль/л			
I опытная	10,9±0,77*	10,3±0,37*	9,9±0,53	10,8±0,13**
II опытная	9,3±0,64	7,9±0,60	8,9±0,01*	5,9±0,43
Контроль	6,1±0,74	7,4±0,85	9,8±0,82	8,9±0,65
	Общий белок, г/л			
I опытная	30,6±2,75	33,3±0,48*	31,4±1,33	33,1±1,49*
II опытная	33,3±1,22	32,8±0,24*	32,6±0,37	28,2±2,09
Контроль	30,9±1,14	29,4±0,85	30,1±1,85	29,8±1,17
	Холестерин, ммоль/л			
I опытная	4,5±0,08*	4,3±0,07	2,9±0,01**	2,1±0,11**
II опытная	4,3±0,39	4,1±0,25	2,0±0,01	2,2±0,19*
Контроль	4,3±0,52	4,3±0,18	2,1±0,01	1,2±0,06
	Триглицериды, ммоль/л			
I опытная	0,51±0,03	0,16±0,029	0,23±0,036*	0,19±0,021
II опытная	0,36±0,08	0,18±0,069	0,27±0,028*	0,10±0,024
Контроль	0,65±0,07	0,19±0,023	0,15±0,038	0,17±0,007
	Мочевина, ммоль/л			
I опытная	1,07±0,09	1,00±0,058	1,00±0,058	1,10±0,000*
II опытная	1,37±0,07	1,07±0,033	0,93±0,088	0,97±0,033
Контроль	1,55±0,35	0,93±0,033	0,87±0,176	0,93±0,033

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

\*, \*\* Различия с контролем статистически значимы при  $P \leq 0,05$  и  $p \leq 0,01$ .

Количество общего белка в сыворотке крови имело тенденцию к повышению относительно контроля с 28- до 35-суточного возраста при скармливании УДЧ. При этом к окончанию эксперимента (42-е сут) статистически значимые различия с контролем составляли 11,2 % ( $P \leq 0,05$ ), что предполагает положительное влияние используемой добавки на белко-

вый обмен. То же подтверждают повышенные по сравнению с контролем показатели по мочеvine на протяжении всего периода наблюдения. На таком фоне не отмечали критических сдвигов по креатинину, что подтверждает отсутствие нефротоксического действия применяемых препаратов. Концентрация глюкозы в сыворотке крови цыплят из I группы превышала контрольные значения с максимальной разницей 39,1 % ( $P \leq 0,05$ , 28 сут) и 21,8 % ( $P \leq 0,05$ , 42 сут). При этом отмечали тенденцию к повышению концентрации триглицеридов на 11,7-53,3 % ( $P \leq 0,05$ ).

Замена в рационе минеральной соли меди на препарат УДЧ и аспарагинат сопровождалась увеличением пула этого элементов у 42-суточных цыплят соответственно на 51,6 ( $P \leq 0,01$ ) и 13,2 % (рис. 2). В то же время при оценке пула цинка мы отмечали его снижение во II группе к концу эксперимента на 22,9 % относительно контроля, тогда как в I группе его величина превысила контроль на 12,5 % ( $P \leq 0,05$ ). Возможно, по каким-то причинам биодоступность меди из аспарагината (в сравнении с цинком) оказалась выше. В этом случае антагонизм Cu и Zn мог привести к снижению усвояемости цинка. По той же причине использование раздельного скармливания меди и цинка оказывается успешным (43).

