

**О ПЕРСПЕКТИВНОСТИ НАНОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СПЛАВОВ
МИКРОЭЛЕМЕНТОВ-АНТАГОНИСТОВ (на примере Fe и Co)*****Е.А. СИЗОВА^{1, 2}, С.А. МИРОШНИКОВ¹, С.В. ЛЕБЕДЕВ², А.В. КУДАШЕВА¹,
Н.И. РЯБОВ¹**

Проблема совместного использования элементов-антагонистов в питании сельскохозяйственных животных решается через раздельное скармливание препаратов микроэлементов или за счет увеличения дозировок. Уникальные свойства наноматериалов позволили нам предположить перспективность альтернативных решений на основе объединения микроэлементов-антагонистов в один препарат, представляющий собой ультрадисперсный порошок их сплавов. В представляемой работе мы впервые сравнили рост, гематологические и биохимические показатели у цыплят-бройлеров отечественного кросса Смена 7 при скармливании индивидуальных солей двух микроэлементов либо их сплава в наноразмерной форме. Выбор пары антагонистов (железо и кобальт) определялся одинаковым механизмом их абсорбции в кишечнике. Источниками железа и кобальта, использованными в качестве минеральной добавки, служили соли $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ и CoCl_2 (I группа бройлеров) или полученные наночастицы ($d = 62,5 \pm 0,6$ нм) сплава этих металлов (II группа бройлеров). Вычисление выраженного в процентах отношения, характеризующего прирост общего пула микроэлемента в организме к величине их поступления с кормом, показало, что по железу в варианте с наночастицами сплава (по сравнению с чистым железом) превышение составило до 50,0 %, по кобальту — 34,7 %. Биологический смысл полученной величины, выраженной в граммах, — это количество, которое откладывается в организме птицы, в расчете на 100 г элемента, поступившего с кормом. При этом отмечали повышение интенсивности роста цыплят и изменения в метаболизме. За период опыта прирост живой массы в I группе превысил контроль на 6 % ($p \leq 0,05$), во II — на 11 % ($p \leq 0,001$). Затраты корма на выращивание в контрольной группе составили 2,48 кг, что на 9,3 и 13,7 % больше, чем соответственно в I и II группах. Использование сплава Co-Fe увеличило прирост живой массы на 4,1 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с таковым в I группе при снижении расхода корма на 4,8 %. В I и II группах содержание креатинина было соответственно на 63,9 % ($p \leq 0,01$) и 38,3 % ($p \leq 0,05$) выше, чем в контроле. При этом в I группе концентрация мочевины в сыворотке крови, а во II — глюкозы увеличивалась относительно контроля соответственно на 38,5 % ($p \leq 0,05$) и 36,5 % ($p \leq 0,05$). Вместе с тем выявленное увеличение пула железа во II группе не было сопряжено с достоверным нарастанием концентрации железа в сыворотке крови относительно таковой в I группе (возможно, вследствие гомеостатической регуляции, поскольку избыток железа может привести к генерации активных форм кислорода) с достоверным снижением его концентрации (на 74,3-78,3 % при $p < 0,01$) в контроле при дефиците железа в рационе. Использование препарата сопровождалось увеличением массовой доли аргинина в печени подопытных цыплят — до $8,10 \pm 0,105$ % по сравнению с контрольным значением $5,05 \pm 0,075$ % (в литературе описаны ростостимулирующие эффекты L-аргинина).

Ключевые слова: наночастицы железа и кобальта, цыплята-бройлеры, интенсивность роста, химические элементы.

В процессе метаболизма химических элементов в организме человека и животных происходит их взаимодействие с другими элементами (1, 2), аминокислотами (3), ферментами (4) и т.д. Целесообразность изучения таких взаимодействий определяется необходимостью донозологической диагностики и лечения элементозов, коррекции диет (5), оценки истинной питательности рационов (6, 7). При этом исторически особое внимание уделялось нормированию небольшой группы микроэлементов (железо, цинк, медь и др.), усвоение которых подвержено влиянию антагани-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-36-00023). Гематологические исследования проводились по стандартизированным методикам в лаборатории «Агроэкология техногенных наноматериалов» и Испытательном центре ФГБНУ Всероссийского НИИ мясного скотоводства (аттестат аккредитации RA. RU.21ПФ59 от 02.12.15). Анализ образцов ткани экспериментальных животных на содержание химических элементов выполнен в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва (аттестат аккредитации ГСЭН.RU.ЦАО.311, Регистрационный номер в Государственном реестре РОСС RU. 0001.513118).

стов (8). Появились методы нивелирования негативного влияния некоторых веществ на усвояемость микроэлементов, в частности основанные на раздельном включении в рацион веществ-антагонистов (9). Подобный прием препаратов цинка и железа положительно влияет на рост и развитие детей в первый год жизни (10). На принципе раздельного использования микроэлементов-антагонистов основаны схемы применения ряда витаминно-минеральных комплексов (ВМК). Наиболее известный российский представитель этой линейки препаратов — ВМК «Алфавит». Подтверждению его эффективности посвящен ряд исследований, демонстрирующих факты повышения биологической доступности микроэлементов, в том числе цинка, железа и др. (11).

