

*На правах рукописи*

**БУТЕНКО Мария Николаевна**

**ЭКЗОКРИННАЯ ФУНКЦИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ  
ЖЕЛЕЗЫ КУР ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В ИХ  
РАЦИОНЕ КОМПЛЕКСНОЙ БЕЛКОВОЙ ДОБАВКИ (КБД)**

03.03.01 – Физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Новосибирск - 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Забайкальский государственный университет"

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор  
**Вертипрахов Владимир Георгиевич**

Официальные оппоненты:

**Мотовилов Константин Яковлевич**, доктор биологических наук, профессор, научный руководитель организации Сибирский научно-исследовательский и технологический институт переработки сельскохозяйственной продукции,  
**Выставной Александр Леонидович**, кандидат биологических наук, доцент, ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет», доцент кафедры анатомии, гистологии, физиологии и патологической анатомии

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный аграрный университет»

Защита состоится «28» мая 2015 г. в 10 час.

на заседании диссертационного совета Д 220.048.04 на базе ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет» по адресу: 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, Новосибирский ГАУ, зал заседаний ученого совета. Тел./факс: 8-(383)-264-28-00; E-mail: ngaufiziologi@mail.ru.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет» и на официальном сайте: [www.ngau.edu.ru](http://www.ngau.edu.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_ г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Князев Сергей Павлович

## **Общая характеристика работы**

**Актуальность работы.** Современная практика животноводства с каждым годом всё более часто сталкивается с вопросами и проблемами увеличения рентабельности производства и качества животноводческой продукции за счёт повышения легкоусвояемого белка в рационе, так как этот показатель является главным при оценке биологической полноценности кормов (Егоров И.А., 1992, Денин Н., 2003, Мустафин А.С., 2008). Поэтому совершенствование кормовой базы основывается на создании балансирующих кормовых добавок (Дмитrochenко А.В., Крылов В.М., Зинченко Л.И., Боярский Л.С., Лопатин Н.Г.). Такие кормовые добавки должны содержать в своём составе питательные вещества и энергию в соответствии с физиологическими потребностями организма животного, а так же с учётом зональных и природно-климатических условий региона. С целью стимулирования и регулирования процессов пищеварения в рационы дополнительно вводят ферментные препараты и синтетические аминокислоты. Поскольку любая новая добавка включает в свой состав комплекс известных веществ, то необходимо изучение их влияния на функционирование пищеварительной системы.

Известно, что внешнесекреторная функция поджелудочной железы четко адаптируется к качеству корма (Павлов И.П., 1951; Батоев Ц.Ж., 2001). И трудно представить, чтобы компоненты, входящие в состав балансирующих белковых добавок не оказывали влияние на один из центральных органов пищеварения. Данные по влиянию на экзокринную функцию поджелудочной железы кур, добавок ферментного препарата, аминокислот, гороха и рапса были получены ранее

Бердниковым П.П. (1990); Батоевым Ц.Ж. (2001), Вертипраховым В.Г. (2004), Фоменко Е.Г. (2008), Цукановой Е.С. (2009), Тесаривской Т.Б (2011). Однако, каждый из этих компонентов изучали по отдельности, а некоторые данные малочисленны. Результаты их влияния на экзокринную функцию поджелудочной железы в виде комплексной белковой добавки отсутствуют и требуют дальнейшего исследования. Поэтому мы решили выполнить ряд экспериментов для изучения данного вопроса.

Настоящая работа выполнена самостоятельно в рамках Федерально-целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России в 2009-2013г.г.» (контракт №П1254 от 27.08.2009).

### **Цель и задачи исследования**

Цель работы: изучение экзокринной функции поджелудочной железы кур при введении в их рацион комплексной белковой добавки (КБД).

**Для решения этой цели были поставлены следующие задачи:**

1. Разработать метод ферментно-субстратного анализа и определить содержание пищевых белков, жиров и углеводов в корме.

2. Исследовать секреторную функцию поджелудочной железы кур при введении в рацион ферментного препарата протосубтилина на фоне белковых культур гороха и рапса.

3. Изучить влияние лимитирующих аминокислот (лизина и метионина) при добавке к зерновому рациону на фоне гороха и рапса на секреторную функцию поджелудочной железы кур.

4. Установить оптимальные дозы влияния комплексной белковой добавки (КБД) на экзокринную функцию поджелудочной железы кур.

5. Определить переваримость протеина корма при использовании КБД в рационе кур.

**Научная новизна.** Впервые в хроническом эксперименте изучена внешнесекреторная деятельность поджелудочной железы кур при введении ферментного препарата протосубтилина к комбикорму на фоне белковых культур гороха и рапса в комплексе. Показано, что в этом случае протосубтилин стимулирует экзокринную функцию поджелудочной железы.

Установлено, что секреторная деятельность поджелудочной железы кур реагирует на добавку лимитирующих аминокислот (лизина и метионина) на фоне гороха и рапса в комплексе: увеличивается секреция панкреатического сока за опыт на 19%, активность амилазы на 26% и протеаз на 27%.

Новыми являются сведения о влиянии на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур новой комплексной белковой добавки (КБД), созданной на основе гороха и рапса. КБД была создана на основе решения предшествующих задач. Состав балансирующей добавки были введены ферментный препарат протосубтилин, аминокислоты (лизин и метионин) и витамины и минералы. Комплексная белковая добавка при её введении в рацион взамен соевого жмыха в количестве 5%, 10% и 15% от массы корма стимулирует сокоотделение поджелудочной железой с 8% до 57%, повышает активность амилазы с 33% до 65%, протеаз – с 17% до 46% и липазы - с 33% до 67% по сравнению с контролем. Следовательно, КБД эффективна для кормления кур.

Разработан «Способ определения количественного содержания пищевых белков», который признан изобретением (патент на изобретение № 2473699 приоритет от 6.04.2011).

**Практическая значимость работы**

Установлено стимулирующее влияние ферментного препарата протосубтилина на внешнесекреторную функцию поджелудочной куры при введении в их рацион культур гороха и рапса. Показана эффективность добавки лимитирующих аминокислот (лизина и метионина). При этом увеличивается протеолитическая активность панкреатического сока. Эти данные позволяют определить эффективность использования в рационе кур добавок ферментных препаратов и аминокислот с целью повышения качества растительного белка и качества продукции.

Определён механизм стимулирующего влияния КБД на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур и установлена оптимальная доза введения КБД в рацион кур-несушек. Что позволяет сделать вывод об эффективности КБД.

Работа представляет теоретический и научно-практический интерес для студентов и аспирантов - биологов, физиологов и технологов птицеводства. Материалы исследований могут быть использованы как теоретическая основа обоснования характера питания птиц при балансировании кормовых рационов животных по протеину и аминокислотному составу. Данные могут быть основой для последующих научно-исследовательских работ и использованы в учебном процессе. Так же полученные данные можно применить на практике при исследовании состава кормов и в кормлении кур.