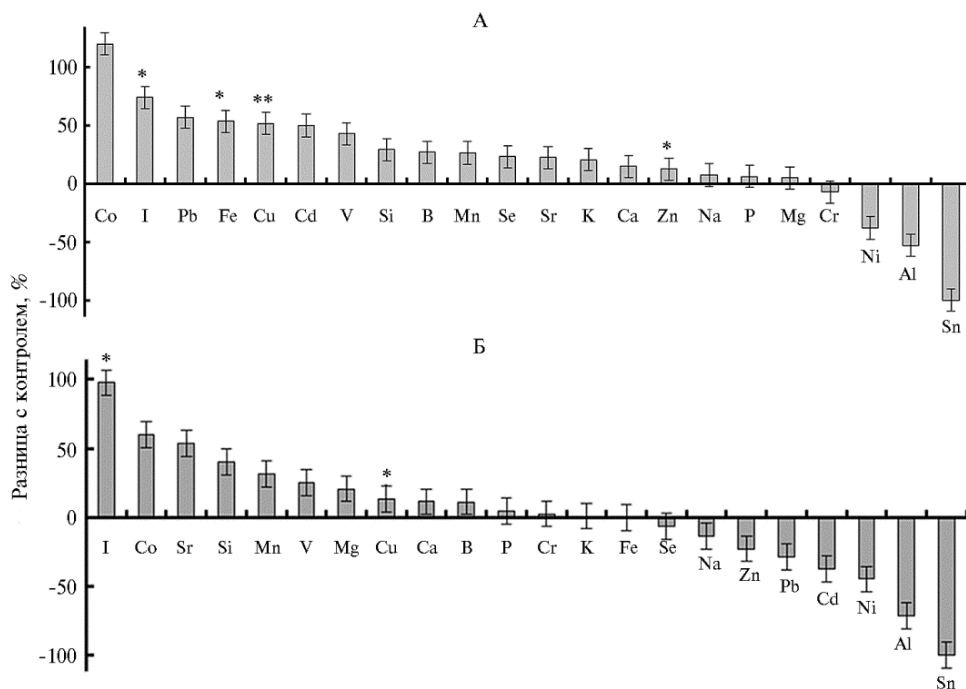
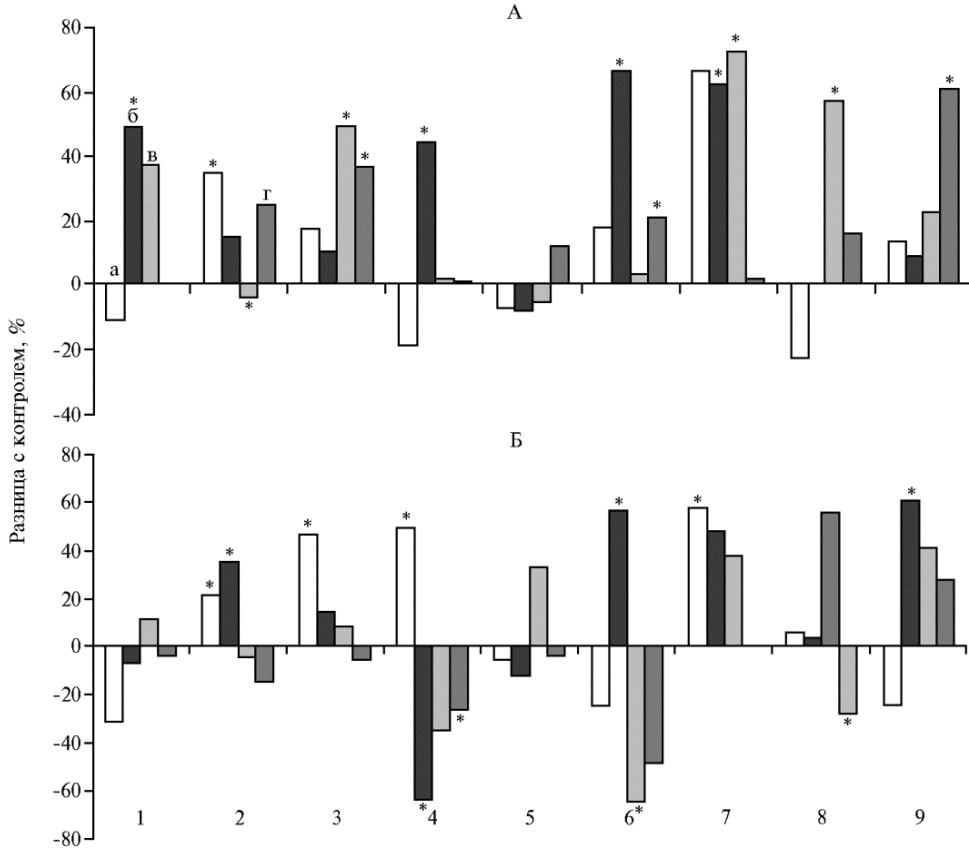