Представляется, что с началом производств наноматериалов можно достичь аналогичный результат через использование наночастиц металлов. Для веществ этого класса с размерами частиц около 100 нм показана низкая токсичность (12). Сообщается, что препараты наночастиц металлов (в частности, железа) значительно превосходят соответствующие минеральные соли по биодоступности (13, 14). Целесообразность применения микроэлементов в наноразмерной форме в составе рационов для животных и птицы продемонстрирована в ряде работ (15-18).

Свойства наночастиц (в том числе высокая проникающая способность) позволили нам предположить перспективность альтернативного решения — объединения микроэлементов-антагонистов в один препарат, представляющий собой ультрадисперсные нанопорошки их сплавов.

В представляемой работе мы впервые сравнили рост, гематологические и биохимические показатели у цыплят-бройлеров отечественного кросса при скармливании индивидуальных солей двух микроэлементов либо их сплава в наноразмерной форме. Выбор пары антагонистов (железо и кобальт) определялся одинаковым механизмом их абсорбции в кишечнике (19, 20). Согласно нашей гипотезе, следует ожидать, что препарат наночастиц сплава Fe и Co будет выгодно отличаться от их минеральных солей по биодоступности этих элементов *in vivo* и продуктивному действию.

Целью эксперимента стала апробация подхода по оптимизации минерального питания цыплят-бройлеров на основе введения в рацион наночастиц сплава двух микроэлементов-антагонистов.

Методика. Наночастицы сплава железа и кобальта получали методом высокотемпературной конденсации (установка Миген-3, Институт энергетических проблем химической физики РАН, г. Москва) в соответствии с описанной ранее методикой (21). Материаловедческая аттестация препаратов 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 был равен $62,5 \pm 0,6$ нм с соотношением Fe и Co 7:3. С целью получения лиозолей для последующего скармливания птице водные взвеси наночастиц обрабатывали 30 мин ультразвуком на диспергаторе УЗДН-2Т («НПП Академприбор», Россия) (35 кГц, 300/450 Вт, 10 мкА).

Исследования проводили на цыплятах-бройлерах кросса Смена 7 в условиях вивария (Оренбургский государственный университет). Содержание птицы и процедуры при выполнении экспериментов соответствовали требованиям инструкций и рекомендациям, предусмотренным национальным регламентом (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press, Washington,

D.C., 1996)». Были предприняты все усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшить число используемых образцов.

Для эксперимента отобрали 100 курочек 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 30 особей в каждой.

Использованные полнорационные комбикорма были составлены с учетом рекомендаций (22). Основной рацион (ОР) птицы включал следующие ингредиенты: в возрасте 14–28 сут — зерно пшеницы (320 г/кг) и ячменя (10 г/кг), жмых подсолнечный (184 г/кг), шрот соевый (200 г/кг), рыбная мука (40 г/кг), масло растительное (60 г/кг), зерно кукурузы (163 г/кг), отруби пшеничные (10 г/кг), известняк (10 г/кг), соль поваренная (3 г/кг); в возрасте 29–42 сут — зерно пшеницы (182 г/кг) и ячменя (50 г/кг), жмых подсолнечный (180 г/кг), шрот соевый (75 г/кг), рыбная мука (45 г/кг), масло растительное (45 г/кг), зерно кукурузы (400 г/кг), отруби пшеничные (10 г/кг), известняк (10 г/кг), соль поваренная (3 г/кг). Содержание витаминов и минеральных солей нормировали с помощью премиксов П5 и П6 (соответственно для птицы в возрасте до 28 сут и старше) (ООО «Коудайс МКорма», Россия), включающих витамины А, D, E, K₃, B₁, B₂, B₃, B₄, B₅, B₆, B₁₂, B_c и H; микроэлементы Fe, Mn, Cu, Zn, I, Se и Co (с нормой ввода в рацион 2 %).

Цыплята из контрольной группы на протяжении всего эксперимента получали ОР, остальной птице в период с 14-х по 42-е сут в рацион дополнительно вводили препараты железа (7 мг/кг корма) и кобальта (3 мг/кг корма) с солями FeSO₄·7H₂O и CoCl₂ (I группа) или наночастицы сплава железа и кобальта (II группа) в суммарном количестве, идентичном таковому в I группе. Для поения цыплят во всех группах использовали дистиллированную воду.

Кровь для анализа брали у 42-суточных бройлеров перед убоем утром натощак из подкрыльцовой вены в вакуумные пробирки (для морфологического исследования — с EDTA в качестве антикоагулянта, для оценки биохимических показателей — с активатором свертывания тромбином). Исследования сыворотки крови проводились не позднее 3 ч после взятия проб. При убое учитывали массу и отбирали образцы тканей и органов для оценки элементного состава (образцы сразу же подвергали замораживанию и хранили при –18 °С).

