

Katedra Biochemii i Toksykologii Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt
Akademii Rolniczej w Lublinie

BOGUSŁAW MAKARSKI, ANNA ZADURA

*Wpływ chelatu miedzi z lizyną na poziom składników
hematologicznych i biochemicznych krwi indyków**

*Influence of Copper and Lysine Chelate on Hematological and Biochemical
Component Levels in Turkey Blood*

Przebieg wielu procesów metabolicznych w organizmach indyków jest uzależniony od obecności miedzi. Pierwiastek ten odgrywa ważną rolę w metabolizmie żelaza: ułatwia jego przyswajanie i włączenie do transferyny, która przenosi Fe do erytrocytów, gdzie odbywa się biosynteza hemoglobiny. Miedź jest również niezbędna podczas syntezy hemu oraz w procesie wytwarzania i dojrzewania erytrocytów, jest tym samym ważnym czynnikiem zapobiegającym anemii. Pierwiastek ten pełni ważną rolę w regulacji metabolizmu glukozy i cholesterolu. Jest również składnikiem lub aktywatorem wielu enzymów, przede wszystkim oksydaz: askorbinowej, lizolowej, cytochromowej, moczanowej, katecholowej, dysmutazy nadtlenowej, tyrozinazy.

Od dawna wiadomo, że zwiększona ilość miedzi w paszy dla indyków wpływa stymulująco na uzyskiwane przyrosty masy ciała oraz poprawia wykorzystanie paszy [2]. Według Jamroz [3] działanie stymulujące miedzi następuje poprzez poprawę wskaźników hematologicznych krwi. W badaniach własnych [6] stwierdzono, że pierwiastek ten posiada właściwości „insulinopodobne”, ponieważ obniża poziom wolnych aminokwasów i glukozy w osoczu krwi indyków i w ten sposób stymuluje biosyntezę białka tkankowego.

Stosowanie w żywieniu drobiu składników mineralnych w formie połączeń chelatowych znajduje obecnie coraz więcej zwolenników. Taka forma chemiczna umożliwi lepsze wykorzystanie elementów mineralnych, a tym samym po-

* Badania finansowane ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego

zwala na ograniczenie ich suplementacji [6]. Kompleksy pierwiastków z aminokwasami lub białkami mogą być wchłaniane w niezmienionej formie przez śluzówkę jelit z wykorzystaniem systemu transportu aminokwasów, dzięki czemu są lepiej przyswajane przez organizm [1, 4]. Ponadto zaletą związków chelatowych jest to, że nie wprowadzają pierwiastków towarzyszących i zanieczyszczeń, mogących kumulować się w organizmie, oraz nie wchodzi w reakcje chemiczne z innymi aktywnymi składnikami paszy.

Celem podjętych badań było określenie w warunkach produkcyjnych wpływu miedzi w formie chelatu z lizyną, jako dodatku do wody pitnej, na ukształtowanie wskaźników hematologicznych i biochemicznych krwi indyków podczas 16-tygodniowego odchowu.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 2000 indorów typu ciężkiego Big-6, które w drugim tygodniu życia zostały podzielone na dwie jednakowo liczebne grupy doświadczalne. Grupa I stanowiła kontrolę, natomiast grupa II otrzymywała do wody pitnej dodatek Cu w postaci chelatu z lizyną w ilości 10 mg Cu dm⁻³H₂O. Zastosowany w doświadczeniu preparat miedziowy był przygotowany w laboratorium Katedry Biochemii i Toksykologii Akademii Rolniczej w Lublinie i stanowił kompleksowe połączenie aminokwasu z Cu w stosunku 2:1. Czynnikiem doświadczalnym zdecydowano się dodawać do wody pitnej ze względu na możliwość antagonistycznego wpływu innych składników mieszanek paszowych na przyswajalność tego pierwiastka [8].

