

**КУЛИКОВ АНДРЕЙ НИКОЛАЕВИЧ**

**ДЕФИЦИТ КОМПЛЕКСА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ  
И ИХ КОРРЕКЦИЯ**

06.02.03 – ветеринарная фармакология с токсикологией

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия» (ФГБОУ ВО ИжГСХА)

**Научный руководитель:** кандидат биологических наук, доцент

**Иванов Иван Семенович**

**Официальные оппоненты:**

**Дельцов Александр Александрович,**

доктор ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ ВО

«Московская государственная академия ветеринарной

медицины и биотехнологии – МВА имени

К.И. Скрябина», профессор кафедры физиологии,

фармакологии и токсикологии

им. А.Н. Голикова и Е.И. Мозгова

**Смоленцев Сергей Юрьевич,**

доктор биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО

«Марийский государственный университет», профессор

кафедры технологии производства продукции

животноводства

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный

университет имени П.А. Столыпина»

Защита диссертации состоится «24» января 2019 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел/факс (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5 и на сайте <https://spbgavm.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Белова Лариса Михайловна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Низкое содержание некоторых микроэлементов в почвах ведет к их малому содержанию в кормах и недостаточному поступлению в организм животных. Это негативно сказывается на множестве процессов его жизнедеятельности и приводит к значительному снижению продуктивности животных и большим экономическим потерям (Т.С. Кузнецова и др. 2007; В.С. Мещеряков и др. 2004).

Особой проблемой является снижение биодоступности находящихся в кормах микроэлементов вследствие образования нерастворимых в воде соединений. Это отмечается при нарушении условий хранения кормов, приводящем к их загниванию, и наиболее остро сказывается в зимне-весенний период (Т.Н. Дерезина и др., 2017).

Поэтому необходимо введение в рацион животных соединений микроэлементов. С данной целью широко используют неорганические соли – сульфаты или хлориды металлов микроэлементов (Fe, Mn, Zn, Co, Cu) (В.Т. Самохин, 2003; В.С. Мещеряков и др., 2004; Т.С. Кузнецова и др., 2007; А.Т. Мысик, 2007; В.Г. Скопичев и др., 2015).

Недостатком их использования является низкая биодоступность, и высокая токсичность при передозировке.

Эффективность их применения сильно зависит от множества факторов: точности дозировки, регулярности введения, равномерности перемешивания с кормом и др. Особой проблемой является использование многокомпонентных добавок, рецептуры которых часто составляются без учета антагонизма микроэлементов. В результате, полезное действие микроэлементов значительно снижается.

Необходимо отметить, что вреден как избыток, так и недостаток поступления данных микроэлементов. В то же время на практике в животноводстве производится лишь крайне приблизительная дозировка вводимых в корм добавок. Это в дальнейшем весьма негативно сказывается на состоянии здоровья животных, приводит к снижению качества продукции животноводства (Г.Ф. Кабиров и др., 2004).

В последние годы в животноводстве все чаще стали применять хелатные комплексы металлов микроэлементов, обладающие более высокой усвояемостью и меньшей токсичностью. При их применении по некоторым данным (Г.Ф. Кабиров и др., 2004; Х.Ш. Казаков, 1972; Ю.Н. Калимуллин и др., 1987; Н. Садовникова, 2006; Н.З. Хазипов и др., 1994; Н.З. Хазипов и др., 1996) снижается антагонизм микроэлементов (по крайней мере, на этапе всасывания). Но данная проблема не может быть решена полностью, в частности, за счет конкуренции микроэлементов при формировании активных центров металлоферментов. Таким образом, является актуальной разработка рациональных схем введения соединений микроэлементов в рацион животных.

Еще одной важной проблемой является высокая рыночная стоимость добавок, содержащих хелатные комплексы. Поэтому важны разработка простых и недорогих методик получения данных соединений, а также поиск путей упрощения технологии их производства и снижения себестоимости.

**Степень разработанности темы.** Применение хелатных комплексов металлов в составе кормовых добавок достаточно широко описано в литературе (Г.П. Логинов, 2015; Н.З. Хазипов, А.Н. Аскарлова, 2003). Но не до конца решенными остаются вопросы, связанные с технологией их получения. Кроме того, существующие схемы введения добавок микроэлементов нельзя считать рациональными, поскольку в них далеко не полностью решена проблема биохимического антагонизма. Таким образом, данная область требует дальнейших исследований.

**Цель и задачи исследований:** оптимизировать процесс получения комплексных соединений Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином и аспарагиновой кислотами, а также схему и дозировки их введения животным.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи.

1. Разработать и оптимизировать методики получения хелатных комплексов Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином и аспарагиновой кислотой и выбрать оптимальную для промышленного производства.

2. Оценить стойкость полученных комплексных соединений.

3. Оценить токсичность, а также местное действие на слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта лабораторных животных сульфатов Cu, Zn и их хелатных комплексов с глицином и аспарагиновой кислотой в выбранных дозировках.

4. Изучить динамику изменения основных гематологических и биохимических показателей, а также содержания Co, Zn, Fe, Cu, Mn в крови телят и ягнят при введении комплексных соединений и неорганических солей данных микроэлементов по предлагаемой схеме.

5. Изучить влияние хелатных комплексов микроэлементов и их неорганических солей на ветеринарно-санитарные показатели туши исследуемых животных.

**Научная новизна исследования.** Усовершенствована методика получения хелатных комплексов Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином и аспарагиновой кислотой. Предложен ряд решений, позволяющих избежать окисления соединений Co (II) и Mn (II) в процессе их получения и выделения из растворов. Показана недопустимость совместного применения водных растворов данных соединений. Разработаны составы для получения «ex tempore» данных хелатных комплексов. Предложена новая эффективная схема их введения, позволяющая снизить взаимное антагонистическое влияние микроэлементов.

При ее использовании отмечено повышение (до реферативных значений) содержания Co, Zn, Fe, Cu в крови телят в течение 1-2 недель после однократного введения растворов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Показано, что комплексные соединения Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином более стабильны в водных растворах по сравнению с аспарагинатами. Поэтому их применение на практике является более предпочтительным.

