

Посредством однофакторного дисперсионного анализа было установлено влияние экологических факторов на аккумуляцию Pb в волосе крупного рогатого скота ($r_w = 0,17$).

Корреляционный анализ показал среднюю положительную связь между уровнями Pb и Cd в волосе коров Алтайского края ($r = 0,57, P < 0,01$).

Принимая во внимание уровни Pb и Cd в волосе крупного рогатого скота, установленные Э. Андервудом (1994), можно сделать вывод, что в изученных популяциях концентрации Pb и Cd находились в пределах средневидового диапазона.

УДК 619:616.36-002:636.4-053.2

КОНТРОЛЬ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ЖИВОТНЫХ ЖИРОРАСТВОРИМЫМИ ВИТАМИНАМИ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Сенько А.В.

УО "Гродненский государственный аграрный университет"

В условиях интенсивного ведения животноводства особая роль отводится витаминам – биологически активным веществам, играющим важную роль в жизнедеятельности организма. Известно, что основным источником витаминов для сельскохозяйственных животных и птицы являются корма. Однако при заготовке и хранении кормов значительная часть природных витаминов разрушается или в силу ряда причин плохо усваиваются. В связи с этим возникла необходимость контроля за витаминной обеспеченностью животных.

Использование биохимических методов исследования в качестве контроля за витаминной обеспеченностью животных дает возможность своевременно устранить заболевания, связанные с недостатком в кормах этих важных элементов питания.

В настоящем сообщении автором рассматриваются два жирорастворимых витамина: ретинол – витамин А и токоферол – витамин Е. Выбор именно этих витаминов связан с их большой биологической активностью в организме животных. Так, ретинол обеспечивает нормальное функционирование слизистых оболочек. Его недостаток может приводить к поражению органов дыхания, пищеварения и репродуктивной системы, а также и замедлению роста животных и снижению их продуктивности. Витамин Е является природным антиоксидантом. Данная функция обеспечивает защиту биомембран во многих органах и тканях. Его недостаток сопровождается снижением аппетита, поражением скелетных мышц и печени у молодняка, а

у взрослых животных нарушением репродуктивных функций.

Ранее наиболее известными методами определения ретинола в биологических объектах служили методы прямой спектрофотометрии и фотометрии окрашенных соединений при взаимодействии витамина А с некоторыми химическими веществами и в первую очередь с треххлористой сурьмой (реакция Карр-Прайса).

Недостатком первого метода служит малая специфичность в сложных смесях, содержащих вещества, обладающие поглощением в той же области спектра, что и ретинол. С целью устранения этого недостатка некоторые исследователи предлагают облучать полученный экстракт сложной смеси ультрафиолетовым излучением и по разности экстинкции до и после облучения определять содержание ретинола.

Недостатком второго метода является то, что окрашенное соединение, появляющееся при взаимодействии хлорида сурьмы с витамином А, очень быстро меняет окраску. В целом использование этих методов не позволяет достичь значительной чувствительности и поэтому требует большого количества сыворотки для анализа и сложных методов очистки экстрактов.

Определение витамина Е не нашло широкого применения в ветеринарной практике ввиду сложности предлагаемых методов. Наиболее известным из них является метод, основанный на способности токоферолов восстанавливать окисное железо в закисное, которое дает цветную реакцию с дипиридиллом или орто-фенантролином (реакция Эмери-Энгеля). Иногда для выявления Е-витаминной недостаточности используют гемолитические тесты, основанные на феномене гемолиза эритроцитов под действием алоксана и некоторых его производных у Е-дефицитных животных (реакция Роуз-Герги).

Нами за основу разделения сложной, многокомпонентной смеси, какой и является сыворотка крови, был взят метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Использование ВЭЖХ позволяет в "мягких" условиях качественно, эффективно и с высокой достоверностью разделять вещества сложной смеси, что существенно превосходит возможности ранее используемых для этих целей методов. Одновременно с этим скорость анализа методом ВЭЖХ достаточно высокая и занимает 10-20 минут. ВЭЖХ является таким же точным количественным методом, как и другие аналитические методы. А использованный нами в качестве детектора флюориметр позволил получить высокую чувствительность и специфичность метода анализа. В целом это дало возможность достичь высокой воспроизводимости результатов при минимальном количестве используемой для анализа сыворотки (0,1 мл).

Материалом для исследования служила кровь свиней различных возрастов и технологических групп, а также дойного стада крупного рогатого скота. Кровь у свиней получали из орбитального венозного синуса, а у крупного рогатого скота - из яремной вены. Сыворотку исследовали в день взятия крови.