Рис. 2. Разница в величине пула химических элементов у 42-суточных цыплят-бройлеров кросса Смена 7 из I (А) и II (Б) групп по сравнению с контролем в зависимости от химической формы Cu и Zn, используемой для нормирования рациона по микроэлементам. Описание групп см. в разделе «Методика». Звездочка означает, что различия с контролем статистически значимы при  $P \leq 0,05$ .

Оценка элементного статуса подопытной птицы позволила выявить различия в механизмах действия препаратов УДЧ и аспарагинатов на обмен химических веществ. Это хорошо видно при сопоставлении пулов химических веществ относительно контроля. Так, у цыплят во II группе количество Zn, Pb, Cd, Ni, Al и Sn снижалось, в I группе то же происходило с Ni, Al, Sn, но пул Pb и Cd, наоборот, увеличился. Объяснить этот факт можно конкуренцией за общие транспортеры для меди, цинка и других двухвалентных металлов в кишечнике (44, 45). Ввиду высокой проникаю-

шей способности наночастицы металлы в их составе способны поступать в клетки кишечника, не связываясь с транспортными белками (46). Тогда в I группе транспортные системы, определяющие перенос Zn и Cu, могут использоваться другими двухвалентными аналогами (Pb, Cd), тогда как во II группе они, по всей видимости, выполняют функции переноса Zn и Cu.

Наличие неодинаковых механизмов поступления и использования металлов из УДЧ и аспарагинатов подтверждается и динамикой концентраций этих элементов в отдельных тканях и органах (рис. 3).



**Рис. 3.** Разница в накоплении Cu по сравнению с контролем у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 из I (А) и II (Б) в разном возрасте в зависимости от химической формы Cu и Zn, используемой для нормирования рациона по микроэлементам: 1 — сердце, 2 — головной мозг, 3 — печень, 4 — селезенка, 5 — почки, 6 — мышцы, 7 — фабрициева сумка, 8 — тимус, 9 — перо; а, б, в, г — соответственно возраст 21, 28, 35 и 42 сут. Описание групп см. в разделе «Методика». Звездочка означает, что различия с контролем статистически значимы при  $P \leq 0,05$ .

Скармливание аспарагината Cu в течение 1-й нед сопровождалось снижением аккумуляции этого элемента в перо на 24,5 % относительно контроля, но затем превышение количества Cu над контролем составило 60,9 % после 14 сут, 41,4 % — после 21 сут и 28,1 % после 28 сут. В I группе этот показатель на протяжении всего эксперимента был выше контрольных значений соответственно на 13,5; 8,8; 22,3 и 60,9 %. Перо рассматривается в качестве биосубстрата-маркера при оценке минерального статуса птицы (Патент РФ RU2478956C1), поэтому можно предположить, что в нашем эксперименте обеспеченность микроэлементами постоянно менялась, причем скармливание УДЧ определило более равномерное поступление меди в организм.

Таким образом, сравнение кормовых добавок Cu и Zn в виде мине-



ральных солей, аспарагинатов и ультрадисперсного препарата показывает, что включение последнего в рацион повышает биодоступность указанных микроэлементов и имеет более выраженное положительное влияние на продуктивные качества бройлеров.