Показана целесообразность введения полученных веществ по отдельности для исключения их взаимного антагонизма и предотвращения разложения из-за изменения pH. Предложена схема введения соединений микроэлементов, использование которой обеспечивает высокую эффективность при меньшем расходе веществ и позволяет вводить каждый микроэлемент с глицином 1 раз в 7–14 дней. Показана эффективность ее применения в экспериментах на телятах и ягнятах.

Разработаны рецептуры удобных в использовании наборов реагентов для получения «ex tempore» растворов хелатных комплексов Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином, а также аспарагиновой кислотой. За счет упрощения технологии производства их себестоимость должна быть очень низкой.

**Методология и методы исследования.** Получение хелатных комплексов осуществлялось в жидкой фазе (в водных растворах). Диапазоны pH, при которых данные соединения сохраняют стабильность, определялись с помощью кислотно-основного титрования и уточнялись путем оценки стабильности растворов с разными значениями pH при хранении.

В экспериментах на лабораторных животных использовались осмотр и патолого-анатомическое исследование. В процессе работы с сельскохозяйственными животными осуществлялись: клинический осмотр, биохимические и гематологические исследования, ветеринарно-санитарная экспертиза туши, мяса и субпродуктов.

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась с помощью программы Microsoft Excel.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Методика получения хелатных комплексов Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином и аспарагиновой кислотой проста в исполнении и позволяет готовить водные растворы, как в лабораторных, так и в производственных условиях.

2. Водные растворы хелатных комплексов Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином являются более предпочтительными по сравнению с комплексами данных микроэлементов с аспарагиновой кислотой.

3. Водные растворы хелатных комплексов Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином не обладают местно – раздражающим и раздражающим действием на слизистые оболочки лабораторных животных.

4. Для восполнения дефицита микроэлементов в организме животных целесообразно однократно вводить водные растворы, содержащие отдельно каждый микроэлемент. Курс лечения повторять через 2 недели, контролируя содержание микроэлементов в сыворотке крови лабораторными исследованиями.

**Апробация и внедрение результатов научных исследований.** Материалы и результаты проведённых исследований освещены и обсуждены на Всероссийских и международных научных конференциях: «Научное и кадровое обеспечение АПК для продовольственного импортозамещения» (Ижевск, 2016); «Научно обоснованные технологии интенсификации сельскохозяйственного производства» (Ижевск, 2017); «Инновационный потенциал сельскохозяйственной науки XXI века: вклад молодых учёных-исследователей» (Ижевск, 2017); «Инновационные технологии для реализации программы научно-технического развития сельского хозяйства» (Ижевск, 2018); на Всероссийском конкурсе Министерства сельского хозяйства РФ в номинации «Ветеринарные науки» (2-е место на 2-м этапе конкурса, г. Казань, 2018 и 4-е место на 3-м этапе конкурса, г. Ставрополь 2018).

Результаты исследований внедрены в работу следующих животноводческих хозяйств: АО «Путь Ильича»; ООО «Совхоз – Правда» (Завьяловский район Удмуртской Республики), а также в работу следующих предприятий химической промышленности: ООО «КамаХимСеть», ООО «Приволжская Химия», ООО «Ижевский Завод Моющих Средств» и ООО «Торговый дом Ижсинтез–Химпром» (г. Ижевск).

Теоретические положения диссертации внедрены в учебный процесс факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия» и используются при преподавании по дисциплинам: «биологическая химия», «ветеринарная фармакология», «токсикология»; «ветеринарно-санитарная экспертиза»; «физиология и этология животных»; «патологическая физиология»; «клиническая физиология».

**Достоверность полученных результатов.** При синтезе всех указанных выше соединений использовались только реактивы марки «х.ч.» или «ч.д.а». Биохимические и гематологические исследования выполнялись в лабораториях, имеющих аккредитацию. Достоверность результатов оценивалась с использованием критерия Стьюдента.

**Личный вклад автора в выполнении научной работы**

Автором лично выполнен синтез всех описанных соединений, все эксперименты на лабораторных и сельскохозяйственных животных, а также большая часть лабораторных исследований (за исключением выполненных в специализированной лаборатории УВДЦ). Самостоятельно проведена обработка полученных результатов.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 2 в журналах, рекомендованных перечнем ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, а также 1 Патент на изобретение.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 162 страницах печатного текста, включает 15 таблиц и 14 рисунков и содержит следующие разделы: «введение», «обзор литературы», «материалы и методы», «результаты и обсуждение», «закключение», практические рекомендации по использованию результатов исследования. Список цитируемой литературы включает 325 источников в т.ч. 279 отечественных и 46 зарубежных.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Работа выполнена в период с 2015 по 2018 годы в ФГБОУ ВО ИжГСХА на кафедрах «Ветеринарно-санитарной экспертизы и радиобиологии», «Анатомии и физиологии», и «Межфакультетской учебно-научной лаборатории биотехнологии». Лабораторные исследования проводились также на базе кафедры «Инфекционных болезней и патологической анатомии», БУ «Удмуртского ветеринарно-диагностического центра» (БУ УВДЦ) и лаборатории ветеринарной клиники «ВитаВет» (г. Ижевск). Исследования на сельскохозяйственных животных выполнялись в АО «Путь Ильича» Завьяловского района Удмуртской Республики и в личном подсобном хозяйстве.

### **Животные, использованные в эксперименте**

В экспериментах были использованы лабораторные и сельскохозяйственные животные: 1) 40 самцов нелинейных белых мышей; массой  $28 \pm 3,2$  г; 2) 110 нелинейных белых мышей разного пола массой  $24 \pm 3,6$  г; 3) 30 ягнят Романовской породы, в возрасте 6 месяцев массой  $25 \pm 2$  кг; 5) 75 телят холмогорской породы, в возрасте 3 месяцев, массой  $105 \pm 15$  кг.