### **Апробация работы**

Материалы диссертации доложены на международной молодёжной научно-практической конференции «Молодёжь Забайкалья: молодость, наука, прогресс!», Часть III.- БГУЭП, Иркутск – 2011. В сборнике трудов Международной научно-

практической конференции, посвящённой 55-летию ЗаБИЖТ «Проблемы трансферта современных технологий в экономику Забайкалья и железнодорожный транспорт».-Чита – 2011, ежегодных научных конференциях в ЗаБГГПУ им. Н.Г. Чернышевского, Чита - 2011, 2012.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Способ определения содержания пищевых белков может быть использован для определения качества кормов.

2. Ферментный препарат протосубтилин, а также баланс незаменимых аминокислот (лизина и метионина) на фоне белковых культур гороха и рапса стимулируют секреторную функцию поджелудочной железы кур.

3. Оптимальное влияние на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур оказывает добавка КБД в дозе 10% от комбикорма.

4. Переваримость протеина корма при добавке КБД выше, чем при использовании соевого жмыха.

### **Публикация результатов исследований**

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, отражающих её основное содержание, в том числе 4 в журналах из перечня ВАК и 1 статья в международном журнале, а так же получен патент на изобретение № 2473699 от 06.04.2011.

### **Структура и объем работы**

Диссертация изложена на 137 страницах компьютерного текста на русском языке. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, рекомендации для практического применения, списка литературы и приложения.

Работа иллюстрирована 13 таблицами, 31 рисунками. Список литературы включает 184 источников, в том числе 13 источников иностранных авторов.

## **1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Исследования по изучению внешнесекреторной функции поджелудочной железы, азотистого баланса в организме кур и способа определения количественного содержания пищевых белков, жиров и углеводов выполнялись в период с 2010 по 2012 гг. в лаборатории физиологии питания животных ФГБОУ ВПО "Забайкальский государственный гуманитарно-педагогический университет им. Н.Г. Чернышевского" (ныне ФГБОУ ВПО "Забайкальский государственный университет"), г. Чита.

Физиологические опыты выполняли на курах-несушках породы Ломан Браун в возрасте 1 года с хронической фистулой, оперированных по методу Ц.Ж. Батоева и С.Ц. Батоевой (1970). Для изучения влияния белковых добавок использовали метод периодов с обратным замещением в соответствии с методическими рекомендациями Ткачёва Е.З., Мошкучало И.И «Комплексное физиологическое и зоотехническое изучение процессов питания у свиней». Было проведено по три серии опытов для каждой из добавок на десяти фистулированных курах. В состав основного корма входили: пшеница, ячмень, отруби, премикс и ракушка – 1%. В первые 10 дней курам давали контрольный комбикорм, в который входила добавка соевого жмыха. В следующие 10 дней - опытный комбикорм, в котором соевый жмых заменяли на различные добавки в соответствии с задачами исследований.



Для выявления динамики секреторной функции поджелудочной железы кур собирали панкреатический сок в течение 3 часов с 30 минутными интервалами. В каждой порции фиксировали объём сока, определяли активность амилазы, протеаз и липазы. Опыты начинали утром в состоянии натошак, после 12-часовой голодной диеты. Курам давали корм только после первых 30 минут эксперимента в количестве 30% от дневной нормы в сухой, рассыпной физической форме. Панкреатический сок продолжали собирать с интервалом в 30 минут в течении ещё 2,5 часов и изучать секреторную функцию поджелудочной железы кур.

Для определения переваримости протеина корма проводили балансый опыт, согласно рекомендациям по кормлению птицы (Агеева В.Н., Егорова, И.А.). Птицу содержали в клетках, специально оборудованных для тщательного учёта потреблённого корма и выделенного помёта. Контрольный комбикорм содержал соевый жмых, а опытный - комплексную белковую добавку. Корм и вода всегда подавались в постоянном количестве. Опыт включал два периода. Первый период (предварительный) длился 5-7 дней. Второй период (опытный) длился от 3 до 5 дней - проводили тщательный учёт потреблённого корма, воды, выделенного помёта, снесённых яиц и живую массу птицы. Количество азота в подготовленных пробах помёта определяли по методу Кьельдаля.

Биохимические методы исследования. Для исследования активности ферментов панкреатического сока, пользовались следующими методами. Активность фермента амилазы устанавливали по методике Смит - Роя - Уголева (1965). Протеолитическую активность сока поджелудочной железы устанавливали по уменьшению концентрации казеина при

фотометрическом контроле (Ц.Ж. Батоев, 1971). Активность липазы панкреатического сока определяли по гидролизу подсолнечного масла (Ц.Ж. Батоев, Г.Ц. Цыбекмитова, 1985).

Количество белков, жиров и углеводов определяли «Способом количественного определения пищевых белков» (патент № 2473699 от 06.04.2011).

Математические методы. За время проведения исследований было поставлено 540 физиологических экспериментов. Каждый эксперимент проводился в трёх повторностях на трёх фистулированных курах. Одна повторность составляет 20 дней (10 дней - контрольный период и 10 - опытный). Для анализов собирали 6 порций панкреатического сока кур, согласно методике проведения физиологического эксперимента. Всего было проведено 1620 биохимических анализов, из которых на определение протеолитической, амилолитической и липолитической активности ферментов сока поджелудочной железы кур приходится по 540 анализов.

Опыты по определению азотистого баланса у кур проводили на 3 курах, 3 серии по 6 дней. Всего было поставлено 54 опыта.

Математическую обработку экспериментальных материалов по результатам проведённых хронических физиологических опытов на курах осуществляли методом Кузнецова В.К. (1975). Достоверность различий определяли по  $t$  – критерию Стьюдента.

Диссертационная работа выполнена в период с 2010 по 2013гг. согласно с общей схемой проведения исследований (рис. 1).