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН,

460000 Россия, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29,  
e-mail: Sizova.L78@yandex.ru ✉, sergey\_ru01@mail.ru; lsv74@list.ru; ylevaxin55@mail.ru; babicheva74-09@mail.ru, kosilov\_vi@bk.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Оренбургский государственный университет,

460018 Россия, г. Оренбург, просп. Победы, 13;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Оренбургский государственный аграрный университет,

460014 Россия, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18

Получила в редакцию  
18 декабря 2017 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2018, V. 53, № 2, pp. 393-403

## COMPARATIVE TESTS OF VARIOUS SOURCES OF MICROELEMENTS IN FEEDING CHICKEN-BROILERS

E.A. Sizova<sup>1, 2</sup>, S.A. Miroshnikov<sup>1</sup>, S.V. Lebedev<sup>1, 2</sup>, Yu.I. Levakhin<sup>1</sup>, I.A. Babicheva<sup>3</sup>, V.I. Kosilov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies RAS, Federal Agency of Scientific Organizations, 29, ul. 9 Yanvarya, Orenburg, 460000 Russia, e-mail Sizova.L78@yandex.ru (✉ corresponding author), sergey\_ru01@mail.ru; lsv74@list.ru; ylevaxin55@mail.ru; babicheva74-09@mail.ru, kosilov\_vi@bk.ru

<sup>2</sup>Orenburg State University, 13, prosp. Pobedy, Orenburg, 460018 Russia;

<sup>3</sup>Orenburg State Agrarian University, 18, ul. Chelyuskintsev, Orenburg, 460014 Russia

ORCID:

Sizova E.A. orcid.org/0000-0002-5125-5981

Levakhin Yu.I. orcid.org/0000-0003-2345-9298

Miroshnikov S.A. orcid.org/0000-0003-1173-1952

Babicheva I.A. orcid.org/0000-0001-7025-7387

Lebedev S.V. orcid.org/0000-0001-9485-7010

Kosilov V.I. orcid.org/0000-0003-4754-1771

Acknowledgements:

Samples were analyzed in the Laboratory of Agroecology of Nanomaterials, Test Center of All-Russian Research Institute of Beef Cattle Breeding RAS (ARRIBCB RAS, accreditation certificate RA. RU.21PF59 of 12/02/15) using equipment of the Shared Use Center, ARIBCB RAS. Chemical analysis was performed in the laboratory of ANO Center for Biotic Medicine, Moscow (accreditation certificate GSEN.RU.TSAO.311, registration number in the State Register ROSS RU. 0001.513118)

Supported financially by Russian Science Foundation (project № 14-16-00060-P)

Received December 18, 2017

doi: 10.15389/agrobiology.2018.2.393eng

### Abstract

Animals of modern breeds and crosses need more dietary minerals to realize more of their genetic potential but that leads to an increase in the ecological load. So the development of new sources of essential chemical elements with relatively less toxicity and higher bioavailability of the components are of relevance. Ultra-dispersed particles (UDP) are among prospective preparations. This is the first report on a comparative study of the effects of dietary Cu and Zn additives as UDP of the alloy, asparaginates and sulfates on performance and productivity of Smena 7 broiler chicks. The study showed greater availability, a more pronounced positive effect of Cu/Zn-UDP and the various impact of the forms studied on mineral metabolism. Dietary Cu/Zn-UDP accelerated bird growth by 3.9 % ( $P \leq 0.05$ ) compared to Cu and Zn mineral salts and by 4.7 % ( $P \leq 0.01$ ) compared to Cu and Zn asparaginates. Administration of Cu/Zn-UDP led to an increase in blood NO metabolites by 9.8 % ( $P \leq 0.05$ ), 21.0 % ( $P \leq 0.01$ ), 13.0 % ( $P \leq 0.05$ ), and 11.0 % ( $P \leq 0.05$ ) compared to the control on days 7, 14, 21 and 28, respectively. By the end of the study, blood erythrocytes and hemoglobin was 6.27 % higher ( $P \leq 0.05$ ) and 19.40 % higher ( $P \leq 0.001$ ) compared to the control and also 5.21 % higher and 12.60 % higher when compared to Cu and Zn asparaginates used. Replacement of copper mineral salt with dietary Cu/Zn-UDP and Cu asparaginate was accompanied by an increase in this element pool in the body of 42-day old broiler chickens by 51.6 % ( $P \leq 0.01$ ) and 13.2 %, respectively. By the end of the study, the zinc pool, on the contrary, decreased by 22.9 % compared to the control when Zn asparaginate was fed but exceeded the control by 12.5 % ( $P \leq 0.05$ ) when using Cu/Zn-UDP. Copper and zinc preparations used in various ways influenced on the exchange of a number of chemical elements in the body. Feeding with Cu/Zn-UDP and Cu and Zn asparaginates resulted in lower pools of Ni, Al, Sn and a significant increase in iodine and cobalt pools compared to control. A distinctive feature of Cu/Zn-UDP action from that of the asparaginates was an increase in Pb and Cd pools which could result from a change of the load on transport systems in the intestine when using Cu/Zn-UDP.