Содержание и кормление лабораторных животных осуществлялось согласно общепринятым требованиям. Все мыши были клинически здоровыми, получали одинаковое питание и находились в одинаковых условиях. При этом каждая группа животных содержалась отдельно от других. Содержание сельскохозяйственных животных

(овец и телят) осуществлялось в зимне-весенний период в условиях, соответствующих зооигиеническим требованиям. Тип кормления: у телят – силосно-концентратный. Кормление ягнят осуществлялось сеном, молотым ячменем и корнеклубнеплодами.

#### **Методы лабораторных исследований**

Гематологическое исследование выполнялось с помощью анализатора IDEXX LaserCyte (IDEXX Laboratories, Inc. США). Биохимические исследования сыворотки крови животных проводились с использованием анализатора «STAT FAX 1904 +» (Awareness Technology INC, США), а также фотоэлектроколориметров КФК-2 и КФК-3. Патолого-анатомические исследования осуществлялось по общепринятой методике.

#### **Ветеринарно-санитарная экспертиза**

Убой овец и ветеринарно-санитарный осмотр туш и внутренних органов осуществлялись в условиях ООО «Мясокомбинат «Металлург» г. Ижевск.

Ветеринарно-санитарная экспертиза включала: исследование туши и внутренних органов (в соответствии с ГОСТ 31777–2012), оценку органолептических характеристик мяса после созревания (в соответствии с ГОСТ 7269–2015), а также микробиологические и биохимические исследования мяса в соответствии с действующими «Правилами ветеринарного осмотра убойных животных и ВСЭ мяса и мясных продуктов».

#### **Синтезированные хелатные комплексы:**

В процессе работы синтезированы и использованы в экспериментах на животных следующие соединения: железа (III) трис–глицинат; марганца (II) бис–глицинат; кобальта (II) бис–глицинат; цинка (II) бис–глицинат; меди (II) бис–глицинат; меди (II) бис–аспарагинат, цинка (II) бис–аспарагинат, кобальта (II) бис–аспарагинат, марганца (II) бис–аспарагинат, железа (III) трис–аспарагинат.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Разработка методик получения хелатных комплексов меди, железа, цинка, марганца, кобальта с глицином и аспарагиновой кислотой и выбор соединений для дальнейших исследований**

В процессе работы были синтезированы хелатные комплексы меди, железа, цинка, марганца, кобальта с глицином и аспарагиновой кислотой. Формулы данных соединений представлены на рис. 1.

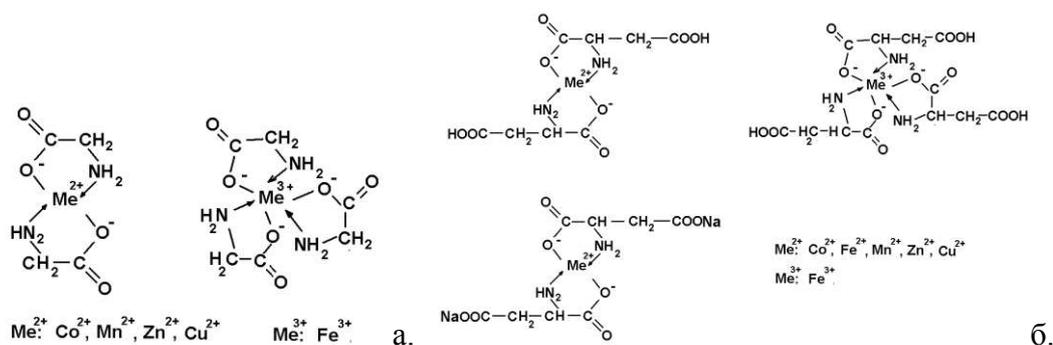


Рис. 1 – Формулы хелатных комплексов Fe, Cu, Mn, Zn, Co: а) с глицином; б) с аспарагиновой кислотой

Хелатные комплексы с глицином удалось получить путем смешивания раствора сульфата или хлорида соответствующего металла с раствором глицина либо его натриевой (или калиевой) соли. Хелатные комплексы с аспарагиновой кислотой были получены путем смешивания раствора соли соответствующего металла с раствором аспарагиновой кислоты или ее одно- или двузамещенной натриевой (или калиевой) соли. (Их использование зависело от того, при какой рН данные комплексы были стабильны). При синтезе указанных выше комплексных соединений побочными продуктами являлись хлорид или сульфат натрия (или калия). Очищать продукт от данных нетоксичных примесей было нецелесообразно, так как это привело бы к увеличению себестоимости.

Было установлено, что в водных растворах полученные комплексные соединения при определенных условиях могут быть недостаточно стабильными и при хранении постепенно разлагаться с образованием осадков гидроксидов соответствующих металлов. Для решения этой проблемы потребовалось установить значения рН-растворов, при которых хелатные комплексы не разлагаются.

В водных растворах с оптимальными значениями рН глицинаты указанных микроэлементов сохраняли стабильность в течение, по крайней мере, нескольких месяцев. В то же время для растворов аспарагинатов были критичными даже очень небольшие изменения рН, обусловленные, например, перепадами температуры или иными факторами. Поэтому было решено использовать для дальнейших исследований и возможного практического внедрения хелатные комплексы Co, Zn, Fe, Cu, Mn с глицином.

Необходимо отметить, что процесс выделения из растворов указанных веществ (в сухом виде) является достаточно длительным. Поэтому более перспективно производство данных веществ в виде стабилизированных водных растворов. Это позволило бы упростить технологию и снизить себестоимость производства, повысить удобство применения. Еще одним возможным путем снижения себестоимости является получение

растворов хелатных комплексов микроэлементов непосредственно перед их добавлением к корму или воде для поения. С этой целью были разработаны рецептуры реагентов, при смешивании которых с водой происходит образование растворов хелатных комплексов.

### Результаты экспериментов на лабораторных животных

Для оценки действия сульфатов, бис–глицинатов и бис–аспарагинатов меди и цинка были проведены исследования на нелинейных белых мышах. Указанные соединения вводились в виде растворов перорально (по 40 мкл) в дозировке, многократно превышающей суточную потребность в данных микроэлементах (А.И. Рахманов, 2011).