Морфологические показатели определяли с помощью автоматического гематологического анализатора (модель URIT-2900 Vet Plus, «URIT Medial Electronic Co., Ltd», Китай). Биохимическое исследование сыворотки крови проводили на автоматическом анализаторе CS-T240 («DIRUI Industrial Co., Ltd», Китай) с использованием коммерческих наборов для ветеринарии (ДиаВетТест, ЗАО «ДИАКОН-ДС», Россия; «Randox Laboratories Ltd», Великобритания). Аминокислотный состав тканей печени определялся методом капиллярного электрофореза с использованием системы Капель (ООО «Люмэкс-Маркетинг», Россия) после пробоподготовки, включающей высушивание при температуре не выше 50 °С, обезжиривание петролейным эфиром и измельчение до прохождения через сито с размерами стороны квадратной ячейки 0,5 мм.

Химический состав биоматериала и кормов после озоления исследовали методами атомно-эмиссионной спектроскопии (Optima 2000 V, «Per-

kin Elmer», США) и масс-спектрометрии (Elan 9000, «Perkin Elmer», США) согласно рекомендациям производителя. Озоление биосубстратов проводили с использованием микроволновой системы разложения Multiwave-3000 («Anton Paar», Австрия).

Рассчитывали совокупный пул химических элементов в организме. За условный показатель биодоступности химического элемента из корма принимали вычисленное отношение прироста пула вещества в организме к величине его поступления с кормом за период опыта.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного пакета Statistica 10.0 («StatSoft Inc.», США) и Microsoft Excel. Результаты представлены в виде среднего (M) и стандартной ошибки среднего (m). Достоверность различий сравниваемых показателей определяли по t -критерию Стьюдента. Достоверными считали значения при $p \leq 0,05$.

Результаты. В качестве подтверждения рабочей гипотезы о большей биодоступности железа и кобальта из наночастиц их сплава в сравнении с минеральными солями мы рассматриваем факт превышения пула железа в организме цыплят из II опытной группы к окончанию эксперимента на 72,4 % ($p \leq 0,001$) относительно контроля и на 21,6 % ($p \leq 0,01$) — по сравнению с показателями в I группе (рис. 1, А). Аналогичная разница по кобальту составила соответственно 59,5 % ($p \leq 0,001$) и 24,8 % ($p \leq 0,05$). Разница по содержанию железа и кобальта в печени и мышцах колебалась в пределах от 20 % до 140 % (см. рис. 1, Б).

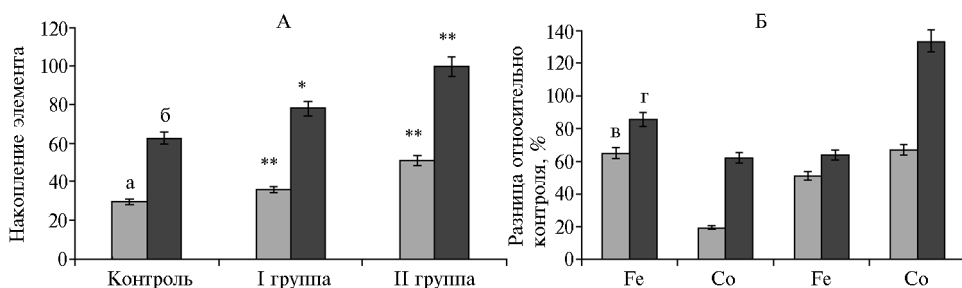


Рис. 1. Пул Fe и Co в организме 42-суточных цыплят-бройлеров кросса Смена 7 (А) и разница в накоплении этих элементов в тканях относительно контроля (без добавок) (Б) при включении в рацион солей Fe и Co (I группа бройлеров, $n = 15$) или наночастиц сплава Fe и Co (II группа бройлеров, $n = 15$): а — Fe (мг), б — Co (мкг); в — I группа, г — II группа (описание групп см. в разделе «Методика»; эксперимент в условиях вивария).

*, ** Различия с контролем достоверны соответственно при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Оценка совокупного поступления химических элементов с кормом и увеличение их общего пула позволила рассчитать удельную долю, отложенную в организме цыплят за период опыта. Установлено, что при использовании наночастиц увеличение ретенции железа из корма достигало 50,0 %, кобальта — 34,7 %. Это согласуется с результатами M.F. Aslam с соавт. (23), полученными при использовании препаратов наночастиц железа, и закономерно связано с особенностями клеточного поглощения нано- и растворимых форм металлов (23). Известно, что железо в кишечнике способно всасываться посредством эндоцитоза в составе сложных комплексов, например ферритина растительного происхождения. Ферритин может содержать несколько тысяч атомов железа (24, 25). Транспорт наночастиц металлов происходит в том числе за счет эндоцитоза (23). Это явление хорошо описано в литературе. Интенсивность высвобождения металлов из наночастиц ниже в сравнении с ионными формами, что дает ос-

нование рассматривать наночастицы металлов как выгодную альтернативу минеральным солям (например, в качестве источника микроэлементов). Относительно медленное высвобождение железа из наночастиц и сохранение содержания этого элемента в крови обеспечивает отсутствие гомеостатического давления на обмен железа как причины окислительного стресса. Это может быть преимуществом при значительном поступлении железа в пищеварительный тракт, что наблюдается после абсорбции терапевтических доз растворимого железа (26, 27). Определенную роль играет и более низкая способность энтероцитов удерживать металлы в виде наночастиц по сравнению с ионной формой (28).

