

УДК 577.17:591.111:591.261.7

Гай И.Е.,
Шапошников А.А.,
Закирова Л.Р.,
Клочкова Г.Н.,
Яковлева И.Н.,
Шенцева Е.А.

ДЕЙСТВИЕ ЛЮТЕИН-ЗЕАКСАНТИН СОДЕРЖАЩЕЙ ДОБАВКИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПЕРЕПЕЛОВ

Аннотация

Приведены результаты морфологических и биохимических показателей крови, а также, биохимический состав яиц перепелов при использовании в их диете различных доз лютеин-зеаксантин содержащей добавки.

Ключевые слова: ксантофиллы, биохимия, сыворотка крови, перепела, яйца.

Gai I.E.,
Shaposhnikov A.A.,
Zakirova L.R.,
Klochkova G.N.,
Yakovleva I.N.,
Shentseva E.A.

THE ACTION OF LUTEIN ZEAXANTHIN-CONTAINING ADDITIVE ON THE MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD IN QUAILS

АБСТРАКТ

The authors demonstrate the results of morphological and biochemical parameters of blood in quails, as well as the biochemical composition of quail eggs while using different doses of lutein, zeaxanthin-containing supplements in their diet.

Keywords: xanthophylls; biochemistry; blood serum; quail, eggs.

Введение. В последние годы всё большую популярность приобретают способы получения пищевых продуктов с заданным химическим свойством и биологической активностью. Данное направление «пищевого дизайна» даёт возможность получать так называемые функциональные продукты питания – обогащенные макро- и микроэлементами, эссенциальными жирными кислотами, витаминами, ксантофиллами и т.п. Особый интерес вызывают ксантофиллы – лютеин и

зеаксантин, в связи с их биологической ролью в организме человека и животных. Оба каротиноида, лютеин и зеаксантин, называются «макулярными пигментами», т.к. они входят в состав жёлтого пятна (macula lutea) сетчатки глаза человека в соотношении приблизительно 4:1 [4, 6]. Антиоксидантные свойства данных ксантофиллов в сочетании с их способностью поглощать излучение синего спектра света, защищают пигментный эпителий и слой хориокапилляров сетчатки

от повреждающего действия окислителей, свободных радикалов, нейтрализуя активные формы кислорода [7]. Учитывая тот факт, что каротиноиды не синтезируются в организме животных и человека и должны поступать с пищей, а также то, что биодоступность эфира лютеина яичного желтка многим выше, чем лютеина из других пищевых источников и лютеина, полученного путём химического синтеза [5], актуальным является получение функциональных продуктов питания, в частности, мяса птиц и яиц, обогащенных лютеином и зеаксантином.

Проведенные ранее эксперименты по обогащению куриных (Л.А.Дейнека и др., 2007; А.А.Шапошников и др., 2009) и перепелиных (В.И.Дейнека и др., 2010; А.А.Шапошников и др., 2011) яиц лютеином и зеаксантином, используя биологически активные растительные добавки, показали их положительное

влияние на сохранность, продуктивность, яйценоскость, физиолого-биохимический статус птиц, а также накопление каротиноидов в желтке яиц.

Целью нашего исследования было изучение влияния различных доз ксантофиллов лепестков бархатцев (*Tagetes erecta L.*) и чашечек физалиса (*Physalis alkekengi*) на физиологическое состояние, морфологические и биохимические показатели крови перепелов, а также, химический состав яиц.

Материалы и методы. Опыт был проведен в фермерском хозяйстве Ивнянского района Белгородской области в январе-феврале 2012 года на перепелках-несушках породы «Фараон», в котором было изучено действие на организм птицы различных доз (при неизменном соотношении лютеина и зеаксантина – 4:1) смеси сухих лепестков бархатцев и чашечек физалиса в составе ОР (таблица 1).

Таблица 1

Схема опыта

Table 1

The experimental setup

Группа	Схема кормления	Доза ксантофиллов, мг на перепелку в сутки	Продолжительность, сутки*
Подготовительный период			
I-V	ОР (основной рацион)	–	10
Основной период			
I – контроль	ОР	–	14
II – опыт	ОР+4 мг (Б)+1 мг (Ф)	0,06	14
III – опыт	ОР+8 мг (Б)+2 мг (Ф)	0,12	14
IV – опыт	ОР+12 мг (Б)+3 мг (Ф)	0,18	14
V – опыт	ОР+16 мг (Б)+4 мг (Ф)	0,24	14
Завершающий период			
I-V	ОР	–	16

Птиц для эксперимента отобрали в суточном возрасте и разделили на пять групп по 20 животных в каждой. Продолжительность опыта составила 40 суток: адаптационный период – 10, основной – 14 и завершающий – 16 суток.