Мыши были разделены на 3 подопытные группы (по 10 особей), получавших: 1) сульфаты меди и цинка; 2) бис–глицинаты меди и цинка; 3) бис–аспарагинаты меди и цинка. Контрольная 4-я группа (10 мышей) получала дистиллированную воду в том же объеме. Схема эксперимента представлена в таблице 1.

**Таблица 1** – Группы лабораторных животных и дозировки вводимых веществ

№ группы	Кол-во мышей	Вещество	Объем раствора	Разовая доза микроэлемента	Кол-во введений
1	10	CuSO <sub>4</sub>	40 мкл	0,032 мг	3
		ZnSO <sub>4</sub>	40 мкл	0,057 мг	
2	10	Cu (II) бис–глицинат	40 мкл	0,038 мг	3
		Zn (II) бис–глицинат	40 мкл	0,076 мг	
3	10	Cu (II) бис–аспарагинат	40 мкл	0,024 мг	3
		Zn (II) бис–аспарагинат	40 мкл	0,049 мг	
4	10	Вода дистиллированная	40 мкл	–	3

Через 3 дня после последнего введения растворов мыши были декапитированы и подвергнуты патологоанатомическому исследованию. У всех мышей 1-й группы при вскрытии отмечались характерные для отравления тяжелыми металлами изменения со стороны печени, желчного пузыря, почек, селезенки, подкожной жировой клетчатки, желудка, тонкого и толстого кишечника. У мышей 2-й, 3-й и 4-й групп патологических изменений при вскрытии обнаружено не было.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном токсическом влиянии сульфатов Cu и Zn. В то же время, при введении одинаковых (по микроэлементам) дозировок бис–глицинатов и бис–аспарагинатов Cu и Zn, подобного действия не выявлено.

Была выполнена оценка местно-раздражающего действия хелатных комплексов Co, Fe, Cu, Zn, Mn с глицином, а также растворов MnSO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, CoSO<sub>4</sub>, CuSO<sub>4</sub>. Эксперимент проводился путем однократного погружения хвостов лабораторных мышей в растворы указанных соединений. Концентрация неорганических солей и хелатных комплексов

микроэлементов была точно такой же, как и в растворах, использованных для перорального введения в экспериментах на сельскохозяйственных животных. Время экспозиции составляло 2 часа. При этом не было выявлено местного раздражающего действия растворов глицинатов Mn (II), Zn (II), Co (II), Cu (II), а также растворов MnSO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, CoSO<sub>4</sub> и CuSO<sub>4</sub>. При воздействии раствора FeCl<sub>3</sub> отмечалась очень слабая, а при воздействии раствора трис-глицината железа едва заметная гиперемия кожи, что может быть связано с окислительными свойствами соединений железа (III), а также кислой pH данных растворов.

### Результаты исследований на телятах

Для проведения эксперимента по сравнению влияния на организм телят сульфатов Co, Zn, Fe, Cu, Mn и их хелатных комплексов с глицином были отобраны животные, испытывающие дефицит соответствующих микроэлементов.

Были сформированы 3 группы (2 опытные и 1 контрольная) тёлочек трехмесячного возраста (массой 105±15 кг) по 25 животных в каждой. Животные 1-й группы получали (перорально по 5 мл) растворы сульфатов Co, Zn, Fe, Cu, Mn, а животные 2-й группы хелатные комплексы данных микроэлементов с глицином. Введение каждого вещества осуществлялось однократно. При этом для исключения антагонизма вещества вводились по отдельности с интервалом в 1 день. Дозировка микроэлементов была в 1,45–1,6 раза меньше рекомендуемой суточной дозы для телят данного возраста. (А.П. Калашников и др. 2003). Схема проведения эксперимента представлена в таблице 2. Выполнялась оценка гематологических и биохимических показателей крови. Оценивалось содержание микроэлементов в сыворотке. С этой целью проводилось взятие крови из яремной вены.

**Таблица 2** – Группы телят и дозировки вводимых веществ

№	Кол-во телят	Соединение	Дозировка микроэлементов (мг на 1 голову)	Кол-во введений	Взятие крови	Примечания
1	25	CuSO <sub>4</sub>	11	1	0, 7, 14, 21, 28 день	Введение хелатных комплексов каждого микроэлемента осуществлялось не одновременно, а с разницей в 1 день
		ZnSO <sub>4</sub>	65	1		
		MnSO <sub>4</sub>	55	1		
		CoSO <sub>4</sub>	0,8	1		
		FeSO <sub>4</sub>	75	1		
2	25	Cu (II) бис-глицинат	11	1		
		Zn (II) бис-глицинат	65	1		
		Mn (II) бис-глицинат	55	1		
		Co (II) бис-глицинат	0,8	1		
		Fe (III) трис-глицинат	75	1		
3	25	H <sub>2</sub> O	-	1		-

Перед началом эксперимента у животных всех трех групп отмечалась сниженная двигательная активность, мышечная слабость, периодическая диарея, выпадение волос и появление множества очагов алопеций. Волосяной покров был тусклый, грубый, с залысами. Кожа была грубой со сниженной эластичностью, имелись признаки кожного зуда. Телята имели переменный аппетит, облизывали друг друга, стены, полы, кормушки, перегородки и другие несъедобные предметы.

Начиная с 7-го дня эксперимента у телят 1-й и 2-й групп обнаружена положительная динамика по сравнению с животными 3-й (контрольной группы) – улучшение аппетита, снижение частоты диареи, повышение двигательной активности, снижение выраженности признаков поражения кожных покровов. Положительные изменения у телят 2-й группы были более выраженными и наступали раньше, чем в 1-й группе. У телят 2-й группы состояние практически полностью нормализовалось на 14–21 день эксперимента, а у телят 1-й группы на 21–28-й день. У животных 3-й группы общее состояние осталось без заметных изменений.