Нет оснований полагать, что регуляция обмена Fe, высвободившегося после деградации наночастиц Fe+Co и из состава FeSO₄, будет происходить по различным механизмам. Исходя из этого, увеличение общего пула железа в организме при использовании препарата наночастиц надо рассматривать как следствие относительно медленного высвобождения этого элемента из наночастицы.

Выявленный факт увеличения пула железа во II группе не был сопряжен с достоверным ростом концентрации железа в сыворотке крови по сравнению с показателями в I группе (табл. 1). Возможно, это связано с гомеостатическими реакциями, направленными на регуляцию количества железа в биологических жидкостях (известно, что избыток железа может привести к генерации активных форм кислорода) (29). В то же время скармливание контрольным цыплятам дефицитного по железу рациона сопровождалось достоверным снижением концентрации этого металла в сыворотке крови относительно таковой в I и II группах — соответственно на 78,3 % ($p < 0,01$) и 74,3 % ($p < 0,01$).

Незначительные изменения в содержании гемоглобина в крови птицы из I и II групп согласуются с результатами исследований на мышцах линии Swiss (CD1) (30), в которых показано, что препарат нано-Fe (III) по способности эффективно восстанавливать количество гемоглобина очень похож на сульфат железа.

1. Морфологические и биохимические показатели крови 42-суточных цыплят-бройлеров кросса Смена 7 при включении в рацион солей Fe и Co (I группа) или наночастиц сплава Fe и Co (II группа) ($M \pm m$, $n = 15$, эксперимент в условиях вивария)

Показатель	Контроль (без добавок)	I группа	II группа
Железо, ммоль/л	15,2±0,40	27,1±0,25*	26,5±0,75*
Гемоглобин, г/л	95,6±1,01	98,0±1,63	101,0±1,01*
Эритроциты, 10 ¹² /л	2,1±0,13	2,6±0,13	2,6±0,12
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	16,3±1,76	19,5±1,13	21,0±1,09*
Глюкоза, ммоль/л	6,3±0,27	6,4±0,23	8,6±0,15*
Холестерин, ммоль/л	3,6±0,05	4,4±0,27	4,3±0,37
Мочевина, ммоль/л	1,3±0,02	1,8±0,06*	1,5±0,10
Общий белок, г/л	33,3±1,20	33,0±2,51	37,3±1,28*
Щелочная фосфатаза, ммоль · с ⁻¹ · л ⁻¹	343,6±24,86	336,6±17,39	423,3±16,36
Креатинин, мкмоль/л	31,3±1,66	51,3±1,49*	43,3±1,73*
Билирубин, мкмоль/л	3,5±0,27	3,6±0,02	1,1±0,05

* Различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$.

Нами установлен факт увеличения содержания креатинина в сыворотке крови на 63,9 % ($p \leq 0,01$) в I и на 38,3% ($p \leq 0,05$) — во II группе. При этом у цыплят в I группе концентрация мочевины была выше на 38,5 % ($p \leq 0,05$), а во II группе количество глюкозы превышало контроль на 36,5 % ($p \leq 0,05$).

2. Рост цыплят-бройлеров кросса Смена 7 и кормозатраты при включении в рацион солей Fe и Co (I группа) или наночастиц сплава Fe и Co (II группа) ($M \pm m$, $n = 15$, эксперимент в условиях вивария)

Группа	Живая масса				Затраты корма на 1 кг прироста	
	всего, г		прирост за опыт (14-42-е сут)		кг	к контролю, %
	14-е сут	42-е сут	кг	к контролю, %		
Контроль	262,3±7,5	1523,3±10,4	1,26±0,08		2,48	
I	267,7±9,1	1606,7±19,7	1,34±0,11	106	2,25	90,7
II	266,7±12,7	1661,3±10,9*	1,40±0,09	111	2,14	86,3

Примечание. Прирост и затраты корма в контроле приняты за 100 %
 * Различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$.

Включение в рацион железа и кобальта сопровождалось увеличением интенсивности роста цыплят. В частности, за период опыта прирост живой массы в I группе превысил контрольные показатели на 6 % ($p \leq 0,05$), во II — на 11 % ($p \leq 0,001$). При этом затраты корма в контрольной группе были выше соответственно на 9,3 и 13,7 %. Более того, по сравнению с эффектом солей указанных микроэлементов использование их сплава в форме наночастиц повышало прирост живой массы на 4,1 % ($p \leq 0,05$) при снижении расхода корма на 4,8 % (табл. 2).

Использование препарата наночастиц сопровождалось увеличением массовой доли аргинина в печени цыплят из II группы до $8,1 \pm 0,105$ % по сравнению с контрольным значением ($5,05 \pm 0,075$ %) (рис. 2).