Основной рацион (ОР) был представлен специальным комбикормом для перепелок-несушек, сбалансированным по основным питательным, минеральным и биологически активным веществам. Потребление воды не ограничивали.

Для опыта были приготовлены высушенные и измельченные:

– лепестки цветков бархатцев, содержавшие по спектрофотометрическим данным $12,5 \pm 1,5$ мг ксантофиллов на 1 г добавки (в пересчете на неэтерифицированный лютеин);

– чашечки физалиса, по спектрофотометрическим данным содержавшие $9,0 \pm 0,3$ мг ксантофиллов на 1 г добавки (в пересчете на неэтерифицированный лютеин).

Ежесуточно контролировали кормление птицы, её физиологическое состояние и яйценоскость.

Цельную кровь забирали на 14 сутки основного периода путем декапитации птицы (по пять перепелок от каждой группы). Цельную кровь для определения концентрации

эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов стабилизировали раствором гепарина. Сыворотку крови получали стандартно.

Полученные образцы доставляли незамедлительно в лабораторию и анализировали с использованием полностью роботизированного иммунохимического электрохемилюминисцентного автоматического анализатора COBAS E 411 и иммунохимического анализатора OLYMPUS AU680 на базе Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа в Центре коллективного пользования НИУ «БелГУ».

Полученный цифровой материал был обработан статистически (Г.Ф.Лакин, 1980). При определении достоверной разницы между контрольной и опытными группами был использован аргумент Стьюдента. Результаты рассматривали как достоверные, начиная со значения $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Использование различных доз ксантофиллов в диете перепелок не оказывает существенного влияния на концентрацию эритроцитов и гемоглобина в крови птиц (таблица 2). Данные показатели находились в пределах физиологической нормы [2] и достоверных различий между ними выявлено не было.

Таблица 2

Морфологические показатели крови перепелов 24-суточного возраста

Table 2

Morphological parameters of blood in 24-day-old quails

Показатель	Группа				
	I	II	III	IV	V
Эритроциты, $10^{12}/л$	$2,01 \pm 0,09$	$2,02 \pm 0,05$	$2,01 \pm 0,08$	$2,03 \pm 0,06$	$2,01 \pm 0,07$
Гемоглобин, г/л	$128,2 \pm 7,6$	$128,9 \pm 2,8$	$128,9 \pm 2,1$	$129,2 \pm 0,8$	$130 \pm 1,1$

Биохимические характеристики крови очень важны как для оценки физиологического статуса организма животного, так и для своевременной диагностики патологических состояний [3].

Содержание общего белка в сыворотке крови перепелов контрольной и опытных групп находилось в пределах физиологической нормы для данной возрастной группы

птиц и не имело достоверных различий (таблица 3). Концентрация альбумина и белков глобулиновых фракций перепелов контрольной и опытных групп, так же не имела достоверных различий. Это может свидетельствовать о том, что различные дозы ксантофиллов в диете перепелов не оказывают отрицательного влияния на содержание общего белка и белковых фракций в сыворотке крови птиц.