Podczas całego doświadczenia indyki miały zapewniony stały dostęp do wody, były żywione do woli typowymi mieszankami pełnoporcjowymi dostępnymi na polskim rynku i pozostawały pod stałą opieką weterynaryjną. W 16 tygodniu życia, po zakończeniu odchowu, z każdej grupy wybrano losowo po 20 sztuk indyków. Z żyły ramiennej ptaków za pomocą sterylnej igły do heparynizowanych probówek pobrano krew do analiz, a miejsce pobrania odkażono za pomocą 96-procentowego alkoholu etylowego.

W zakresie badań hematologicznych metodami klinicznymi określono: liczbę krwinek czerwonych (RBC), zawartość hemoglobiny (Hb) oraz wartość hematokrytu (Ht). W osoczu krwi oznaczono aktywność enzymów: aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH), określono poziom: cholesterolu ogólnego i jego frakcji (LDL, HDL), triglicerydów, glukozy, białka ogólnego oraz kwasu moczowego i mocznika. Określono także zawartość elementów mineralnych: P i Fe. Oznaczenia te wykonano na aparacie Hitachi 704.

W stosowanych podczas doświadczenia mieszankach pełnoporcjowych, po mineralizacji na mokro w HClO₄ i HNO₃ (w stosunku 1:5), określono zawartość podstawowych elementów mineralnych: Cu, Zn, Mn, Fe, Ca, Mg. Oznaczenia te wykonano metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej (AAS) na aparacie UNICAM 939.

Uzyskane dane liczbowe poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu STATISTICA 5,0 PL 97, testem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA, przyjmując poziom istotności 0,05 i 0,01.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Podczas doświadczenia zastosowano cztery rodzaje mieszanek pełnoporcjowych, których wartość pokarmowa jest zbilansowana w zależności od wieku i potrzeb fizjologicznych indyków. Deklarowany przez producenta skład paszy przedstawiono w tabeli 1.

Tab. 1. Wartość pokarmowa mieszanek pełnoporcjowych dla indyków
Nutritive value of the complete mixtures for turkeys

Wyszczególnienie	Mieszanka pełnoporcjowa			
	0–4 tyg.	5–8 tyg.	9–12 tyg.	13–16 tyg.
Energia metaboliczna (kcal kg ⁻¹)	2900	3075	3150	3280
Białko ogólne (%)	26,00	21,00	18,00	17,00
Tłuszcz surowy (%)	4,70	4,30	4,10	4,00
Włókno surowe (%)	3,50	4,00	4,00	4,00
Lizyna (%)	1,58	1,25	1,05	0,75
Metionina (%)	0,60	0,53	0,49	0,45
Metionina + cystyna (%)	0,98	0,87	0,82	0,76
Tryptofan (%)	0,26	0,22	0,19	0,13
Ca (%)	1,30	1,20	1,10	0,85
P (%)	0,72	0,65	0,60	0,40
Na (%)	0,16	0,15	0,15	0,15
Witamina A (j.m kg ⁻¹)	13500	12500	12500	8700
Witamina D ₃ (j.m kg ⁻¹)	3500	3250	3250	3040
Witamina E (j.m kg ⁻¹)	50	45	32	18

Tab. 2. Zawartość elementów mineralnych w mieszankach pełnoporcjowych dla indyków
Mineral elements content in the feed mixtures for turkeys

Mieszanki (tygodnie odchowu)	Składniki mineralne				
	Ca (g kg ⁻¹)	Mg (g kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)
I (0–4 tydzień)	5,76	1,27	48,48	87,00	136,00
II (4–8 tydzień)	4,84	1,35	39,32	100,00	157,00
III (8–12 tydzień)	5,54	1,51	53,23	106,00	170,00
IV (13–16 tydzień)	4,96	1,10	25,65	81,00	178,00

W zastosowanych mieszankach oznaczono zawartość wybranych elementów mineralnych: Ca, Mg, Cu, Zn i Fe, a uzyskane rezultaty zestawiono w tabeli 2. Analiza prezentowanych wyników wykazała, że zawartość Cu, Zn i Fe była wyższa od wartości rekomendowanych przez polskie normy [10], jednak określone stężenia tych elementów mineralnych nie były dawkami toksycznymi [8].