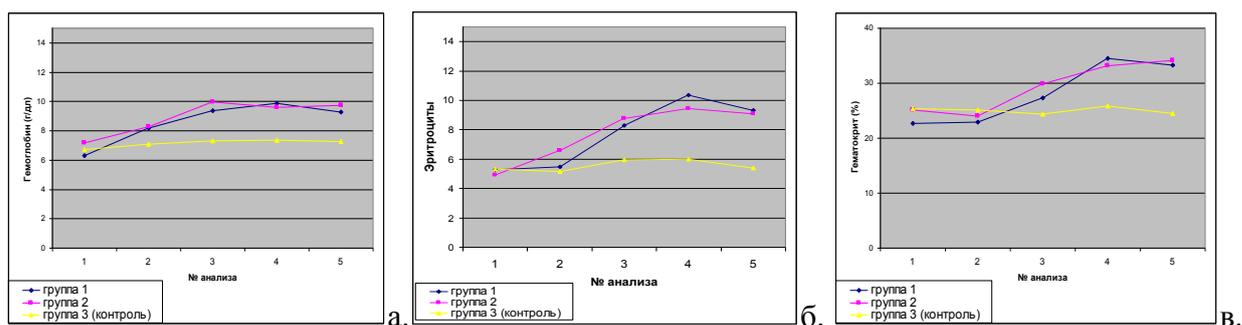


Рис. 2. Динамика изменения гематологических показателей телят: а) гематокрита; б) содержания эритроцитов; в) концентрации гемоглобина

В ходе эксперимента были отмечены изменения гематологических показателей (рис. 2). До введения соединений Cu, Zn, Fe, Co, Mn количество эритроцитов и содержание гемоглобина было низким, хотя и не во всех случаях выходило за пределы нижней границы нормы. Но, начиная с 7–14 дня, у животных 1-й и 2-й групп отмечалась достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение данных показателей, которое достигало максимума к 21-му дню. В контрольной группе достоверного ( $p > 0,05$ ) повышения содержания эритроцитов не выявлено. Аналогичная картина наблюдалась и при оценке гематокрита.

Таким образом, даже однократное введение микроэлементов в небольших дозировках по предложенной схеме способствовало нормализации данных показателей.

Общее содержание лейкоцитов и показатели лейкоцитарной формулы оставались в пределах нормы у всех 3 групп телят на протяжении всего периода наблюдения.

Достоверных различий по сравнению с контролем у животных 1-й и 2-й групп выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

До начала эксперимента в крови телят отмечалось пониженное содержание цинка (ниже нормы), а также железа, меди и кобальта (ниже нормы или по ее нижней границе). После введения соединений микроэлементов содержание меди, цинка, железа, кобальта достоверно ( $p < 0,05$ ) повысилось у животных 1-й и 2-й групп по сравнению с контролем к 7 дню эксперимента. Затем отмечалось постепенное снижение концентрации (рис. 3). Необходимо отметить, что содержание данных микроэлементов на 7, 14, 21-й день у животных 2-й группы было несколько выше по сравнению с 1-й группой.

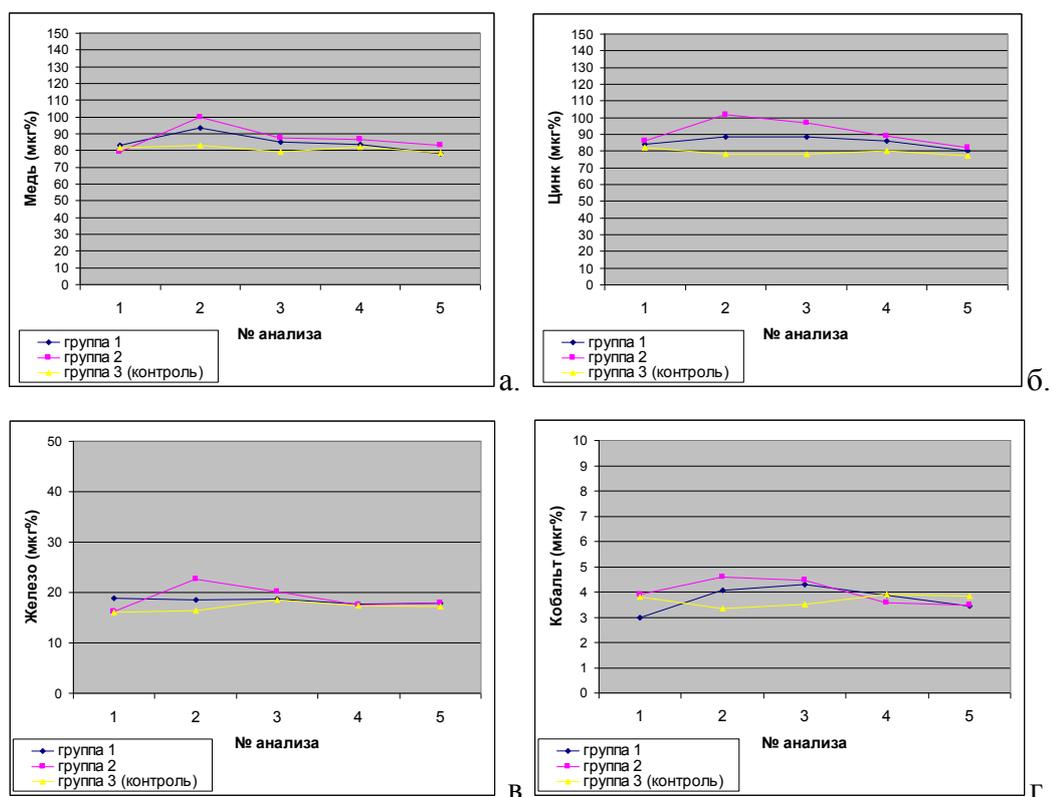


Рис. 3. Содержание в сыворотке крови телят: а) меди; б) цинка; в) железа; г) кобальта

Достоверных различий между всеми тремя группами животных при определении АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, резервной щелочности, концентрации кальция и магния выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

Исходное содержание альбуминов и общего белка в крови животных было ниже нормы или приближалось к ее нижней границе. После введения соединений Fe, Co, Mn, Zn, Cu у телят 2-й группы отмечалось достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение данных показателей по сравнению с животными 1-й и 3-й групп (рис. 4).