Таблица 3

**Биохимические показатели сыворотки крови
перепелов 24-суточного возраста**

Table 3

Biochemical parameters of serum in 24-day-old quails

Показатель	Группа				
	I	II	III	IV	V
Общий белок, г/л	51,3±3,3	51,1±2,3	49,9±2	53,4±3	52,8±2,4
Фракции белка, %: альбумин	58,3±2,3	57,6±2,2	58,7±1,3	59,1±1	59,1±0,8
альфа1-глобулины	5,2±0,3	4,7±0,4	5±0,2	5,3±0,3	5,3±0,4
альфа2-глобулины	9,7±0,8	9±0,9	9,3±0,8	9±0,6	9,2±0,3
бета-глобулины	19,7±0,4	19,7±0,9	20±0,4	19,3±1,8	19,5±0,9
гамма-глобулины	7,2±1,8	8,9±2,6	7,5±2	6,6±1,2	7±0,5
Мочевая кислота, ммоль/л	270±14,3	229,3±9,7*	233±8,2*	244,7±17,8	244,4±8,7*
Холестерол, моль/л	2,27±0,3	2,11±0,22	2,34±0,32	2,22±0,18	2,21±0,2
ТАГ, ммоль/л	0,53±0,06	0,53±0,07	0,52±0,07	0,52±0,09	0,48±0,08
ЛПВП, ммоль/л	1,73±0,09	1,74±0,07	1,73±0,05	1,73±0,08	1,72±0,14
ЛПНП, ммоль/л	0,48±0,02	0,49±0,04	0,49±0,08	0,48±0,03	0,47±0,05
ЛПОНП, ммоль/л	0,31±0,04	0,28±0,02	0,27±0,03	0,27±0,01	0,26±0,01
Кальций, ммоль/л	2,78±0,15	2,69±0,09	2,43±0,27	2,4±0,05*	2,38±0,15*
Фосфор, ммоль/л	1,93±0,07	1,78±0,09*	1,51±0,12*	1,48±0,07***	1,41±0,03**
Калий, ммоль/л	11,3±0,9	10,9±0,7	10,9±0,3	10,6±0,6	10,9±0,4
Хлор, ммоль/л	107,3±5,6	104,7±5	103,1±2,4	107,9±3,1	104±6
Витамин А, мкмоль/л	0,85±0,05	1,03±0,06*	1,14±0,07**	2,03±0,06***	1,23±0,04***
Витамин Е, мкмоль/л	0,006±0,001	0,01±0,001*	0,01±0,002*	0,009±0,002*	0,009±0,001*

Здесь и далее: * p < 0,05; ** p < 0,001; *** p < 0,0001

Определение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови очень важно, т.к. в отличие от млекопитающих у птиц именно она является конечным продуктом диссимиляции азотсодержащих соединений. Это связано с тем, что мочевина, как вещество хорошо растворимое в воде, отрицательно влияла бы на развитие эмбриона своим осмотическим давлением. Мочевая кислота и её соли в воде практически не растворяются и не влияют на осмотические свойства жидкости в яйце [1].

Добавление к ОР птиц добавки в различной концентрации приводит к достоверному снижению концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови птиц опытных групп, получавших растительные ксантофиллы в дозе 0,06 мг на животное в сутки на 15,1% ($p < 0,05$), в дозе 0,12 мг на животное в сутки на 13,7% ($p < 0,05$), в дозе 0,24 мг на животное в сутки на 9,5% ($p < 0,05$). Полученные данные могут свидетельствовать, как об усилении синтетических процессов в обмене белков, так и об оптимизации работы выводящей системы птиц.

Такие показатели как триацилглицеролы (ТАГ), холестерол, транспортные формы липидов – липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), отражающие интенсивность метаболизма липидов в организме животного, у экспериментальных перепелов находились в пределах физиологической нормы для данной возрастной группы птиц и достоверных различий по показателями в контрольной и опытных группах не выявлено (таблица 3).

Наряду с показателями белкового и липидного обменов значимыми являются показатели минерального обмена. Наибольший интерес представляют макроэлементы кальция и фосфор как компоненты, присутствующие во всех тканях и органах и участвующих в ряде важнейших биохимических процессах. Уровень кальция и фосфора в сыворотке крови отражает обеспеченность ими организма птиц.

Проведенные исследования показали, что добавление в рацион перепелов ксантофиллов в дозе 0,18 и 0,24 мг на животное в

сутки ведет к достоверному ($p < 0,05$) снижению концентрации кальция на 13,7 и 14,4% соответственно по сравнению с контролем. Уровень фосфора у птиц опытных групп также снизился по сравнению с контролем во II опытной группе на 7,77 ($p < 0,05$), в III группе – на 21,8 ($p < 0,05$), в IV группе – на 23,3 ($p < 0,0001$), в V группе – на 26,9% ($p < 0,001$). Тем не менее, содержание указанных макроэлементов оставалось в пределах физиологической нормы, более того, отношение кальций/фосфор оставалось в оптимальном диапазоне – от 1,5 до 3,0 у перепелов всех опытных групп.

Полученные данные можно объяснить интенсификацией минерального обмена у птиц опытных групп, конверсией макроэлементов в скорлупу яиц, что согласуется с результатами яйценоскости.