Poziom Cu w zastosowanych mieszankach ($25,65 - 53,23 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) znacznie przewyższał zapotrzebowanie indyków, jednak nie stanowiło to zagrożenia dla zdrowia ptaków, ponieważ jak podają Normy Żywienia Drobiu [10], ptaki wykazują dużą tolerancję na nadmiar tego pierwiastka i dopiero stężenie Cu w paszy 25-krotnie wyższe od potrzeb organizmu może wykazywać działanie toksyczne.

Wszystkie zastosowane w doświadczeniu mieszanki zawierały optymalny poziom Mg, natomiast koncentracja Ca była niższa od wartości deklarowanej przez producenta i określonego zapotrzebowania [10]. Nie wpłynęło to jednak na uzyskane wyniki produkcyjne, ponieważ umiarkowany niedobór tego pierwiastka oddziałuje w wyraźny sposób tylko na proces wzrostu bardzo młodych indyków, natomiast w późniejszym okresie życia nie wywiera ujemnego wpływu na organizmy ptaków.

W krwi indyków pobranej po 16 tygodniu odchowu określono poziom wskaźników hematologicznych, a otrzymane wyniki umieszczono w tabeli 3. Stwierdzono, że zastosowany w badaniach chelat Cu z lizyną w ilości $10 \text{ mg Cu}\cdot\text{dm}^{-3}\text{H}_2\text{O}$ nie spowodował istotnych zmian w obrazie hematologicznym krwi. Warto jednak odnotować, że w grupie doświadczalnej stwierdzono korzystną tendencję do wzrostu wartości wszystkich analizowanych parametrów. Obecnie uważa się [3], że Cu ze względu na udział w procesie syntezy hemoglobiny wpływa stymulująco na uzyskiwane przyrosty masy ciała indyków poprzez poprawę wskaźników hematologicznych krwi, co znalazło potwierdzenie we wcześniejszych badaniach [7]. Brak istotnych zmian w zakresie oznaczeń hematologicznych był prawdopodobnie spowodowany zwiększoną koncentracją Cu w stosowanych mieszankach pełnoporcjowych ($25,65 - 53,23 \text{ mg Cu kg}^{-1}$), co ograniczyło działanie dawki doświadczalnej. Ze względu na fakt, że nadmiar miedzi zawartej w paszy obniża stopień jej wchłaniania i zwiększa wydalanie do środowiska [10], prawdopodobnie wysoka zawartość Cu w paszy stanowiła wielkość graniczną, powyżej której suplementowana doświadczalnie ilość tego składnika nie wpływała na biosyntezę hemoglobiny u indyków.

W tabeli 4 przedstawiono zawartość cholesterolu i triglicerydów w osoczu indyków. Zastosowana suplementacja chelatu Cu z lizyną spowodowała wzrost poziomu cholesterolu ogólnego i proporcjonalne zwiększenie jego frakcji, ale istotne statystycznie różnice dotyczyły tylko LDL. W osoczu ptaków otrzymujących dodatek miedzi stwierdzono obniżenie koncentracji triglicerydów. Podobnych obserwacji dokonali Pesti i Bakalli [9], badając wpływ zwiększonych dawek Cu na poziom frakcji lipidowych osocza. Obniżenie poziomu triglicerydów w osoczu krwi indorów jest zjawiskiem korzystnym, ponieważ świadczy o osłabieniu procesu lipogenezy w wątrobie i w tkance tłuszczowej, co wydaje się potwierdzać „insulinopodobne” właściwości miedzi.