Таким образом, использование хелатных комплексов микроэлементов способствовало нормализации содержания альбуминов и общего белка у телят. В то же время, не было обнаружено достоверного ( $p > 0,05$ ) влияния сульфатов Fe, Co, Mn, Zn, Cu в использованных дозировках.

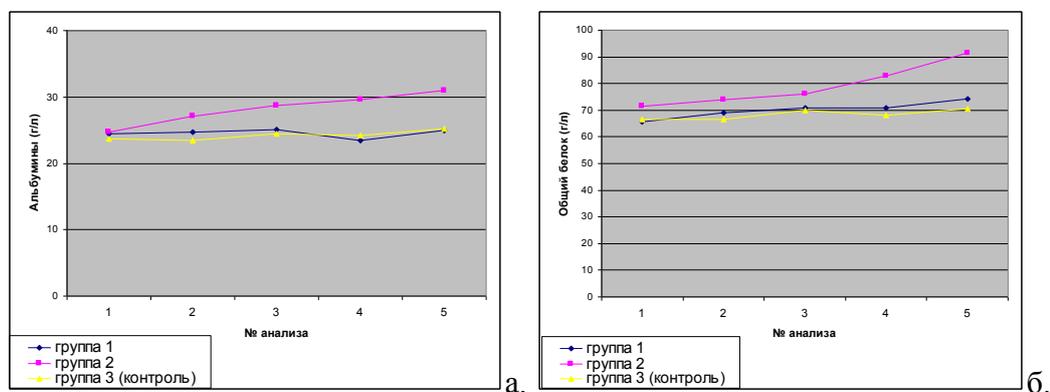


Рис. 4. Изменение в крови телят концентрации: а) альбуминов; б) общего белка

### Результаты исследований на ягнятах

На 30 ягнятах Романовской породы (шестимесячного возраста, имеющих вес  $25 \pm 2$  кг) было исследовано влияние бис-глицинатов Cu и Zn и сульфатов данных микроэлементов. Перед началом эксперимента был обнаружен недостаток в организме ягнят меди и цинка. Были сформированы 3 группы по 10 животных в каждой. Введение растворов осуществлялось перорально (по 3 мл) с помощью шприца. 1-я опытная группа ягнят получала растворы сульфатов меди и цинка, 2-я группа – растворы бис-глицинатов меди и цинка, а 3-я (контрольная) группа – дистиллированную воду.

Дозировка вводимых микроэлементов была существенно меньшей по сравнению с обычно рекомендуемой (А.П. Калашников и др. 2003). Для того, чтобы исключить возможное взаимное антагонистическое влияние меди и цинка, указанные вещества вводились по отдельности с определенным временным интервалом. Общая схема эксперимента представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Группы ягнят и дозировки вводимых веществ

№ группы	Вещество	Дозировка микроэлемента	Периодичность и количество введений	Взятие крови (дни)
1	CuSO <sub>4</sub>	7 мг	2 раза через 7 дней	0, 7, 14, 21, 28
	ZnSO <sub>4</sub>	28 мг	2 раза через 7 дней	
2	Cu (II) бис-глицинат	7 мг	2 раза через 7 дней	0, 7, 14, 21, 28
	Zn (II) бис-глицинат	28 мг	2 раза через 7 дней	
3	Вода дистиллированная	–	2 раза через 7 дней	0, 7, 14, 21, 28

Исходно у ягнят наблюдался повышенный аппетит, переполнение рубца кормовыми массами. У части животных отмечалась диарея. Мышцы были слабо развиты, конечности короткие, шерстный покров взъерошенный, залезанный. После завершения эксперимента общее состояние животных 1-й и 2-й групп нормализовалось, активность возросла, диарея не отмечалась, качество шерсти значительно повысилось. При этом в группе, получавшей хелатные комплексы меди и цинка с глицином, улучшение состояния происходило быстрее. У животных 3-й контрольной группы положительная динамика развивалась медленнее.

В ходе исследования не было выявлено достоверных ( $p > 0,05$ ) различий динамики изменения гематокрита, содержания гемоглобина, эритроцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, базофилов и эозинофилов между животными 1-й, 2-й и 3-й групп. Изменения данных показателей в сторону нормализации имели место. Но они, вероятно, были связаны не с введением указанных соединений, а с влиянием других факторов.

До начала эксперимента было установлено сниженное содержание в сыворотке крови ягнят меди, цинка, кальция, магния, общего белка, альбуминов, снижение резервной щёлочности, повышение уровня фосфатов.

После введения соединений меди и цинка отмечалось достоверное ( $p < 0,05$ ) (по сравнению с контролем) повышение содержания данных микроэлементов в сыворотке, сохранявшееся в течение 7–14 дней. В 3-й (контрольной) группе достоверных изменений по сравнению с исходными значениями выявлено не было ( $p > 0,05$ ) (рис. 5).

Повышения содержания и меди, и цинка удалось добиться даже, несмотря на наличие у них выраженного биохимического антагонизма. При этом оно было более значительным у животных 2-й группы.