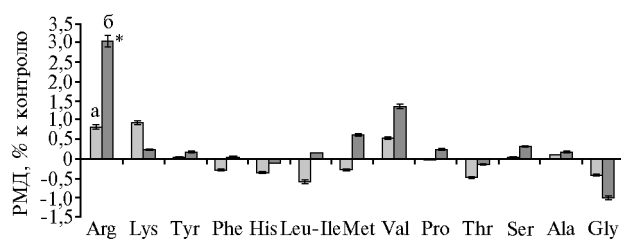


Рис. 2. Разница в величине массовых долей (РМД) аминокислот в печени 42-суточных цыплят-бройлеров кросса Смена 7 при включении в рацион солей Fe и Co (а, I группа, $n = 15$) или наночастиц сплава Fe и Co (б, II группа, $n = 15$) (эксперимент в условиях вивария).

* Различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$.

Это в целом согласуется с ранее полученными нами данными (31, 32) по оценке биологического действия частиц железа и меди на организм цыплят-бройлеров. Установлено, что поступление наночастиц и микрочастиц ($d = 10-40$ мкм) сопровождалось накоплением аргинина в печени. Известно, что обмен аргинина тесно связан с развитием воспалительного и окислительного стресса (33, 34). Кроме того, аргинин — один из факторов, регулирующих рост молодых животных (35-37). Ростостимулирующие эффекты L-аргинина связаны с изменением баланса потребляемой и расходуемой энергии в пользу сжигания жира или снижением роста белой жировой ткани. L-аргинин активирует митохондриальный биогенез и развитие бурой жировой ткани (38). У цыплят-бройлеров кросса Cobb 500 А.М. Fouad с соавт. (39) показали снижение массы брюшной жировой ткани и количества циркулирующих липидов под влиянием добавок диетического L-аргинина.

В нашем опыте на фоне применения наночастиц сплава Fe и Co не наблюдалось критических значений по накоплению конечных продуктов метаболизма белков, в частности мочевины. В то же время в I группе прослеживалась тенденция к увеличению этих показателей при достоверном различии с контролем на фоне приема солей Fe и Co (38,46 %, $p < 0,05$).

Результаты анализа азотсодержащих соединений указывали на интенсификацию белкового обмена при поступлении кобальта в разных формах. Возможно, присутствие кобальта в составе наночастиц стало до-

полнительным фактором активизации белкового обмена. Ранее об аналогичных результатах сообщали Л.Г. Каширина с соавт. (40).

Использование препаративной формы наночастиц (в отличие от солей) сопровождалось увеличением содержания белка в сыворотке крови на 12,0 % ($p \leq 0,05$) относительно контроля. При этом интенсивность роста цыплят из II группы оказалась достоверно выше. Содержание белка в сыворотке крови в I группе не отличалось от контрольного.

Важным фактором интенсификации стало повышение переваримости корма. В частности, во II группе переваримость протеина корма увеличилась на 3,1 % ($p \leq 0,01$), углеводов — на 2,3 % ($p \leq 0,05$). Соответствующие различия между контролем и I группой оказались статистически недостоверными.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют в пользу предлагаемого подхода по оптимизации минерального питания сельскохозяйственной птицы на основе использования сплавов микроэлементов-антагонистов в наноразмерной препаративной форме. Известно, что соли металлов в жидкой среде быстро диссоциируют, гидратируются и становятся физиологически недоступными. Кроме того, несвязанное железо — индуктор перекисного окисления липидов и перекисной деструкции белков. Металлы в наночастицах, если они высвобождаются постепенно, будут иметь лучшую усвояемость, а их токсическое воздействие окажется сведенным к минимуму. Возможно, этим обусловлен наблюдаемый положительный эффект увеличения живой массы и некоторый рост содержания гемоглобина у птицы, получавшей нанопрепарат. Выявленные экспериментальные факты, по нашему мнению, указывают на более высокую доступность и продуктивное действие препарата наночастиц сплава Fe и Co в сравнении с минеральными солями этих элементов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Goeger R.A. Toxic and essential metal interactions. *Annu. Rev. Nutr.*, 1997, 17: 37-50.
2. Нотова С.В., Мирошников С.А., Болодурина И.П., Дидикина Е.В. Необходимость учета региональных особенностей в моделировании процессов межэлементных взаимодействий в организме человека. *Вестник Оренбургского государственного университета*, 2006, S2: 59-63.
3. 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: 191-195 (doi: 10.1007/s12011-013-9668-x).
4. Суханова О.Н., Мирошников С.А., Кван О.В. Влияние группы факторов на обмен химических элементов в организме. *Вестник мясного скотоводства*, 2011, 3(64): 87-92.
5. Кудрин А.В., Скальный А.В., Жаворонков А.А., Скальная М.Г., Громова О.А. *Имунофармакология микроэлементов*. М., 2000.
6. 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 (doi: 10.1093/ps/84.9.1383).
7. Fang R.J., Yin Y.L., Wang K.N., He J.H., Chen Q.H., Fan M.Z., Wu G.Y. Comparison of the regression analysis technique and the substitution method for the determination of true phosphorus digestibility and faecal endogenous phosphorus losses associated with feed ingredients for growing pigs. *Livestock Sci.*, 2007, 109: 251-254 (doi: 10.1016/j.livsci.2007.01.108).
8. Reddy M.B., Hurrell R.F., Cook J.D. Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000, 71(4): 937-943.
9. Лазарев М.И., Енилеев Р.Х. Витаминно-минеральный комплекс. Патент РФ 2195269. Российская Федерация А61К31/00. Заявл. 14.02.2001. Оpubл. 27.12.2002. Бюл. № 26.
10. Lind T., Lönnerdal B., Stenlund H., Gamayanti I., Ismail D., Sesswandhana 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.