Tab. 3. Poziom wskaźników hematologicznych krwi 16-tygodniowych indyków
The level of hematological indices in blood of 16-week-old turkeys

Wyszczególnienie	Grupy	
	I kontrola	II Cu-Liz. (10 mg Cu·dm ⁻³ H ₂ O)
Ht (g dl ⁻¹)	36,80 ± 2,00	37,28 ± 1,68
Hb (g dl ⁻¹)	14,26 ± 0,87	14,32 ± 0,48
RBC (10 ¹² l ⁻¹)	2,42 ± 0,15	2,47 ± 0,18

Tab. 4. Poziom składników lipidowych osocza indyków
The level of lipid components in serum of turkeys

Wyszczególnienie	Grupy	
	I kontrola	II Cu-Liz. (10 mg Cu·dm ⁻³ H ₂ O)
Cholesterol ogólny (mg·dl ⁻¹)	124,5 ± 22,47	128,9 ± 26,53
LDL (mg·dl ⁻¹)	67,08 ^b ± 8,12	74,9 ^a ± 5,59
HDL (mg·dl ⁻¹)	41,54 ± 19,90	50,57 ± 24,23
Triglicerydy (mg·dl ⁻¹)	79,5 ^A ± 39,88	17,04 ^B ± 3,94

^{A, B} Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie (P≤0,01)

^{a, b} Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie (P≤0,05)

Tab. 5. Aktywność enzymów w krwi indyków
The activity of selected enzymes in blood of turkeys

Wyszczególnienie	Grupy	
	I kontrola	II Cu-Liz. (10 mg Cu·dm ⁻³ H ₂ O)
AST (U l ⁻¹)	151,00 ± 19,68	256,50 ± 139,16
ALT (U l ⁻¹)	5,00 ± 2,36	4,20 ± 2,35
LDH (U l ⁻¹)	993,34 ± 205,77	1541,51 ± 248,77

W tabeli 5 przedstawiono wyniki oznaczeń aktywności enzymów osocza krwi: ALT, AST i LDH. Uzyskane rezultaty były niższe od wyników prezentowanych w innych badaniach [11], ale zbliżone do wartości referencyjnych [12]. Zastosowana w doświadczeniu dawka miedzi spowodowała wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej i dehydrogenazy mleczanowej, ale występujące różnice nie były potwierdzone statystycznie. Zwiększona aktywność tych enzymów mogłaby sugerować zmiany patologiczne w wątrobach ptaków, jednak podczas szczegółowej analizy anatomopatologicznej nie stwierdzono żadnych niekorzystnych zmian w tych narządach.

Tab. 6. Wartości wskaźników biochemicznych i wybranych elementów mineralnych osocza
The values of biochemical indices and some mineral elements of serum

Wyszczególnienie	Grupy	
	I kontrola	II Cu-Liz. (10 mg Cu·dm ⁻³ H ₂ O)
Glukoza (mg dl ⁻¹)	288,9 ^b ± 21,36	258,6 ^a ± 15,23
Białko ogólne (g dl ⁻¹)	3,82 ± 0,3	4,07 ± 0,29
Kwas moczowy (mg dl ⁻¹)	1,12 ± 0,66	1,84 ± 1,25
Mocznik (mg dl ⁻¹)	0,71 ± 0,30	0,92 ± 0,60
Fe (μg dl ⁻¹)	47,82 ± 15,80	55,87 ± 9,49
P (mg dl ⁻¹)	6,48 ± 1,49	5,15 ± 1,84

^{a, b} Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie (P≤0,05)

Wyniki badań biochemicznych krwi indyków przedstawiono w tabeli 6. W doświadczeniu nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy zastosowanym czynnikiem doświadczalnym a uzyskanymi rezultatami. Istotne statystycznie różnice dotyczyły tylko zawartości glukozy, której poziom pod wpływem miedzi uległ obniżeniu, co potwierdziło „insulinopodobne” właściwości tego pierwiastka. Warto również nadmienić, iż w grupie suplementowanej chelatem odnotowano wzrost zawartości białka, kwasu moczowego i żelaza w osoczu ptaków, a średnie wartości oznaczanych parametrów krwi korespondują z wynikami prezentowanymi przez innych autorów [5, 11].