Помня об антиоксидантной роли ксантофиллов, вследствие наличия в молекуле сопряженных двойных связей, важно было изучить влияние добавки на содержание общеизвестных природных ингибиторов окисления – витамины Е и А в крови птиц. Как видно из таблицы 3, содержание ретинола и токоферола в крови перепелов всех четырех опытных групп существенно и достоверно повысилась по сравнению с контролем. Так, концентрация витамина А в сыворотке крови птиц II и III опытных групп увеличилась на 21,2 ($p < 0,05$) и 34,1% ($p < 0,001$), а в IV и V группах – в 2,4 ($p < 0,001$) и в 1,4 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контролем. Применение в диете перепелов растительных ксантофиллов в дозах 0,06 и 0,12 мг на животное в сутки, привело к достоверному повышению концентрации витамина Е в сыворотке крови в 1,7 раза ($p < 0,05$), в дозах 0,18 и 0,24 мг на животное в сутки – в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с птицами, потреблявшими ОР.

Следует также отметить, достоверное увеличение концентрации витамина Е в желтке яиц перепелов II опытной группы на 4,29% ($p < 0,05$) и очевидную тенденцию к повышению данного показателя у птиц остальных опытных групп по сравнению с контролем (таблица 4).

Таблица 4

Биохимические показатели перепелиных яиц

Table 4

Biochemical parameters of quail eggs

Показатель	Группа				
	I	II	III	IV	V
Желток					
Сухое вещество, г/кг	527±6	525±8	526±11	526±8	519±7
Сырой протеин, г/кг	143±17,3	142,2±9,2	136,6±12,4	136±4,6	136±4,8
Липиды, г/кг	261±17,1	261,7±22,6	256,6±14,1	250±13,5	251,7±15,8
Витамин Е, мкг/кг	60,6±0,7	63,2±1,6*	62,6±1,7	62,1±1,6	62,3±1,8
Белок					
Сухое вещество, г/кг	125±3	124±3	124±3	124±3	124±3
Сырой протеин, г/кг	92,1±1,92	91,8±1,26	91,2±0,92	91,7±1,25	92,3±0,87

Представленные результаты аналогичны данным полученным ранее (А.А.Шапошников и др., 2011) и свидетельствуют о большей сохранности жирорастворимых витаминов в организме птиц опытных групп. Поскольку других источников витаминов, кроме корма, в диете перепелов не было, есть основание предположить о протективном действии лютеина и зеаксантина в составе добавки на содержание этих витаминов.

Таким образом, можно отметить, что применение в диете перепелов добавки, содержащей растительные ксантофиллы в дозах: 0,06, 0,12, 0,18 и 0,24 мг на животное в сутки положительно влияет на обмен белков и сохранность жирорастворимых витаминов А и Е в организме птиц и яичном желтке, а также не оказывает отрицательного действия на содержание некоторых метаболитов липидного и минерального обменов. **Gai Inna Gai**

ЛИТЕРАТУРА:

1. Биохимия животных: Учебник для студ. зооинженер. и ветеринарн. ф-тов с/х ВУЗов / А.В.Чечеткин, И.Д.Головацкий, П.А.Калиман, В.И.Воронянский; Под ред. проф. А.В. Чечеткина. – М.: Высшая школа, 1982. – 511 с.

2. Болотников И.А., Соловьев Ю.В. Гематология птиц. – Л., 1980. – С.116.

3. Зайцев Ю.В. Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты: учебн. / Ю.В. Зайцев, Ю.В. Конопатов – СПб.: Лань, 2004. – 384 с.

4. Handelman, G. J. Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk [Text] / G. J. Handelman, Z. D. Nightingale, A. H. Lichtenstein, E. J.

Schaefer, J. B. Blumberg // Am. J. Clin. Nutr. – 1999. – Vol. 70, № 2. – P. 247–251.

5. Johnson, E. J. The Role of Lutein in Disease Prevention / E. J. Johnson, PhD J. Mayer // Nutrition in Clinical Care. – 2008. – Vol. 3, Issue 5. – P. 289–296.

6. Schalch, W. Possible contribution of lutein and zeaxanthin, carotenoids of the macula lutea, to reducing the risk for age-related macular degeneration: a review / W. Schalch // HKJOPhtalmol. – 2000. – Vol. 4. – № 1. – P. 31–42.

7. Whitehead AJ., Mares J.A, Danis R.P. Macular pigment: a review of current knowledge. // Arch. Ophthalmol., 2000, № 124, p. 1038-1045.