11. Ших Е.В., Раменская Г.В., Гребенщикова Л.Ю. Всасывание цинка при приеме в составе различных витаминно-минеральных комплексов. *Лечебное дело*, 2010, 4: 17-22.
12. Богословская О.А., Сизова Е.А., Полякова В.С., Мирошников С.А., Лейпунский И.О., Ольховская И.П., Глущенко Н.Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных. *Вестник Оренбургского государственного университета*, 2009, 2: 124-127.
13. Никонов И.Н., Фолманис Ю.Г., Фолманис Г.Э., Коваленко Л.В., Лаптев Г.Ю., Егоров И.А., Фисинин В.И., Тананаев И.Г. Наноразмерное железо — кормовая добавка для сельскохозяйственной птицы. *Доклады академии наук*, 2011, 440(4): 565-569.
14. Распопов Р.В., Трушина Э.Н., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. Биодоступность наночастиц оксида железа при использовании их в питании. Результаты экспериментов на крысах. *Вопросы питания*, 2011, 80(3): 25-30.
15. Куренева В.П., Егоров И.А., Федоров Ю.И., Глущенко Н.Н., Фаткуллина Л.Д. Способ кормления цыплят. Патент СССР 1346114. Союз Советских Социалистических Республик А23К. Заявл. 24.07.84. Опубл. 23.10.87. Бюл. № 39.
16. Оробченко А.Л. Токсикокинетика железа в организме кур-несушек при условии хронического поступления с кормом нанокompозита (Ag, Cu, Fe и двуокись Mn) и солей металлов. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*, 2014, 10: 26-38.
17. Оробченко А.Л., Романько М.Е., Куцан А.Т. Экспериментально-теоретическое обоснование применения нанокompозита металлов (Ag, Cu, Fe и двуокись Mn) для кур-несушек при условии хронического поступления с кормом (обобщение экспериментальных исследований). *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*, 2014, 12: 32-40.
18. Фисинин В.И., Егоров И.А., Мухина Н.В., Черкай З.Н. Нанотехнологии в промышленном птицеводстве. *Мат. XVII Межд. конф. ВНАП «Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве»*. Сергиев Посад, 2012: 268-271.
19. Smith R.M. Cobalt. In: *Trace elements in human and animal nutrition*. V. 1 /W. Mertz (ed.). Academic Press, Inc., San Diego, California, 1987: 143-183.
20. Underwood E.J. Cobalt. *Nutr. Rev.*, 1975, 33(3): 65-9.
21. Жигач А.Н., Лейпунский И.О., Кусков М.Л., Стоенко Н.И., Сторожев В.Б. Установка для получения и исследования физико-химических свойств наночастиц металлов. *Приборы и техника эксперимента*, 2000, 6: 122-127.
22. Фисинин В.И., Егоров И.А., Ленкова Т.Н., Околелова Т.М., Игнатов Г.В., Шевяков А.Н., Панин И.Г., Гречишников В.В., Ветров П.А., Афанасьев В.А., Пономаренко Ю.А. Методические указания по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы. ВНИТИП. М., 2009.
23. Aslam M.F., Frazer D.M., Faria N., Bruggraber S.F., Wilkins S.J., Mirsioev C., Powell J.J., Anderson G.J., Pereira D.I. Ferroportin mediates the intestinal absorption of iron from a nanoparticulate ferritin core mimetic in mice. *FASEB J.*, 2014, 28(8): 3671-3678 (doi: 10.1096/fj.14-251520).
24. Arosio P., Carmona F., Gozzelino R., Maccarinelli F., Poli M. The importance of eukaryotic ferritins in iron handling and cytoprotection. *Biochem. J.*, 2015, 472(1): 1-15 (doi: 10.1042/BJ20150787).
25. Liu X., Theil E.C. Ferritin as an iron concentrator and chelator target. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2005, 1054: 136-140.
26. Hurrell R.F. Safety and efficacy of iron supplements in malaria-endemic areas. *Ann. Nutr. Metab.*, 2011, 59: 64-66.
27. Lomer M.C., Cook W.B., Jan-Mohamed H.J., Hutchinson C., Liu D.Y., Hider R.C., Powell J.J. Iron requirements based upon iron absorption tests are poorly predicted by haematological indices in patients with inactive inflammatory bowel disease. *Br. J. Nutr.*, 2012, 107: 1806-1811 (doi: 10.1017/S0007114511004971).
28. Pereira D.I., Mergler B.I., Faria N., Bruggraber S.F., Aslam M.F., Potots L.K., Prassmayer L., Lonnerdal B., Brown A.P., Powell J.J. Caco-2 cell acquisition of dietary iron (III) invokes a nanoparticle at endocytic pathway. *PLoS ONE*, 2013, 8: 81250 (doi: 10.1371/journal.pone.0081250).
29. Nemmar A., Beegam S., Yuvaraju P., Yasin J., Tariq S., Attoub S., Ali B.H. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles acutely promote thrombosis and cardiac oxidative stress and DNA damage in mice. *Part. Fibre Toxicol.*, 2016, Apr 30, 13(1): 22 (doi: 10.1186/s12989-016-0132-x).
30. Latunde-Dada G.O., Pereira D.I., Tempest B., Ilyas H., Flynn A.C., Aslam M.F., Simpson R.J., Powell J.J. A nanoparticulate ferritin-core mimetic is well