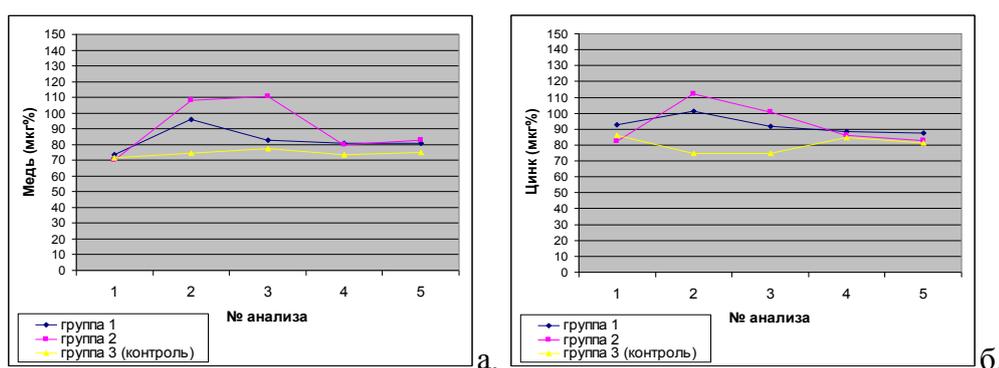


Рис. 5. Динамика изменения содержания в крови ягнят: а) меди; б) цинка

Было выявлено влияние поступления соединений меди и цинка на содержание в крови железа и кобальта (рис. 6). При этом концентрация железа у животных 1-й и 2-й групп снижалась из-за его антагонизма с цинком, несмотря на синергизм с медью. Концентрация кобальта, напротив, несколько увеличивалась, вероятно, из-за синергизма с медью,

несмотря на его антагонизм с цинком. Следовательно, выраженность синергического и антагонистического взаимного влияния данных микроэлементов неравнозначна.

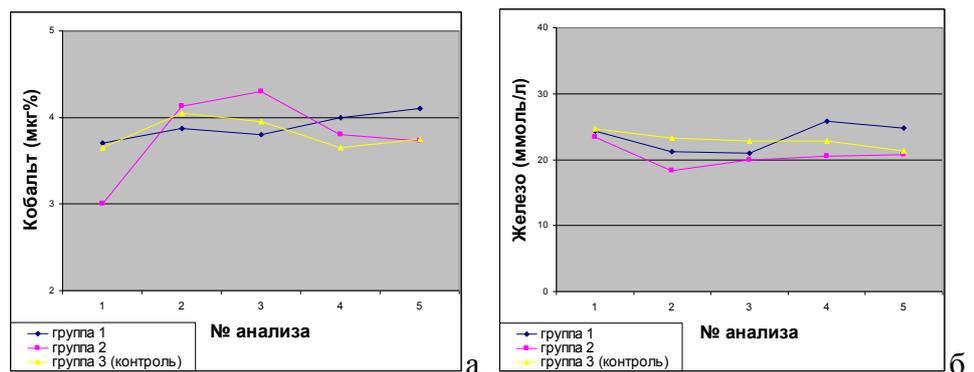


Рис. 6. Динамика изменения содержания в крови ягнят: а) кобальта; б) железа

Также было обнаружено влияние введения соединений меди и цинка на содержание в крови альбуминов и общего белка (рис. 7). Данные показатели у животных 1-й и 2-й групп были достоверно ( $p < 0,05$ ) выше на 14 день эксперимента по сравнению с контролем. В дальнейшем происходило их снижение.

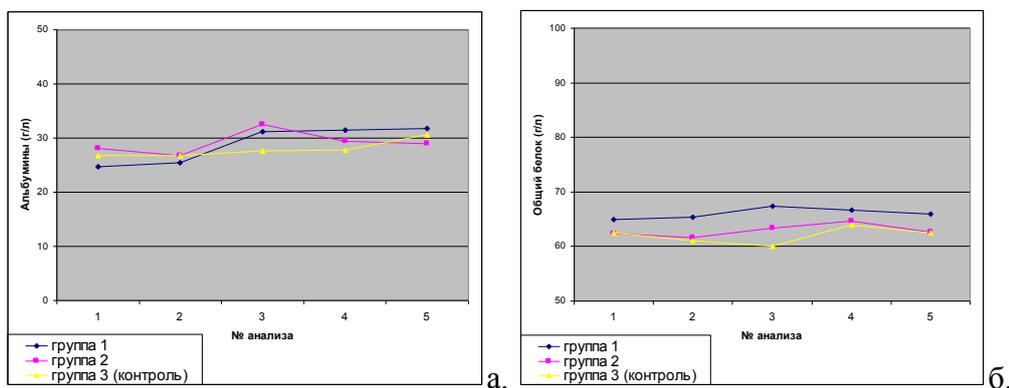


Рис. 7. Содержание в крови ягнят: а) альбуминов; б) общего белка

Достоверного влияния введения соединений меди и цинка на концентрацию в крови ягнят кальция, магния и фосфатов, активность АСТ и АЛТ и резервную щелочность крови не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

### Ветеринарно-санитарная экспертиза туш и внутренних органов ягнят

Убой животных был произведен через 60 дней после начала эксперимента (на 32-й день после завершения основной части эксперимента). Во всех случаях при лабораторном исследовании баранины было установлено ее соответствие существующим требованиям. Обобщенные данные о выходе мяса и субпродуктов представлены в таблице 4.

В 1-й группе отмечалось повышение выхода туши по сравнению с контролем на 1,1 % и субпродуктов на 3,09 %. Во 2-й группе повышение было несколько выше и составило соответственно 5,8 % для туши и 7,55 % для субпродуктов.

Следовательно, включение в рацион кормления ягнят хелатных комплексов Cu и Zn с глицином и сульфатов Cu и Zn способствовало увеличению среднесуточного прироста живой массы, увеличению выхода туш и субпродуктов, повышению категории при оценке упитанности мясных туш в соответствии с требованиями ГОСТ 31777–2012. В то же время, использование хелатных комплексов в указанных дозировках по предложенной схеме было несколько более эффективным по сравнению с применением сульфатов.

**Таблица 4** – Количественные и качественные показатели туш, мяса и субпродуктов

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа (контроль)
Масса овец (после предубойной выдержки), кг	34,5±2	37±2	34±2
Масса туши, кг	17,2±1	18±1	17±1
Категория туш	1	1	1
Органолептические показатели	соответствуют ГОСТ 7269-2015		
Биохимические показатели	соответствуют нормативным требованиям		
Показатели упитанности туши	соответствуют ГОСТ 31777-2012		
Масса субпродуктов (общая), г	1201±55	1253±49	1165±29
Масса сердца, г	248±32	267±26	230±30
Масса печени, г	483±46	495±48	480±50
Масса почек, г	142±15	152±11	140±7
Масса легких, г	328±21	339±32	315±30

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования были разработаны методики получения хелатных комплексов железа, марганца, кобальта, цинка и меди с аспарагиновой кислотой и глицином. Определены значения рН, при которых данные соединения стабильны. Решена проблема окисления кислородом соединений Mn (II) и Co (II) в процессе синтеза.