Подготовка проб заключалась в экстракции жирорастворимых витаминов сыворотки гексаном, после их омыления в растворе гидроксида калия с последующим центрифугированием. Хроматографический анализ супернатантов выполняли на полумикроколоночном жидкостном хроматографе "ВЭЖХ-3" (НПФ "Люмекс", г. Санкт-Петербург), колонка диаметром 2 x 100 мм, с сорбентом SIL-5 μm в режиме изократического элюирования с флуориметрической детекцией. Сбор и обработку хроматографических данных проводили на ПЭВМ с использованием ПО "МультиХром - 1.5". Элюентом служил гексан и изопропиловый спирт в соотношении 200:1. Наличие нескольких светофильтров дало возможность проводить одновременное определение двух витаминов, флуориметрическая детекция повысила надежность идентификации витаминов в пробе, а использование полумикроколоночного варианта ВЭЖХ позволило снизить расход растворителей и сделать анализ более экономически выгодным.

Разделение сложной смеси с выходом чистых витаминов происходило в течение 15 минут анализа. Начало выхода витамина Е отмечали на третьей минуте анализа (рис. 1), а витамина А – на четырнадцатой (рис. 2).

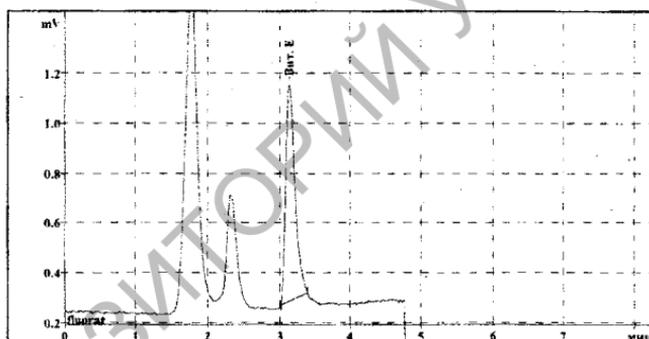


Рис. 1. Участок хроматограммы при анализе сыворотки крови крупного рогатого скота.

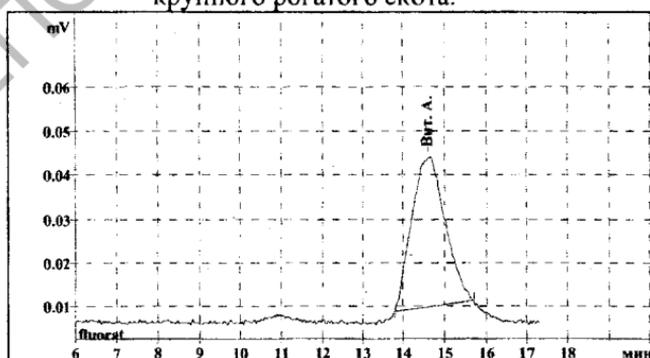


Рис. 2. Участок хроматограммы при анализе сыворотки крови свиньи.

Данная методика апробирована нами в течение одного года в научно-исследовательской лаборатории УО "Гродненский государственный аграрный университет". За время проведения исследований установлено, что при промышленном выращивании свиней отмечается недостаток в сыворотке крови витамина Е. Наиболее значительное снижение этого показателя отмечали у подсосных свиноматок и поросят-сосунов. У дойных коров изменений, выходящих за пределы физиологической нормы, не выявлено.

Таким образом, высокоэффективная жидкостная хроматография является перспективным методом количественного анализа сложных смесей. Его использование позволяет достичь высокой специфичности при исследовании токоферола и ретинола сыворотки крови. Полученные нами данные об обеспеченности животных витаминами указывают на необходимость постоянного контроля витаминов в сыворотке крови для своевременного выявления гиповитаминозов животных и профилактики их последствий.

УДК 636.52.58:577.15:616.98:578.831.1

АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ В ПЕЧЕНИ, ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ РЕМОНТНОГО МОЛОДНЯКА КУР, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ

Соболев Д.Т., Холод В.М., Громов И.Н.

УО «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины»

Фосфатазы - ферменты, катализирующие отщепление остатков фосфорной кислоты от ее моноэфирных органических соединений. Таким образом, они принимают участие в фосфорно-кальциевом обмене. Ряд фосфатаз, которые проявляют наивысшую активность при рН=8,6, определяются термином «щелочная фосфатаза». Данный фермент в большом количестве обнаруживается в печени, костной ткани и считается биохимическим маркером, отражающим функциональное состояние этих органов [2]. В несколько меньших количествах щелочная фосфатаза локализуется в эпителиоцитах поджелудочной железы, почек, кишечника, а также в В-лимфоцитах, заселяющих бурсу Фабрициуса и В-зависимые зоны в периферических органах иммунной системы у птиц [1].

Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови, имеющей преимущественно печеночное и костнотканевое происхождение