REFERENCES:

1. Chechetkin A.V., Golovatskiy I.D., Kaliman P.A., Voronyanskiy V.I. Biochemistry of Animals: A Coursebook for Students of Zoo Ingeneering and Veterinary Faculties of Agricultural Universities and Colleges / Edit. by Prof. Chechetkin A.V. Moscow: Vysshaya Shkola, 1982. 511 p.
2. Bolotnikov I.A., Soloviev Yu.V. Hematology of Birds. Leningrad, 1980. 116 p.
3. Zaitsev Yu.V., Konopatov Yu.V. Biochemistry of Animals. Fundamental and Clinical Aspects: A Coursebook. St. Petersburg: Lan', 2004. 384 p.
4. Handelman, G. J. Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk [Text] / G. J. Handelman, Z. D. Nightingale, A. H. Lichtenstein, E. J. Schaefer, J. B. Blumberg // Am. J. Clin. Nutr. – 1999. – Vol. 70, № 2. Pp. 247–251.
5. Johnson, E. J. The Role of Lutein in Disease Prevention / E. J. Johnson, PhD J. Mayer // Nutrition in Clinical Care. – 2008. – Vol. 3, Issue 5. – Pp. 289–296.
6. Schalch, W. Possible contribution of lutein and zeaxanthin, carotenoids of the macula lutea, to reducing the risk for age-related macular degeneration: a review / W. Schalch // HKJ Ophthalmol. – 2000. – Vol. 4. – № 1. Pp. 31–42.
7. Whitehead AJ., Mares J.A, Danis R.P. Macular pigment: a review of current knowledge. // Arch. Ophthalmol., 2000, № 124, Pp. 1038-1045.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:**Инна Евгеньевна Гай**

аспирант кафедры
биохимии и фармакологии
медицинского института
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета
308015, г.Белгород, ул. Победы, 85

Шапошников Андрей Александрович

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой
биохимии и фармакологии
медицинского института
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета
ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Россия
shaposhnikov@bsu.edu.ru

Закирова Людмила Робертовна

кандидат биологических наук, доцент
кафедры биохимии и фармакологии
медицинского института
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета
ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Россия

Клочкова Галина Николаевна

кандидат биологических наук,
заведующая лабораторией
ОГБУЗ «Белгородская областная
клиническая больница Святителя Иоасафа»

Яковлева Инесса Николаевна

кандидат биологических наук, доцент
кафедры незаразной патологии
факультета ветеринарной медицины
Белгородской государственной
сельскохозяйственной академии
им. В.Я. Горина
308503, Белгородская область, Белгородский
район, пос. Майский, ул. Садовая, 1, кв.45,
Inka707@mail.ru

Шенцева Елена Александровна

кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры биохимии и фармакологии
медицинского института
Белгородского государственного
национального исследовательского
университета
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

DATA ABOUT THE AUTHOR:**Gai Inna Evgenievna***Postgraduate Student*

Department of Biochemistry and Pharmacology,
Institute of Medicine
Belgorod State National Research University
85 Pobeda St., Belgorod, 308015, Russia

Shaposhnikov Andrey Aleksandrovich*Doctor of Biological Sciences, Professor*

Head of the Department of Biochemistry and
Pharmacology
Institute of Medicine, Belgorod State National
Research University
85 Pobeda St., Belgorod, 308015, Russia
E-mail: shaposhnikov@bsu.edu.ru

Zakirova Lyudmila Robertovna*PhD in Biology, Associate Professor*

Department of Biochemistry and Pharmacology,
Institute of Medicine
Belgorod State National Research University
85 Pobeda St., Belgorod, 308015, Russia

Klochkova Galina Nikolaevna*PhD in Biology, Head of the Laboratory
at St. Iosaph Belgorod Regional Hospital***Yakovleva Inessa Nikolaevna**

PhD in Biology, Associate Professor
Department of Noncontagious Pathology,
Faculty of Veterinary Medicine V.Ya.Gorin
Belgorod State Agricultural Academy
1-45 Sadovaya St., Maisky, Belgorod Region,
308503, Russia
E-mail: Inka707@mail.ru

Shentseva Elena Aleksandrovna*PhD in Biology, Associate Professor*

Department of Biochemistry and Pharmacology
Institute of Medicine, Belgorod State National
Research University
85 Pobeda St., Belgorod, 308015, Russia