Данные соединения могут использоваться в виде добавок к корму, применяемых в качестве источника жизненно необходимых микроэлементов. Возможно использование полученных соединений: а) в виде выделенных из растворов твердых веществ; б) в виде водных растворов. В последнем случае себестоимость продукта может быть значительно снижена. Также возможно использование наборов реагентов для приготовления растворов хелатных комплексов непосредственно перед использованием (ex tempore).

В экспериментах на лабораторных животных (мышях) была доказана значительно меньшая гепато- и нефротоксичность и меньшее повреждающее действие на слизистую желудочно-кишечного тракта хелатных комплексов Cu и Zn с глицином и аспарагиновой кислотой, по сравнению с использованием сульфатов данных микроэлементов.

Был поставлен вопрос о целесообразности пересмотра схем введения хелатных комплексов данных микроэлементов с целью достижения большей эффективности при меньших дозировках. В частности, было предложено: 1) отказаться от ежедневного введения каждого микроэлемента (для снижения проявлений биохимического антагонизма); 2) осуществлять введение соединений микроэлементов отдельно друг от друга с интервалом не менее суток; 3) снизить дозировку (с учетом высокой биодоступности хелатов и решения проблемы антагонизма). Проведенные исследования на сельскохозяйственных животных показали правильность данных предположений.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Хелатные комплексы микроэлементов целесообразно вводить после оценки содержания микроэлементов в сыворотке крови животных. Необходимо введение в корм животных хелатных комплексных соединений только тех микроэлементов, содержание которых в организме является сниженным.

2. Растворы хелатных комплексов следует давать по отдельности.

3. Предпочтительным является использование хелатных комплексов Cu, Co, Mn, Zn, Fe с глицином по сравнению с комплексами с аспарагиновой кислотой. Это обусловлено большей стойкостью водных растворов глицинатов, меньшими затратами при их получении и отсутствием у глицина явления D-, L-стереоизомерии.

4. По результатам исследований получен патент на изобретение № 2605200 «Способ получения кормовой добавки для сельскохозяйственных животных».

### **РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Полученные теоретические выводы и результаты экспериментальных исследований позволяют наметить перспективы дальнейшей разработки темы в условиях Предуралья:

– Разработка методик получения растворов хелатных комплексов с другими лигандами;

– Изучение содержания микроэлементов в сыворотке крови животных в зависимости от времени года, в условиях биогеохимической провинции;

– Разработка комплексной научно обоснованной системы лечения микроэлементозов.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Публикации в научных журналах, рецензируемых ВАК Министерства науки и высшего образования РФ:

1. Иванов, И.С. Влияние микроэлементов Cu, Co, Zn и Mn в органической форме на организм животных / И.С. Иванов, В.А. Руденок, Е.И. Трошин, **А.Н. Куликов** // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 4. – С. 246–249.

2. Куликов, А.Н. Влияние хелатных комплексов меди и цинка с глицином на организм белых мышей и овец романовской породы / А.Н. Куликов, И.С. Иванов // Scientific notes Kazan Bauman state academy of veterinary medicine. – 2017. – Vol. 232 (IV). – P. 93–99.

### Материалы, опубликованные в сборниках конференций:

3. Куликов, А.Н. Получение хелатных соединений микроэлементов (биометаллов) Co, Zn, Cu, Fe, Mn / А.Н. Куликов, Е. И. Трошин, Ю.Г. Крысенко, И.С. Иванов // Научное и кадровое обеспечение АПК для продовольственного импортозамещения: материалы Всероссийской научно-практической конференции. В 3 т. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2016. – Т. 2. – С. 40–43.

4. Куликов, А.Н. Разработка методик синтеза аспарагинатов некоторых микроэлементов / А.Н. Куликов, Е.И. Трошин, Ю.Г. Крысенко, А.В. Шишкин, И.С. Иванов // Научно обоснованные технологии интенсификации сельскохозяйственного производства: материалы Международной научно-практической конференции. В 3 т. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2017. – Т. 2. – С. 42–44.

5. Куликов, А.Н. Изучение влияния хелатных комплексов Mn, Co, Zn, Fe, Cu на организм ремонтных тёлочек холмогорской породы / А.Н. Куликов, И.С. Иванов, Ю.Г. Крысенко, А.В. Шишкин // Инновационный потенциал сельскохозяйственной науки XXI века: вклад молодых учёных-исследователей: материалы Всероссийской научно-практической конференции. Сборник статей [Электронный ресурс] / ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2017. – С. 164–167.

6. Иванов, И.С. Разработка методик синтеза глицинатов некоторых микроэлементов / И.С. Иванов, Е.И. Трошин, Ю.Г. Крысенко, А.В. Шишкин, **А.Н. Куликов** // Научно обоснованные технологии интенсификации сельскохозяйственного производства: материалы Международной научно-практической конференции. В 3 т. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2017. – Т. 2. – С. 22–24.

7. Куликов, А.Н. Влияние хелатных комплексов Cu и Zn с глицином и сульфатов данных металлов на мясную продуктивность ягнят / А.Н. Куликов, И.С. Иванов, А.В. Шишкин, Ю.Г. Крысенко // Инновационные технологии для реализации программы

научно-технического развития сельского хозяйства: материалы Международной научно-практической конференции. В 3 т. – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2018. – Т. 2. – С. 66–68.

8. Способ получения кормовой добавки для сельскохозяйственных животных: патент РФ 2605200 С2 МПК А23К 50/10/ Крысенко Ю.Г., Крысенко И.Ю., Максимов П.Л., Трошин Е.И., Иванов И.С., **Куликов А.Н.** – заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Ветбиотех». – 2015113632/13. – Опубликовано 20.12.2016. – Бюл. № 31. – 2 с.