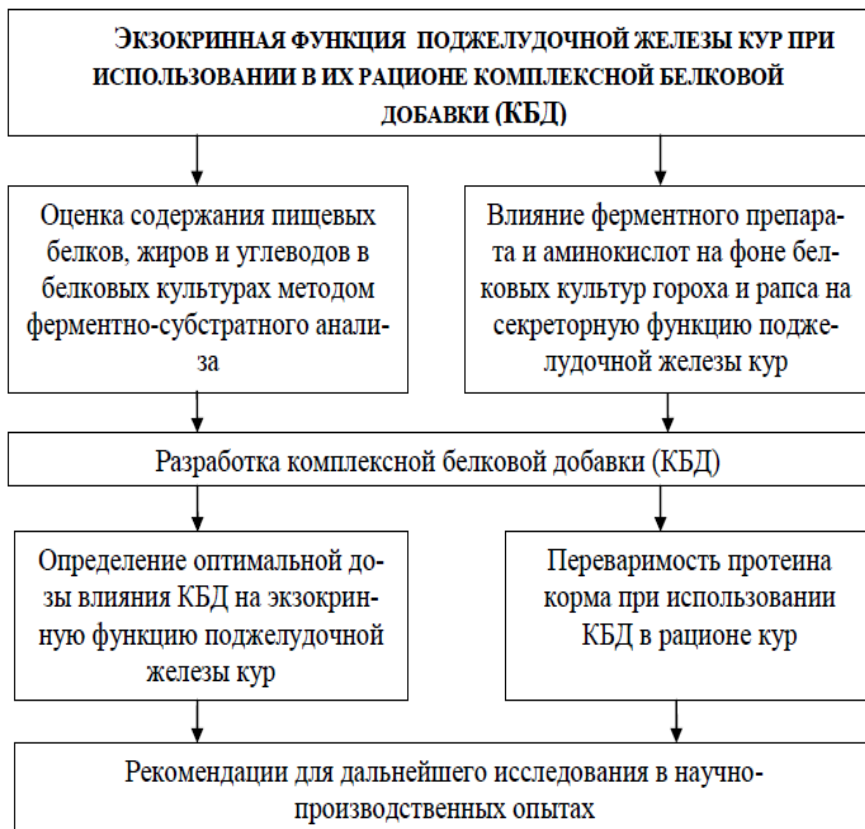


Рисунок 1 – Схема исследований  
**2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **2.1. Определение содержания пищевых белков, жиров и углеводов в кормовых добавках методом ферментно-субстратного анализа**

Высокая продуктивность сельскохозяйственных птиц достигается только полноценным кормлением, использованием в рационах балансирующих кормовых добавок, содержащих достаточное количество усвояемого белка, все аминокислоты

кислоты в соотношениях и количествах, обеспечивающих оптимальный синтез белка в организме. Для оптимизации рационов животных, необходимо использовать современные методы определения содержания в кормах растительного и животного происхождения белков, жиров и углеводов.

Разработанный нами «Способ определения количественного содержания пищевых белков», который признан изобретением (патент на изобретение № 2473699 приоритет от 6.04.2011) основан на использовании химических реакций с участием ферментов и проявлении их субстратной специфичности и образовании ферментно-субстратного комплекса. Для его разработки из существующих методов определения белка за прототип брали «Способ определения переваримости белков», разработанный Савич И.М. и Жолдаспаевой Г.М. (патент на изобретение № RU 2022021 С1 от 30.10.1994), а аналогами были «Метод определения переваримости белков», разработанный Похиленко Л.И., Левицким А.П., (патент на изобретение № SU 1247750 А1 от 30.07.1986), «Метод определения расщепляемости сырого протеина», разработанный Игловиковым В.Г., Усаткиным Н.С., Григорьевым Н.Г. и др. (патент на изобретение № 28075-89 от 29.03.1989).

Суть нового метода заключается в последовательном проведении следующих этапов: смешивание опытных образцов субстрата и ферментативного вещества, разбавленного стабилизирующим раствором, инкубирование образованной смеси при температуре 37°C, центрифугирование ферментативно-субстратного комплекса и определение количественного содержания пищевых белков, жиров и углеводов расчетным путем.

Результаты таблицы 1 свидетельствуют о том, что показатели, полученные способом ферментно-субстратного анализа,

соответствуют известным данным научной литературы. Однако имеются некоторые отличия. Так, например, свиное мясо в своём составе содержит белка – 12,3%, жира – 14,2% и не содержит углеводов. По результатам научной литературы в свином мясе содержится 11-16% белка, 7-10% жира и около 0,5-1,5% углеводов. По результатам анализа куриного мяса, отклонения от литературных данных наблюдаются в количестве жира и углеводов. Количество белка по нашим данным в мясе кур равняется 17 %, жиров – 6%, углеводов нет. Аналогичные данные приводятся у Скурихина И.М., Нечаева А.П. (1991), Баканова В.Н., Менькина В.К (1989), Арзуманяна Е.А., Бегучева А.П., Георгиевского В.И. (1991) и др. Несовпадения с известными данными могут быть связаны с разными породами кур, а также с допущенными погрешностями при проведении анализов.

Таблица 1 - Определение содержания пищевых белков, жиров, углеводов в продуктах животного происхождения

Субстрат	Панкреатический фермент	Показатели			
		Активность ферментов панкреатического сока без субстрата, мг/мл/мин (контроль)	Активность ферментов панкреатического сока с субстратом без термообработки, мг/мл/мин	Разница между протеолитической активностью до и после добавления субстрата (количество белков, жиров, углеводов) %	Количество белков, жиров, углеводов согласно литературным данным, %
Мясокостная мука	протеаза	240±21,60	135±26,7	43,8±11,11	30-50
	амилаза	2040±9,71	2024±8,50	0,78±0,42	0-2
	липаза	8,88±0,49	8,17±0,08	8±0,87	4-15
Мясо кур	протеаза	195±9,87	162±12,7	16,9±4,08	17-21
	амилаза	2170±11,75	1980±9,11	-	0,6-0,8
	липаза	17±1,02	16,9±1,29	6±2,56	8-12
Свиное мясо	протеаза	220±16,65	193±10,3	12,3±2,61	11-16
	амилаза	2160±11,70	1980±10,7	-	0,5-1,5
	липаза	19,7±2,20	16,9±0,2	14,2±3,61	7-10

В таблицах 2 и 3 приведены результаты исследований растительных субстратов и продуктов их переработки, которые свидетельствуют о том, что в семенах гороха содержится 31,5% белка, 54% углеводов и 2,7% жира. Это подтверждают литературные данные, где показатель белка колеблется от 20 до 30% и от 25 до 35% (Федотов В.С. (1960), Суворов В.В., Громова В.А. (1962), Михайленко М.А. (1971), Климова Э.В., Вавилова П.П. (1986), Чурзиным В.Н., Филиным В.И. и др. (1996), Посыпанов Г.С., Долгодворов В.Е., Жеруков Б.Х. (2006) и др.).

Практически у всех растительных культур по количеству белков, жиров и углеводов имеются небольшие различия с литературными данными. Это связано, по-видимому, с наличием ингибиторов и антипитательных веществ, которые присутствуют в семенах этих культур, а также с тем, что наш способ позволяет определить то количество вещества, которое способно расщепляться ферментами пищеварительного тракта.