Keywords: ultra-dispersed particles of Cu and Zn alloy, Cu and Zn asparagines, broiler chicks, productivity, chemical element composition, biochemical and morphological blood parameters.

## REFERENCES

1. Roco M.M. The long view of nanotechnology development: the national nanotechnology initiative at 10 years. In: *Nanotechnology research directions for societal needs in 2020. Science Policy Reports, V. 1*. Springer, Dordrecht, 2011: 1-28 (doi: 10.1007/978-94-007-1168-6\_1).
2. Hooley G., Piercy N.F., Nicoulaud B. *Marketing strategy and competitive positioning*. London, 2012.
3. Makarov D.V. *Vestnik KRAUNTS. Fiziko-matematicheskie nauki*, 2014, 1(8): 97-102 (in Russ.).
4. Wang L., Hu C., Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int. J. Nanomed.*, 2017, 12: 1227-1249 (doi: 10.2147/IJN.S121956).
5. Wahajuddin, Arora S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. *Int. J. Nanomed.*, 2012, 7: 3445-3471 (doi: 10.2147/IJN.S30320).
6. Chatterjee D.K., Diagaradjane P., Krishnan S. Nanoparticle-mediated hyperthermia in cancer therapy. *Ther. Deliv.*, 2011, 2(8): 1001-1014.
7. Prasad R., Bhattacharyya A., Nguyen Q.D. Nanotechnology in sustainable agriculture: recent developments, challenges, and perspectives. *Front. Microbiol.*, 2017, 8: 1014 (doi: 10.3389/fmicb.2017.01014).
8. Mishra S., Keswani C., Abhilash P.C., Fraceto L.F. and Singh H.B. Integrated approach of agri-nanotechnology: challenges and future trends. *Front. Plant Sci.*, 2017, 8: 471 (doi: 10.3389/fpls.2017.00471).
9. Sekhon B.S. Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnology, Science and Applications*, 2014, 7: 31-53 (doi: 10.2147/NSA.S39406).
10. Bumbudsanpharoke N., Ko S. Nano-food packaging: an overview of market, migration research, and safety regulations. *J. Food Sci.*, 2015, 80: 910-923 (doi: 10.1111/1750-3841.12861).
11. Sabourin V., Ayande A. Commercial opportunities and market demand for nanotechnologies in agribusiness sector. *Journal of Technology Management & Innovation*, 2015, 10: 40-51 (doi: 10.4067/S0718-27242015000100004).
12. Zhang J., Spallholz J. Toxicity of selenium compounds and nano-selenium particles. In: *Handbook of systems toxicology*. D. Casciano, S.C. Sahu (eds.). John Wiley and Sons, West Sussex, UK, 2011: 787-801.
13. Zhang J. Biological properties of red elemental selenium at nano size (Nano-Se) in vitro and in vivo. In: *Nanotoxicity: from in vivo and in vitro model to health risks*. S.C. Sahu, D. Casciano (eds.). John Wiley and Sons, West Sussex, UK, 2009: 97-114.