- taken up by HuTu 80 duodenal cells and its absorption in mice is regulated by body iron. *J. Nutr.*, 2014, 144(12): 1896-1902 (doi: 10.3945/jn.114.201715).
31. Sizova E., Yausheva E., Kosyn D., Miroshnikov S. Growth enhancing effect of intramuscular injections with nano- and microparticles of elemental iron. *Modern Applied Science*, 2015, 9(10): 17-26 (doi: 10.5539/mas.v9n10p17).
 32. Miroshnikov S.A., Yausheva E.V., Sizova E.A., Miroshnikova E.P., Levahin V.I. Comparative assessment of effect of copper nano- and microparticles in chicken. *Oriental Journal of Chemistry*, 2015, 31(4): 2327-2336 (doi: 10.13005/ojc/310461).
 33. Huang C.C., Tsai S.C., Lin W.T. Potential ergogenic effects of L-arginine against oxidative and inflammatory stress induced by acute exercise in aging rats. *Exp. Gerontol.*, 2008, 43(6): 571-577 (doi: 10.1016/j.exger.2008.03.002).
 34. Mostafavi-Pour Z., Zal F., Monabati A., Vessal M. Protective effects of a combination of Quercetin and vitamin E against cyclosporine A-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Hepato. Res.*, 2008, 38(4): 385-392 (doi: 10.1111/j.1872-034X.2007.00273.x).
 35. Wu G., Ott T.L., Knabe D.A., Bazer F.W. Amino acid composition of the fetal pig. *J. Nutr.*, 1999, 129: 1031-1038.
 36. Wu G., Knabe D.A., Kim S.W. Arginine nutrition in neonatal pigs. *J. Nutr.*, 2004, 134: 2783S-2790S.
 37. Flynn N.E., Meininger C.J., Haynes T.E., Wu G. The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy. *Biomed. Pharmacother.*, 2002, 56: 427-438 (doi: 10.1016/S0753-3322(02)00273-1).
 38. McKnight J.R., Satterfield M.C., Jobgen W.S., Smith S.B., Spencer T.E., Meininger C.J., McNeal C.J., Wu G. Beneficial effects of L-arginine on reducing obesity: potential mechanisms and important implications for human health. *AminoAcids*, 2010, 39(2): 349-357 (doi: 10.1007/s00726-010-0598-z).
 39. Fouad A.M., El-Senousey H.K., Yang X.J., Yao J.H. Dietary L-arginine supplementation reduces abdominal fat content by modulating lipid metabolism in broiler chickens. *Animal*, 2013, 7(8): 1239-1245 (doi: 10.1017/S1751731113000347).
 40. Каширина Л.Г., Деникин С.А. Влияние кобальта в наноразмерной форме на физиологические и биохимические процессы в организме кроликов. *Вестник Красноярского ГАУ*, 2014, 4: 203-207.

¹ФГБНУ Всероссийский НИИ мясного скотоводства,
460000 Россия, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29,
e-mail: sizova-178@ya.ru, vniims.or@mail.ru

²ФГБОУ ВО Оренбургский государственный
университет,
460018 Россия, г. Оренбург, просп. Победы, 13

Получила в редакцию
25 мая 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2016, V. 51, № 4, pp. 553-562

TO THE DEVELOPMENT OF INNOVATIVE MINERAL ADDITIVES BASED ON ALLOY OF Fe AND Co ANTAGONISTS AS AN EXAMPLE

E.A. Sizova^{1, 2}, S.A. Miroshnikov¹, S.V. Lebedev², A.V. Kudasheva¹, N.I. Ryabov¹

¹All-Russian Research Institute of Beef Cattle Breeding, Federal Agency of Scientific Organizations, 29, ul. 9 Yanvarya, Orenburg, 460000 Russia, e-mail sizova-178@ya.ru, vniims.or@mail.ru;

²Orenburg State University, 13, prosp. Pobedy, Orenburg, 460018 Russia, e-mail elenka_rs@mail.ru, osipaylova@mail.ru