Таблица 2 - Определение содержания пищевых белков, жиров, углеводов в продуктах растительного происхождения (горох, пшеница, рапс)

Субстрат	Панкреатический фермент	Показатели			Количество белков, жиров, углеводов согласно литературным данным, %
		Активность ферментов панкреатического сока без субстрата, мг/мл/мин (контроль)	Активность ферментов панкреатического сока с субстратом без термообработки, мг/мл/мин	Разница между протеолитической активностью до и после добавления субстрата (количество белков, жиров, углеводов) %	

Горох	протеаза	223±5,62	152±4,52	31,5±2,81	16-39
	амилаза	2280±150,2	1320±20,8	54±11,30	22-53
	липаза	18±0,60	17,5±0,20	2,7±1,20	1-2
Пшеница	протеаза	280±6,73	240±5,14	14,3±4,75	11-14
	амилаза	2880±220,74	960±41,53	66,7±2,36	53-55
	липаза	12,25±0,77	12±0,68	2±0,11	2-3
Рапс	протеаза	360±54,43	290±12,12	19,4±4,56	20-30
	амилаза	2520±112,84	2280±9,48	14,3±3,12	5-8
	липаза	8,75±2,50	5±0,70	43±2,60	35-50
Соя	протеаза	206±1,12	127±1,12	38,3±8,91	30-48
	амилаза	2100±98,76	1630±64,53	22±0,83	12-15
	липаза	15±2,44	12,3±1,2	18±0,75	15-27

Исходя из полученных данных, мы решили составить рецепт белковой добавки так, чтобы количество и соотношение пищевых компонентов соответствовало нормам кормления и удовлетворяло физиологическим потребностям организма животных. Основными компонентами комплексной белковой добавки (КБД) являются такие белковые культуры как горох и рапс. В результате наших исследований получились следующие результаты: содержание белка в КБД – 18,8%, углеводов – 31,6%, жиров – 16,3% (табл. 3). Таким образом, результаты, полученные в ходе экспериментов при разработке «Способа определения содержания пищевых белков» (патент на изобретение № 2473699 от 6.04.2011), дают основание сделать вывод о том, что данный способ даёт достоверные результаты количества переваримых белков, жиров и углеводов, требует меньших затрат времени и средств. Способ может быть использован в пищевой промышленности, в животноводстве при организации рационального кормления и составления балансирующих кормовых добавок

Таблица 3 - Содержание пищевых белков, жиров и углеводов в комплексной белковой добавке (КБД) и продуктах переработки сои и рапса

Субстрат	Панкреатический фермент	Показатели			Количество белков, жиров, углеводов согласно литературным данным, %
		Активность ферментов панкреатического сока без субстрата, мг/мл/мин (контроль)	Активность ферментов панкреатического сока с субстратом без термообработки, мг/мл/мин	Разница между протеолитической активностью до и после добавления субстрата (количество белков, жиров, углеводов) %	
Соевый жмых	протеаза	206±1,12	105±1,08	49±7,11	40-55
	амилаза	2100±98,76	1510±21,22	28±3,14	5-12
	липаза	15±2,44	13,9±0,91	7±2,91	7-9
Соевый шрот	протеаза	206±1,12	116±1,04	44±1,37	42-52
	амилаза	2100±98,76	1570±20,14	25±4,36	5-12
	липаза	15±2,44	14,3±1,04	5±0,4	0,5-5
Рапсовый жмых	протеаза	250±5,73	180±3,85	28±4,08	33-40
	амилаза	1560±45,63	1440±39,50	7,7±3,07	7-8
	липаза	31,88±4,23	27,5±4,26	13,7±2,12	7-21
КБД	протеаза	265±8,20	215±10,91	18,8±4,30	-
	амилаза	2340±140,50	1600±74,0	31,6±4,78	-
	липаза	16±1,11	13,4±2,4	16,3±4,80	-

## 2.2. Физиологическое обоснование использования ферментного препарата в составе белковой добавки на основе гороха и рапса



Основу новой комплексной белковой добавки (КБД) составили горох и рапс, так как эти белковые культуры наиболее выгодно выращивать и использовать для кормления сельскохозяйственных животных в условиях Забайкалья. Однако известно, что семена зернобобовых культур (горох) содержит ингибиторы протеаз, которые значительно снижают его биологическую ценность (Климова Э.В., 2004; Мустафин А.С., 2008). В настоящее время созданы ферментные препараты, дополнительно вводимые в корм, направленные на повышение переваримости растительного протеина. Поджелудочная железа птиц реагирует на введение экзогенных ферментов. Имеются данные о влиянии ферментных препаратов на секреторную функцию поджелудочной железы (Бердников П.П., 1990; Вертипрахов В.Г., 2004). Результаты Тесаривской Т.Б. (2011), которые свидетельствуют о том, что добавка к комбикорму, содержащему горох, ферментного препарата повышает активность амилазы на 19%, а протеаз - на 20%. Исходя из этого, есть основания полагать, что ферментный препарат может быть использован для нейтрализации ингибиторов протеаз и улучшению переваримости компонентов корма.

Мы провели изучение влияния на секреторную функцию поджелудочной железы кур ферментного препарата микробного происхождения протосубтилина на фоне белковых добавок гороха и рапса.

Исходя из результатов, полученных ранее (Бердников П.П., 1990; Вертипрахов В.Г., 2004, Тесаривская Т.Б. (2011)), в рацион вводили протосубтилин в количестве 0,1% от массы комбикорма. Результаты показывают, что протосубтилин оказывает влияние на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур (табл. 4).

Таблица 4 - Влияние протосубтилина на секреторную функцию поджелудочной железы кур

Показатели	Контроль	Опыт	В % к контролю
Количество панкреатического сока за опыт, мл	7,87±0,16	8,81±0,08***	111,9
Активность ферментов в 1мл сока, мг/мл/мин			
Амилаза	5589±197,1	6650±202,9***	118,98
Протеазы	489±12,0	567±11,8***	115,95
Липаза	18±0,48	21±0,95**	116,7
Активность ферментов в объёме сока за опыт, мг/мл/мин			
Амилаза	37557±2432,1	60610±2220,7***	161,4
Протеазы	3891±157,1	5194±107,1***	133,5
Липаза	150±6,45	184±7,77***	122,7

Примечание: достоверность по сравнению с контролем \*P<0,05, \*\*P<0,02, \*\*\*P<0,01, \*\*\*\*P<0,001

Данные таблицы 4 свидетельствуют о том, что количество панкреатического сока за опыт увеличивается на 11,9% при введении в корм ферментного препарата. Активность амилазы в 1мл панкреатического сока повышается на 19,0%, активность протеаз – на 16,0%, активность липазы – на 16,7% по сравнению с контрольным периодом. Активность ферментов в объёме сока за опыт так же возрастает: амилаолитическая активность – на 61,4%, протеолитическая – на 33,5%, липолизическая – на 22,7%. Это подтверждает исследование динамики выделения протеолитических ферментов: увеличивается активность ферментов в состоянии натошак, что свидетельствует о долговременной адаптации поджелудочной железы к ферментному препарату. Увеличение ферментативной

активности установлено также в максимальных точках кривой выделения панкреатических ферментов за период опыта.

Полученные результаты позволяют сделать заключение, что введение в рацион кур ферментного препарата протосубтилина на фоне белковых добавок гороха и рапса, стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур.