14. Glushchenko N.N., Bogoslovskaya O.A., Baitukalov T.A., Ol'khovskaya I.P. *Mikroelementy v meditsine*, 2008, 9(1-2): 52 (in Russ.).
15. Mishra B., Patel B.B., Tiwari S. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine*, 2010, 6: 9-24 (doi: 10.1016/j.nano.2009.04.008).
16. Tang H.Q., Xu M., Rong Q., Jin R.W., Liu Q.J., Li Y.L. The effect of ZnO nanoparticles on liver function in rats. *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 31(11): 4275-4285 (doi: 10.2147/IJN.S109031).
17. Kowalczyk M., Banach M., Rysz J. Ferumoxytol: a new era of iron deficiency anemia treatment for patients with chronic kidney disease. *J. Nephrol.*, 2011, 24(6): 717-722 (doi: 10.5301/jn.5000025).
18. Weinstein J.S., Varallyay C.G., Dosa E., Gahramanov S., Hamilton B., Rooney W.D., Muldoon L.L., Neuwelt E.A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: diagnostic magnetic resonance imaging and potential therapeutic applications in neurooncology and central nervous system inflammatory pathologies, a review. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2010, 30: 15-35 (doi: 10.1038/jcbfm.2009.192).
19. Zhou X., Wang Y. Influence of dietary nano elemental selenium on growth performance, tissue selenium distribution, meat quality, and glutathione peroxidase activity in Guangxi Yellow chicken. *Poultry Sci.*, 2011, 90(3): 680-686 (doi: 10.3382/ps.2010-00977).
20. Nikonov I.N., Laptsev G.Y., Folmanis Y.G., Folmanis G.E., Kovalenko L.V., Egorov I.A., Fisinin V.I., Tananaev I.G. Iron nanoparticles as a food additive for poultry. *Dokl. Biol. Sci.*, 2011, 1: 328-331 (doi: 10.1134/S0012496611050188).
21. Zha L.Y., Zeng J.W., Chu X.W., Mao L.M., Luo H.J. Efficacy of trivalent chromium on growth performance, carcass characteristics and tissue chromium in heat-stressed broiler chicks. *J. Sci. Food Agric.*, 2009, 89: 1782-1786 (doi: 10.1002/jsfa.3656).
22. Yong Z., Lan L., Peng-Fei Z., Xin-Qi L., Wei-Dong Z., Zhao-Peng D., Shi-Wen W., Wei S., Ling-Jiang M., Zhi-Hui H. Regulation of egg quality and lipids metabolism by zinc oxide nanoparticles. *Poultry Sci.*, 2016, 95(4): 920-933 (doi: 10.3382/ps/pev436).
23. Ognik K., Stepniowska A., Cholewińska E., Kozłowski K. The effect of administration of copper nanoparticles to chickens in drinking water on estimated intestinal absorption of iron, zinc,