Acknowledgements:

Hematological studies were performed using standard techniques in the Laboratory of Agroecology of Nanomaterials and Test Center of All-Russian Research Institute of Beef Cattle Breeding (accreditation certificate RA.RU.21PF59 from 12/02/15). Analysis of chemical elements 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 by Russian Scientific Foundation (project № 14-36-00023)

Received May 25, 2016

doi: 10.15389/agrobiol.2016.4.553eng

Abstract

The problem of joint use of antagonist elements in the nutrition of farm animals is solved through a separate feeding with such trace elements and through an increase in the dosage of substances. The unique properties of nanomaterials allow us to suggest the promising alternative solutions by combining antagonists in a single drug, i.e. ultra-fine powders of metal alloys. In this paper, we for the first time compared the growth, haematological and biochemical parameters of broiler chickens (Russian cross Smena 7) after feeding them with individual salts of two microelements or their alloy in the form of nanoparticles. The pair of antagonists (iron and cobalt) was chosen due to

the same mechanism of their absorption in intestine. Salts $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and CoCl_2 (group I) or the derived nanoparticles ($d = 62.5 \pm 0.6$ nm) of the metal alloy (group II) were used as sources of iron and cobalt and mineral supplement. After calculation of the proportion of common microelement pool to the value of its entry with fodder expressed in percentage, the excess of iron up to 50.0 % was registered in the group when alloy nanoparticles applied (comparing to the pure iron), and the excess of cobalt was 34.7 %. Biological significance of the obtained values is the amount of the element deposited in the body expressed in grams per 100 grams of element entering with the incoming feed. In this case, growth rate increased and metabolism changes in chicken were registered. During the experiment, weight gain exceeded the control in group I by 6 % ($p \leq 0.05$), and in group II by 11 % ($p \leq 0.001$). Feed costs for growing chickens in the control group was 2.48 kg that is by 9.3 and 13.7 % more than in groups I and II, respectively. Using Co-Fe alloy increased weight gain by 4.1 % ($p \leq 0.05$) compared with group I while the food consumption reduced by 4.8 %. Creatinine content in groups I and II was 63.9 % ($p \leq 0.01$) and 38.3 % ($p \leq 0.05$) higher than in the control, respectively. At the same time, the blood urea concentration in group I, and blood glucose level in group II increased compared to control by 38.5 % ($p \leq 0.05$) and 36.5 % ($p \leq 0.05$), respectively. However, the revealed increase of iron pool in group II was not associated with a significant increase in iron concentration in blood serum in relation to that in group I (it was possibly due to the homeostatic regulation, as an excess of iron may lead to the generation of reactive oxygen species) with a significant reduction in its concentration (by 74.3-78.3 %, $p < 0.01$) in control at dietary iron deficiency. Using nanoparticle preparations was accompanied by an increase in fraction of arginine in liver of experimental chickens up to 8.10 ± 0.105 % as compared with the control value of 5.05 ± 0.075 % (note, the growth-promoting effects of L-arginine were described in literature).

Keywords: nanoparticles of iron and cobalt, broiler chicks, growth intensity, chemical elements.

Научные собрания
XII МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«БАЛТИЙСКИЙ ФОРУМ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ И ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ 2016»

(28-30 сентября 2016 года, г. Санкт-Петербург)

Проводится при поддержке Министерства экономического развития, Министерства сельского хозяйства, Торговой промышленной палаты, Правительства Санкт-Петербурга, Управления ветеринарии Ленинградской области, Международного Эпизоотического Бюро, Евразийского экономического союза, Роспотребнадзора РФ

Организаторы:

- Правительство Санкт-Петербурга
- Управление ветеринарии Санкт-Петербурга
- Фонд развития ветеринарии
- Управление ветеринарии Ленинградской области
- Евразийская ассоциация птицеводов
- Российская ветеринарная ассоциация
- Ассоциация практикующих ветеринарных врачей
- ГБУ «Санкт-Петербургская Горветстанция»
- Межотраслевое объединение наноиндустрии
- «Межрегиональное объединение ветеринарных лабораторий»
- Группа компаний «Ветпром»

Тематические секции и программы:

- Международная конференция по ветеринарии мелких домашних животных
- Секция «Актуальные вопросы и ответы в ветеринарной практике»
- Секция «Птицеводство: анализ качества кормов, ветеринарных препаратов, мяса птицы и яиц»
- Образовательная программа «Селекция и генетика в животноводстве»
- Секция «Болезни рыб»
- Секция «GLP и аккредитация лабораторий в России»
- Секция: «Антибиотикорезистентность — глобальная проблема человечества»
- Секция «Актуальные аспекты ведения овцеводства и козоводства в современных условиях»
- Секция «Свиноводство: современный подход к содержанию и кормлению высокопродуктивных свиней, вопросы воспроизводства и эпизоотического благополучия»
- Программа повышения квалификации «Экспресс-методы контроля качества пищевой продукции»

Контакты и информация: <http://www.baltvetforum.ru>, fondvet@yandex.ru