### **2.3. Влияние лимитирующих аминокислот на экзокринную функцию поджелудочной железы кур на фоне белковых культур гороха и рапса**

Качество кормов зависит в первую очередь от наличия в них полноценного белка (протеина). Значение протеина кормов для животных определяется в основном аминокислотным составом. Наиболее важное значение имеют так называемые критические аминокислоты — лизин и метионин и триптофан (Хохрин С.Н, 2002, Аликаев В.А. и др., 1982, Венедиктов А.М. и др., 1988, Достоевский П.П., Судаков Н.А., 1990, Калашников А.П., Клейменов Н.И., Щеглов В.В и др., 1993)

В научной литературе данные по влиянию лизина и метионина на экзокринную функцию поджелудочной железы кур малочисленны (Батоев Ц.Ж., Вертипрахов В.Г., 1988). Поэтому мы решили изучить влияние этих основных лимитирующих аминокислот на фоне гороха и рапса.

В контрольный период рацион кур содержал горох и рапс в количестве 10% от массы корма. В опытный период в рацион вводили лимитирующие аминокислоты (лизин и метионин).

Полученные данные (табл. 5) свидетельствуют, что введение лизина и метионина на фоне белковых добавок горо-

ха и рапса стимулирует секрецию поджелудочной железы. Количество панкреатического сока за опыт увеличивается на 18,9%. Амилолитическая активность в 1мл панкреатического сока повышается на 25,9%, активность протеазы - на 26,8%. Активность амилазы в объёме панкреатического сока за опыт увеличивается на 56,1%, активность протеаз – на 50,1%. Активность липазы не изменяется.

Таблица 5 - Влияние лимитирующих аминокислот на экзокринную функцию поджелудочной железы кур

Показатели	Контроль	Опыт	В % к контролю
Количество панкреатического сока за опыт, мл	7,395±0,32	8,795±0,19***	118,9
Активность ферментов в 1мл сока, мг/мл/мин			
Амилаза	5325±205,99	6706±258,7***	125,9
Протеазы	422±15,93	535±22,6***	126,8
Липаза	33±1,92	28±1,56	84,8
Активность ферментов в объёме сока за опыт, мг/мл/мин			
Амилаза	38821±1704,19	60588±3558,3***	156,1
Протеазы	3236±180,5	4857±208,02***	150,1
Липаза	247±15,03	256±16,7	103,6

Примечание: достоверность по сравнению с контролем \*P<0,05, \*\*P<0,02, \*\*\*P<0,01, \*\*\*\*P<0,001

Это подтверждает и анализ динамики активности протеолитических ферментов: на протяжении всего опыта отмечается увеличение сокоотделения поджелудочной железой кур в опытный период. Введение в рацион кур лизина и метионина на фоне белковых добавок гороха и рапса оказывает выраженное стимулирующее влияние на активность амилазы в сложнорефлекторную и нейрогумо-

ральную фазы регуляции панкреатической секреции. Активность фермента протеазы в период до дачи корма увеличивается в 1,6 раза, однако в максимальных точках сложнорефлекторной и гуморальной регуляции секреции активность протеаз практически не изменяется (1,2 раза). Добавка в рацион лизина и метионина, существенного влияния на активность липазы не оказывает.

Таким образом, секреторная функция поджелудочной железы кур реагирует на добавку лимитирующих аминокислот на фоне гороха и рапса: увеличивается количество показателей сока за опыт на 19%, активность амилазы (на 26%) и протеаз (на 27%).

#### **2.4. Внешнесекреторная функция поджелудочной железы кур при добавлении в рацион разного количества КБД**

Семена зернобобовых культур характеризуются высоким содержанием протеина, однако он беден серосодержащими аминокислотами и содержит антипитательные вещества. Для того, чтобы устранить указанные недостатки к основным компонентам КБД (гороху и рапсу) добавляли ферментный препарат – протосубтилин, белок балансировали добавкой лимитирующих аминокислот – лизина и метионина, а так же вводили комплекс витаминов и минералов. Данная балансирующая добавка представляет собой однородную смесь со специфическим запахом, зеленовато-коричневого цвета и имеет в своём составе легкоусвояемый полноценный белок.

Ряд исследователей (Батоев Ц.Ж., 1993, Вертипрахов В.Г., 2008, Цуканова Е.С., 2009, Тесаривская Т.Б., 2011)

получили результаты, показывающие, что при изменении в рационе количества протеина, изменяется секреторная функция поджелудочной железы. Однако КБД является новой композицией известных веществ и возникает необходимость изучения её влияния на секреторную функцию поджелудочной железы кур, как одного из центральных органов пищеварительной системы, а так же выявить оптимальную дозу для введения в рацион кур.

Экспериментальные данные, представленные в таблице 6, показывают, что при замене соевого жмыха в дозе 5% от массы корма на КБД в таком же количестве (5% от массы корма), объем панкреатического сока за опыт практически не изменился, хотя и наблюдается тенденция к увеличению на 7,8% в опытный период по сравнению с контролем. Наибольшие изменения наблюдаются в ферментативной активности. Активность амилазы в 1 мл сока кур увеличивается на 33,0%, а липазы 33,3% по сравнению с контрольным периодом. В объёме сока за опыт ферментативная активность амилазы и липазы возрастает на 46,8% и 57,1% соответственно. Ферментативная активность протеаз не изменяется.

Таблица 6 - Влияние комплексной белковой добавки (КБД) в дозе 5% от массы корма на секреторную функцию поджелудочной железы кур

Показатели	Контроль	Опыт	В % к контролю
Количество панкреатического сока за опыт, мл	6,4±0,16	6,9±0,23	107,8
2.Активность ферментов в 1мл сока, мг/мл/мин			
Амилаза	2544±163,	3383±257,5***	133,0

	9			
Протеазы		466±35,8	431±7,4	92,5
Липаза		9±0,45	12±0,60****	133,3
3. Активность ферментов в объёме сока за опыт, мг/мл/мин				
Амилаза		16010±10	23510±2292,2****	146,8
	73,7			
Протеазы		3007±254,	3015±101,6	100,27
	1			
Липаза		56±3,07	88±3,59****	157,1

Примечание: достоверность по сравнению с контролем  
\*P<0,05, \*\*P<0,02, \*\*\*P<0,01, \*\*\*\*P<0,001

Таким образом, комплексная белковая добавка (КБД) в дозе 5% от массы корма стимулирует функцию поджелудочной железы кур, увеличивая активность амилазы и липазы. Количество панкреатического сока существенно не изменилось. Протеолитическая активность осталась на прежнем уровне, несмотря на то, что в опытный период количество сырого протеина в корме уменьшилось на 2% по сравнению с контрольным.

С целью выявления оптимальной дозы КБД мы повышали её количество в комбикорме до 10%.

По результатам экспериментов на курах видно, что замена в рационе кур соевого жмыха на КБД в количестве 10% от массы комбикорма стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур (табл. 7).

Из данной таблицы видно, что количество панкреатического сока повышалось на 25% в опытный период. Амилолитическая активность в 1мл секрета увеличивалась на 39%, а в объёме сока за опыт - на 72%. Активность протеаз в 1мл сока поджелудочной железы кур возросла на 46%, а в объёме сока за опыт - на 84%. Активность фермента липазы оказалась больше контрольных показателей на 50% в 1мл

секрета и на 98% в объёме сока за опыт. Причём активность панкреатических ферментов увеличивается как в период до дачи корма, так и в сложнорефлекторной и гуморальной фазах регуляции секреции.