WNIOSKI

1. Zastosowane w żywieniu indyków mieszanki pełnoporcjowe zawierały zwiększoną koncentrację Cu, Zn i Fe oraz obniżony w stosunku do zapotrzebowania poziom Ca, co jednak nie miało wpływu na zdrowotność ptaków.
2. Dodatek chelatu Cu z lizyną w ilości 10 mg Cu·dm⁻³H₂O nie spowodował istotnych zmian poziomu wskaźników hematologicznych krwi.
3. W osoczu indyków pod wpływem preparatu miedziowego odnotowano wzrost poziomu frakcji LDL cholesterolu i obniżenie stężenia triglicerydów.
4. Dodatek chelatu nie powodował istotnej zmiany aktywności enzymów, wpłynął natomiast na spadek koncentracji glukozy w osoczu, co potwierdza „insulinopodobne” właściwości miedzi.

PIŚMIENNICTWO

1. Ashmead H. D. (ed.): The roles of amino amid chelates in animal nutrition. Park Ridge, New Jersey, USA, Noyes Publications, 479, 1993.
2. Harms R. H., Buresh R. E.: Influence of three levels of copper on the performance of turkey poults with diets containing two source of methionine. *Poult. Sci.*, 66, 721–724, 1986.
3. Jamroz D.: Biologiczna rola składników mineralnych w żywieniu drobiu. *Drob.*, 1/3, 23, 7–11, 1990.
4. Koreleski J.: Aktualne zagadnienia badawcze z zakresu mineralnego żywienia drobiu. II Konferencja naukowa nt.: Związki mineralne w żywieniu zwierząt, Kraków, 43–60, 1997.
5. Krasnodębska-Dept A., Koncicki A., Mazur-Gonkowska B.: Wskaźniki hematologiczne i biochemiczne w surowicy krwi indyków zakażonych patogenym szczepem pałeczek *E. coli*. *Med. Wet.*, 59(7), 623–625, 2003.
6. Makarski B.: Wpływ kompleksu chelatowego z lizyną oraz fitazy na reakcji biologiczne indyków. *Wyd. AR Lublinie*, z. 256, 2002.
7. Makarski B., Polonis A., Czech A., Sembratowicz I.: Wpływ miedzi pochodzącej ze związków nieorganicznych i chelatów na wskaźniki krwi i wyniki produkcyjne indyków. *Ann. UMCS, EE, XX*, 41, 287–293, 2002.
8. Noy Y., Frisch Y., Rand N, Sklan D.: Trace mineral requirements in turkeys. *World's Poult. Sci.*, 50, 253–268, 1994.
9. Pesti G. M., Bakalli R. I.: Studies on the feeding of cupric sulfate perhydrate and cupric citrate to broiler chickens. *Poult. Sci.*, 75, 1086–1091, 1996.
10. Smulikowska S.: Normy żywienia drobiu. Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz. *Wyd. 3, IFi ŻŻ PAN, Jabłonna* 1996.
11. Szabó A., Mézes M., Horn P., Sütő Z., Bázár Gy., Romvári R.: Developmental dynamics of some blond biochemical parameters in growing turkey (*Meleagris Gallopavo*). *Acta Vet. Hung.*, 53(4), 397–409, 2005.
12. Vasicek V. L., Schwendenwein I., Voill S.: Chemische Blutuntersuchung zur Erstellung von Richtwerten bei Mastputen verschiedenen Alters. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 98 (4), 126–129, 1991.

SUMMARY

The study was carried out using 2000 male turkeys of heavy Big-6 type divided into two experimental groups. Group I was the control, group II was administered with drinking water with Cu lysine chelate addition at the concentration of $10 \text{ mg Cu} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ H}_2\text{O}$. In the 16th week of life, after completed rearing, 20 male turkeys were selected from both groups and blood was taken for hematological (Ht, Hb, RBC) and biochemical (AST, ALT, LDH, total cholesterol, LDL, HDL, triglycerides, glucose, total protein, uric acid, urea, P, Fe) parameters determination. The aim of the study was to evaluate the influence of copper in a form of chelate with lysine as an additive to drinking water, on hematological and biochemical index levels in male turkey blood under production conditions. The analysis of the achieved results revealed that chelate addition invoked significant changes of serum lipid components. It caused an increase of LDL fraction of cholesterol and a decrease of triglyceride levels. No significant effects on Cu lysine chelate on hematological pattern of turkey blood were found in the study.