- and calcium. *Poultry Sci.*, 2016, 95(9): 2045-2051 (doi: 10.3382/ps/pew200).
24. Miroshnikova E., Arinzhanov A., Kilyakova Y., Sizova E., Miroshnikov S. Antagonist metal alloy nanoparticles of iron and cobalt: impact on trace element metabolism in carp and chicken. *HVM Bioflux*, 2015, 7(4): 253-259.
  25. Goyer R.A. Toxic and essential metal interactions. *Annu. Rev. Nutr.*, 1997, 17: 37-50 (doi: 10.1146/annurev.nutr.17.1.37).
  26. Kelleher S.L., Lönnerdal B. Zinc supplementation reduces iron absorption through age-dependent changes in small intestine iron transporter expression in suckling rat pups. *J. Nutr.*, 2006, 136(5): 1185-1191.
  27. Hossain M.B., Kelleher S.L., Lönnerdal B. Maternal iron and zinc supplementation during pregnancy affects body weight and iron status in rat pups at weaning. *J. Nutr.*, 2011, 141(5): 798-804 (doi: 10.3945/jn.110.135681).
  28. Oberleas D., Harland B.F. Treatment of zinc deficiency without zinc fortification. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 2008, 9(3): 192-126. (doi: 10.1631/jzus.B0710632).
  29. Xin W., Xugang S., Xie C., Li J., Hu J., Yin Y.L., Deng Z.Y. The acute and chronic effects of monosodium L-glutamate on serum iron and total iron-binding capacity in the jugular artery and vein of pigs. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2013, 153(1-3): 191-195 (doi: 10.1007/s12011-013-9668-x).
  30. Hurrell R., Egli I. Iron bioavailability and dietary reference values. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010, 91(5): 1461S-1467S (doi: 10.3945/ajcn.2010.28674F).
  31. Kudrin A.V., Skal'nyi A.V., Zhavoronkov A.A., Skal'naya M.G., Gromova O.A. *Immunofarmakologiya mikroelementov* [Immunopharmacology of microelements]. Moscow, 2000 (in Russ.).
  32. Huang R.L., Yin Y.L., Wu G.Y., Zhang Y.G., Li T.J., Li L.L., Li M.X., Tang Z.R., Zhang J., Wang B., He J.H., Nie X.Z. Effect of dietary oligochitosan supplementation on ileal digestibility of nutrients and performance in broilers. *Poultry Sci.*, 2005, 84(9): 1383-1388.
  33. Fisinin V.I., Egorov I.A., Lenkova T.N., Okolelova T.M., Ignatova G.V., Shevyakov A.N., Panin I.G., Grechishnikov V.V., Vetrov P.A., Afanas'ev V.A., Ponomarenko Yu.A. *Metodicheskie ukazaniya po optimizatsii retseptov kombikormov dlya sel'skokhozyaistvennoi ptitsy* [Guidelines for the optimization of animal feed recipes for poultry]. Moscow, 2009 (in Russ.).
  34. Nikonov I.N., Folmanis Yu.G., Folmanis G.E., Kovalenko L.V., Laptsev G.Yu., Egorov I.A., Fisinin V.I., Tananaev I.G. *Doklady Akademii nauk*, 2011, 440(4): 565-569 (in Russ.).
  35. Il'ichev E., Nazarova A., Polishchuk S., Inozemtsev V. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo*, 2011, 5: 27-29 (in Russ.).
  36. Yausheva E., Miroshnikov S., Sizova E., Miroshnikova E., Levahin V. Comparative assessment of effect of cooper nano and microparticles in chicken. *Oriental Journal of Chemistry*, 2015, 31(4): 2327-2336 (doi: 10.13005/ojc/310461).
  37. Vishnyakov A.I., Ushakov A.S., Lebedev S.V. *Vestnik myasnogo skotovodstva*, 2011, 2(54): 96-102 (in Russ.).
  38. Ghahnavieh M.Z., Ajdary M., Naghsh N. Effects of intraperitoneal injection of gold nanoparticles in male mice. *Nanomed. J.*, 2014, 1(3): 121-127.
  39. Shatskikh E.V. *Agrarnyi vestnik Urala*, 2008, 11(53): 83-84 (in Russ.).
  40. Skorkina M.Yu., Fedorova M.Z., Sladkova E.A., Derkachev R.V., Zabinyakov N.A. *Yaroslavskii pedagogicheskii universitet*, 2010, 2: 101-106 (in Russ.).
  41. Yausheva E.V., Miroshnikov S.A., Kvan O.V. *Vestnik Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2013, 12(161): 203-207 (in Russ.).
  42. Borisevich V.B., Kaplunenko V.G. *Nanomaterialy i nanotekhnologii v veterinarnoi praktike* [Nanomaterials and nanotechnologies in veterinary practice]. Kiev, 2012: 512 (in Russ.).
  43. Hind T., Honnerdal B., Stenlund H., Gamayanti I., Ismail D., Seswandhana R., Persson L.A. A community based randomized controlled trial of iron and zinc supplementation in Indonesian infants: effects on growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, 80: 729-736 (doi: 10.1093/ajcn/80.3.729).
  44. Watts D.L. The nutritional relationships of Iron. *J. Orthomol. Med.*, 1988, 3(3): 110-116.
  45. Ranganathan P.N., Lu Y., Jiang L., Kim C., Collins J.F. Serum ceruloplasmin protein expression and activity increases in iron-deficient rats and is further enhanced by higher dietary copper intake. *Blood*, 2011, 118(11): 3146-3153.
  46. Bárány E., Bergdahl I.A., Bratteby L.-E., Lundh T., Samuelson G., Skerfving S., Oskarsson A. Iron status influences trace element levels in human blood and serum. *Environ. Res.*, 2005, 98(2): 215-223.