Таблица 7- Влияние комплексной белковой добавки в дозе 10% от массы корма на секреторную функцию поджелудочной железы кур

Показатели	Контроль	Опыт	В % к контролю
Количество панкреатического сока за опыт, мл	7,27±0,38	9,075±0,24***	124,8
Активность ферментов в 1мл сока, мг/мл/мин			
Амилаза	4278±118,9	5939±228,8***	138,8
Протеазы	369±20,9	539±11,3***	146,1
Липаза	14±0,84	21±1,08***	150,0
Активность ферментов в объёме сока за опыт, мг/мл/мин			
Амилаза	31261±1738,9	53674±1920,0***	171,7
Протеазы	2734±237,7	5022±199,2***	183,7
Липаза	97±6,23	192±11,8***	197,9

Примечание: достоверность по сравнению с контролем \*P<0,05, \*\*P<0,02, \*\*\*P<0,01, \*\*\*\*P<0,001

Таким образом, увеличение дозы КБД в рационе кур до 10% от массы корма оказывает существенное влияние на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур.

Следующим этапом эксперимента была замена соевого жмыха в дозе 15% от массы корма на комплексную белковую добавку в таком же количестве (15% от массы корма) (табл. 8).



Таблица 8 - Влияние КБД в количестве 15% от комбикорма на секреторную функцию поджелудочной железы кур

Показатели	Контроль	Опыт	В % к контролю
Количество панкреатического сока за опыт, мл	6,1±0,29	9,6±0,26*	157,4
Активность ферментов в 1мл сока, мг/мл/мин			
Амилаза	3758±175,3	6202±6536,9***	165,0
Протеазы	354±43,3	413±19,1	116,6
Липаза	9±0,45	15±0,72****	166,6
Активность ферментов в объёме сока за опыт, мг/мл/мин			
Амилаза	22169±1953,3	60336±6536,9****	272,2
Протеазы	2099±318,1	3948±228,3	188,1
Липаза	54±3,1	147±5,4****	272,2

Примечание: достоверность по сравнению с контролем \*P<0,05, \*\*P<0,02, \*\*\*P<0,01, \*\*\*\*P<0,001

Из таблицы 8 видно, что количество панкреатического сока за опыт у кур увеличилось на 57,4% по сравнению с контролем. Наибольшие изменения наблюдались в ферментативной активности. Так, в 1мл сока активность амилазы увеличилась на 65,0%, липазы на 66,6% по сравнению с контрольным периодом. В объёме сока за опыт ферментативная активность амилазы и липазы возрастает на 72,2%.

Наблюдается динамика к повышению ферментативной активности протеаз, хотя существенных изменений нет. Качество корма отличается в контрольный и опытный периоды. Добавка 15% соевого жмыха обеспечивает рацион сырым протеином в количестве 6%, а добавка КБД - 3%, поэтому количество сырого протеина в рационе равно 18,6 единиц в контрольный период и 15 – в опытный, что указы-

вает на снижение уровня сырого протеина на 3,6% в опытный период. Однако увеличение протеаз свидетельствует о наличии в рационе в опытный период более сбалансированного белка, чем в контрольный.

Следовательно, КБД в дозе 15% от массы корма стимулирует деятельность поджелудочной железы, оказывая положительное влияние на её секреторную функцию. Секретция панкреатического сока увеличивается на 57%, активность амилазы – на 65%, активность протеаз – на 17%, а липазы - на 67% по сравнению с контролем.

Комплексная белковая добавка при введении в рацион взамен соевого жмыха в количестве 5, 10 и 15% от массы корма стимулирует сокоотделение поджелудочной железой от 8 до 57% (рис. 2), повышает активность амилазы с 33 до 65% (рис. 3), протеаз – с 17 до 46% (рис. 4), липазы - с 33 до 67% (рис. 5) по сравнению с контролем. Наибольшие изменения отмечались при введении КБД в количестве 10% от массы корма. Это хорошо видно на следующих диаграммах (рис. 2, 3, 4, 5).

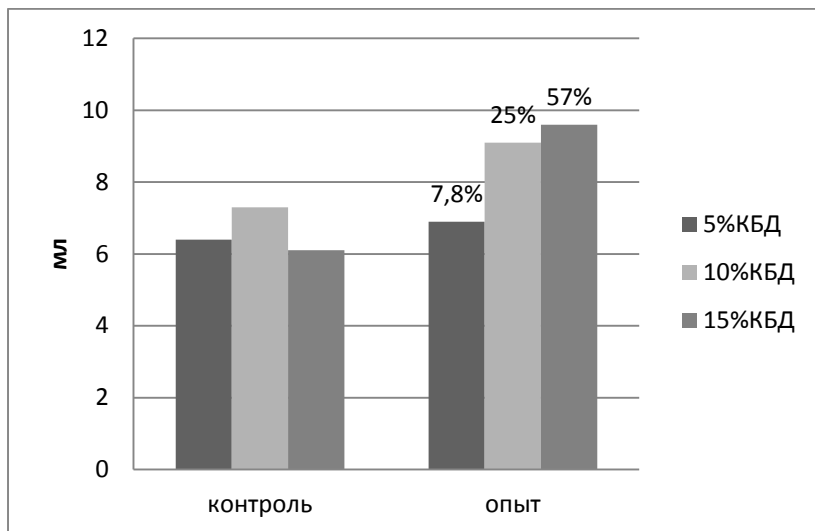


Рисунок 2 - Влияние разных доз КБД на секрецию панкреатического сока кур

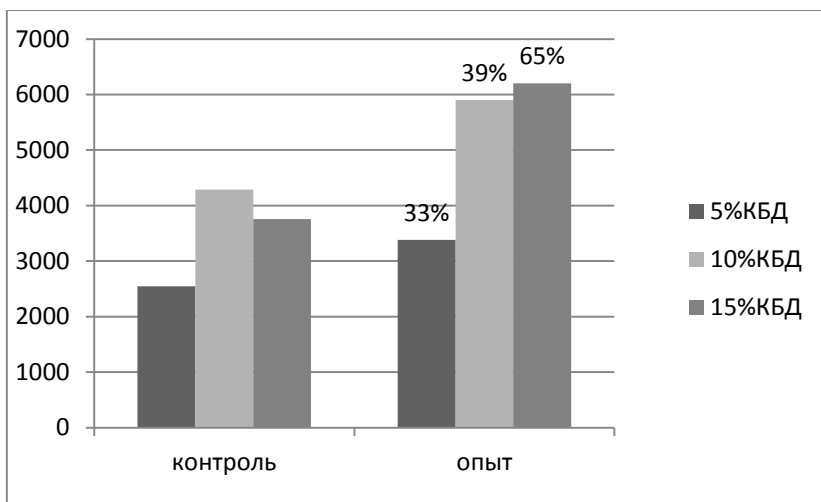


Рисунок 3 - Влияние разных доз КБД на активность амилазы панкреатического сока кур

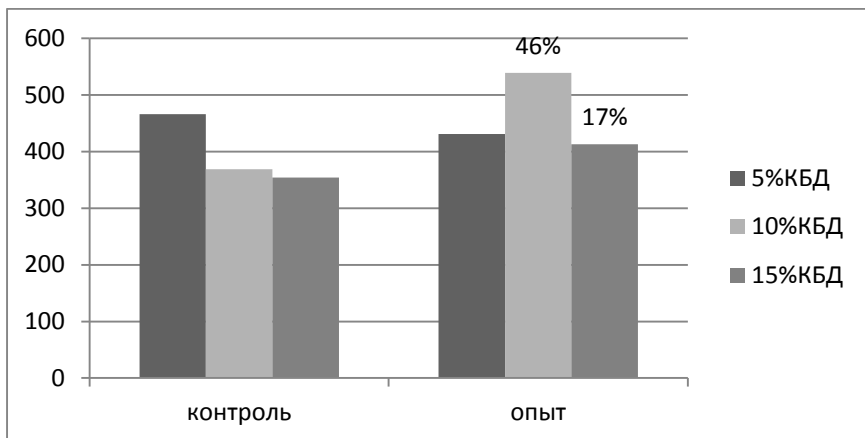


Рисунок 4 - Влияние разных доз КБД на активность протеаз панкреатического сока кур

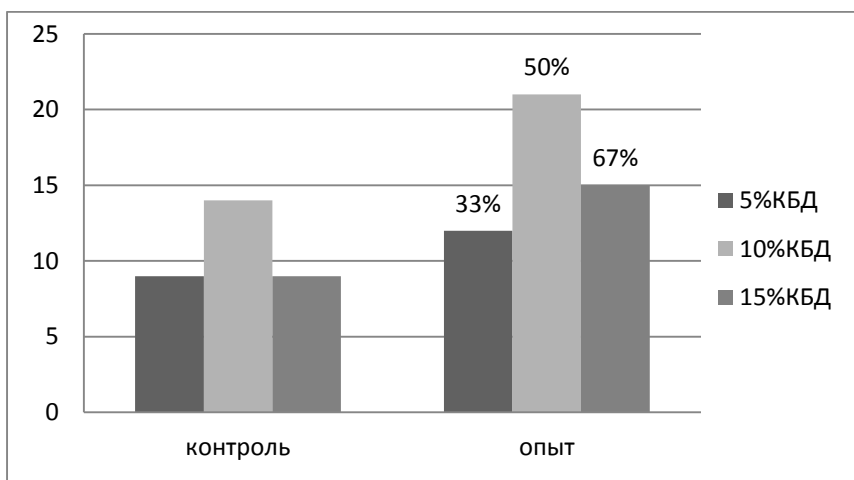


Рисунок 5 - Влияние разных доз КБД на активность липазы панкреатического сока кур

Таким образом, КБД принципиально не изменяет динамику выделения панкреатических ферментов после дачи корма, но уровень ферментативной активности превышает контрольный. Повышается активность амилазы и липазы в

период до приема корма, что свидетельствует о долговременной адаптации пищеварительной системы кур к новой добавке. Отмечается увеличение уровня амилазы и липазы в сложнорефлекторный период регуляции секреции (на 90-120 минуте опыта), а также всех ферментов в нейрогуморальную фазу регуляции панкреатической секреции (180 минута опыта). Следовательно, наиболее оптимальными для введения в рацион кур комплексной белковой добавки (КБД) является доза 10%.

## **2.5. переваримость протеина корма при использовании КБД в рационах кур**

КБД содержит добавки растительного происхождения, полный спектр незаменимых аминокислот, витаминов и минеральных веществ, благодаря чему подходит в качестве компонента для приготовления комбикормов. Добавленный к зерновым смесям в количестве 10% от общей массы, продукт обеспечивает физиологические потребности животных в белках, жирах, углеводах, витаминах и минеральных веществах (Петрухин И.В., 1989, Гареев Р.Г., 1995, Головкин Е.Н., Каширина М.В., Омаров М.О., 2005, Вертипрахов В.Г., Цуканова Е.С., 2009, Вертипрахов В.Г., 2012).

Данные по переваримости растительного белка малочисленны, а с использованием в рационе кур комплексной белковой добавки (КБД) отсутствуют. Поэтому следующей задачей нашего исследования стало проведение балансового опыта с целью определения переваримости протеина корма.

Куры в контрольный период куры получали комбикорм, содержание сырого протеина в котором составляло 19,0%

(5% соевого жмыха), а в опытный период – 16,9% (5% комплексной белковой добавки). Результаты переваримости кормов представлены в таблице 9.

Таблица 9- Переваримость корма при использовании КБД

Периоды	Потреблено лка, г	Выделено, г	Усвоено ор- низмом, г	Переваримость,
Контрольный	18,9±0,9	2,4±0,4	16,5±0,8	87,0
Опытный	14,7±0,7***	0,96±0,2***	13,7±0,9*	93,5

Примечание: достоверность по сравнению с контролем \*P<0,05, \*\*P<0,02, \*\*\*P<0,01, \*\*\*\*P<0,001

Из таблицы видно, что переваримость белка в контрольном периоде, при использовании в рационе кур соевого жмыха в количестве 5% от массы корма, составила 87%. В опытном периоде, при введении в комбикорм комплексной белковой добавки (КБД) в таком же количестве, показатель перевариваемости белка повысился до 93,5%.

Таким образом, корм, содержащий КБД усваивается организмом птиц на 6,5% лучше, чем корм, содержащий соевый жмых. Качество протеина корма оказывает влияние, главным образом, на перевариваемость и усвоение белка организмом птицы. Более сбалансированный по аминокислотному составу белок, содержащийся в КБД и доведённый до уровня идеального за счёт лимитирующих аминокислот (лизина и метионина), усваивается лучше и эффективнее используется организмом кур, что доказывает и прирост их массы. Хотя соевый жмых и превышает КБД по количеству белка, однако не исключено влияние антипитательных факторов и недостаток незаменимых аминокислот.

Переваримость повышается и за счёт наличия в КБД ферментного препарата протосубтилина.

### **Выводы**

1. Способ определения содержания пищевых белков, является новым, и может быть использован для оценки качества кормов и кормовых добавок, поскольку объективно отражает количество питательных веществ, способных расщепляться панкреатическим соком. С помощью данного способа возможно определение не только пищевых белков, но и пищевых жиров и углеводов.

2. Введение в рацион кур ферментного препарата протосубтилина на фоне добавок гороха и рапса стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы кур. Количество панкреатического сока за опыт возрастает на 11,9%, активность амилазы – на 19,0%, протеаз – на 16,0%, липазы – на 16,7% по сравнению с контрольным периодом. Активность ферментов в объёме сока за опыт увеличивается следующим образом: амилалитическая активность – на 61,4%, протеолитическая – на 33,5%, липолитическая – на 22,7%.

3. Добавка в рацион кур лимитирующих аминокислот (лизина и метионина) стимулирует секрецию поджелудочной железы. Количество панкреатического сока за опыт увеличивается на 18,9%. Амилалитическая активность в 1 мл панкреатического сока повышается на 25,9%, активность протеаз - на 26,8%. Активность амилазы в объёме панкреатического сока за опыт увеличивается на 56,1%, активность протеаз – на 50,1%. Активность липазы не изменяется.

4. Оптимальной для введения КБД в рацион кур является доза 10% от массы корма. При этом активность амилазы в 1

мл панкреатического сока возрастает на 39%, липазы на 50%, протеаз - на 46%, по сравнению с контролем. Количество панкреатического сока при введении в рацион КБД, повышается на 25% по сравнению с контрольным периодом. Причём активность панкреатических ферментов увеличивается как на базальном уровне (до дачи корма), так и в сложнорефлекторной и гуморальной фазах регуляции секреции.

5. Переваримость белка в контрольном периоде, при использовании в рационе кур соевого жмыха в дозе 5% от массы корма, составила 87%. В опытном периоде, при замене соевого жмыха на комплексную белковую добавку (КБД) в таком же количестве, показатель перевариваемости белка повысился на 6,5% и достиг 93,5%.

### **Практические предложения**

1. Разработанный нами «Способ определения количественного содержания пищевых белков» (патент на изобретение № 2473699 приоритет от 6.04.2011) целесообразно шире использовать с целью оценки количественного содержания пищевых белков, жиров и углеводов в кормах и продуктах питания.

2. Полученные результаты позволяют рекомендовать для использования в рационах кур ферментный препарат протосубтилин и синтетические аминокислоты лизин и метионин на фоне белковых добавок гороха и рапса. В этом случае отмечается стимуляция ферменто-выделительной функции поджелудочной железы.

3. При дальнейших производственных испытаниях рекомендуем применять КБД в количестве 10% от массы корма.

4. Материалы работы могут быть использованы в научно-исследовательской работе при изложении научных резуль-



татов, в качестве исходных данных для последующих научных исследований, в учебном процессе при подготовке биологов, ветеринарных врачей и зооинженеров.

### **Основные публикации по теме диссертации**

#### **Публикации в журналах из перечня ВАК**

1. *Бутенко М.Н.* Способ количественного определения содержания пищевых белков, жиров, углеводов / М.Н. Бутенко // Аграрный вестник Урала.- 2013.- №5(111).- С. 9-11.

2. Вертипрахов В.Г. Внешнесекреторная функция поджелудочной железы кур при добавлении в корм лимитирующих аминокислот / В.Г. Вертипрахов, *М.Н. Бутенко* // Вестник КрасГАУ. – 2013. - №5.- С. 173-177.

3. Вертипрахов В.Г. Влияние комплексной белковой добавки на организм животных / В.Г. Вертипрахов О.П. Шеломенцева, *М.Н. Бутенко*, О.Т. Андреева // Учёные записки ЗабГГПУ им. Н.Г. Чернышевского. - 2012.- №1(42).- С. 108-114.

4. Вертипрахов В.Г. Секреторная функция поджелудочной железы кур при введении в рацион ферментного препарата на фоне белковой добавки / В.Г. Вертипрахов, *М.Н. Бутенко* // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2012.- №5.- С. 53-59.

#### **Публикации в международных изданиях**

5. Вертипрахов В.Г. Новый способ определения количества пищевых белков, жиров и углеводов в продуктах и кормах / В.Г. Вертипрахов, *М.Н. Бутенко* // Меж-

дународный журнал прикладных и фундаментальных исследований. Медицинские науки. - Москва. - 2014.- №9.- С. 52-55.

### **Прочие публикации**

6. *Бутенко М.Н.* Бутенко, М.Н. Влияние комплексной белковой добавки в дозе 5% на внешесекреторную функцию поджелудочной железы кур / М.Н. Бутенко // Материалы науч. сес. Естественно-географического факультета Забайкальского государственного гуманитарно-педагогического университета

им. Н.Г. Чернышевского. – Чита, 2011. - С. 8-10.

7. *Бутенко М.Н.* Влияние комплексной белковой добавки в дозе 10% от массы корма на секреторную функцию поджелудочной железы кур / М.Н. Бутенко // Материалы науч. сес. Естественно-географического факультета Забайкальского государственного гуманитарно-педагогического университета им. Н.Г. Чернышевского. – Чита, 2012.- С. 9-11.

8. *Бутенко М.Н.* Влияние комплексной белковой добавки в дозе 15% от массы корма на секреторную функцию поджелудочной железы кур / М.Н. Бутенко // Проблемы трансферта современных технологий в экономику Забайкалья и железнодорожный транспорт: сб. тр. Междунар. науч.-практ. интернет-конф., посвящ. 55-летию Забайкальского института железного транспорта.- Чита, 2011.

9. *Бутенко М.Н.* Влияние комплексной белковой добавки на секреторную функцию поджелудочной железы кур / М.Н. Бутенко // Молодёжь Забайкалья: молодость, наука, прогресс!: материалы XIV междунар. молодёж. науч.-практ. конф.- Иркутск, 2011.- Ч. III.- С. 118-120.

10. Вертипрахов В.Г. Влияние комплексной белковой добавки на секреторную функцию поджелудочной железы кур и перевариваемость протеина корма / В.Г. Вертипрахов, *М.Н. Бутенко*, Е.Г. Фоменко // Приволжский вестник Ижевск. - 2011.- №1.- С. 7-10.

11. *Бутенко М.Н.* Применение ферментного препарата и аминокислот в рационе кур-несушек / М.Н. Бутенко // Научный потенциал факультета – основа академической мобильности студентов: сборник трудов вузовской студенческой конференции в рамках Международного образовательного форума «Модернизация профессионального образования в России, Китае и Монголии».- Чита, 2013.- С. 119-124.

### **Патенты**

12. Пат. 2473699 Российская Федерация, МПК С120 G01N. Способ определения содержания пищевых белков / В.Г. Вертипрахов, Е.С. Цуканова, *М.Н. Бутенко*; патентообладатель ЗабГГПУ им. Н.Г. Чернышевского.- № заявки 2011113366/10; заявл.06.04.2011; опубл. 27.01.2013.- 11 с.

Бутенко Мария Николаевна

**ЭКЗОКРИННАЯ ФУНКЦИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КУР ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В ИХ РАЦИОНЕ КОМПЛЕКСНОЙ БЕЛКОВОЙ ДОБАВКИ (КБД)**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Компьютерная верстка .....

---

Подписано в печать .....2014г. Формат 60×84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Объём 1,0 уч.-изд. л., 2,0 усл. печ. л.

Тираж 100 экз. Заказ №....

---

Отпечатано в издательстве НГАУ  
630039, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, офис 106.  
Тел. факс (383) 267-09-10. E-mail: 2134539@mail.ru