

Значимость аминокислотного анализа комбикормов и кормового сырья для эффективного нормирования рационов птицы по аминокислотам и оптимизации содержания валина

Буряков Н.П., доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой кормления и разведения животных факультета зоотехнии и биологии

Щукина С.А., кандидат сельскохозяйственных наук, специалист по кормлению сельскохозяйственной птицы

Горст К.А., аспирант кафедры кормления и разведения сельскохозяйственных животных факультета зоотехнии и биологии ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева



Аннотация: Нормирование показателей протеиновой питательности кормов для животных - один из наиболее важных аспектов формирования рационов, оказывающий значительное влияние на зоотехнические показатели, качество получаемой продукции и рентабельность ее производства. Корма для птицы нормируют как по общему содержанию протеина, так и по отдельным аминокислотам. Птица очень чувствительна к содержанию протеина и аминокислот в рационе, показатели ее продуктивности быстро реагируют на изменения количеств как общего протеина, так и отдельных аминокислот. Чем более полноценный и высококачественный протеин получает птица и чем лучше он нормирован по содержанию отдельных аминокислот, тем, как правило, лучшие зоотехнические параметры выращивания птицы, качество получаемых продуктов и рентабельность их производства. Распространенный и современный метод качественного и количественного анализа содержания аминокислот, в том числе валина, в комбикормах и кормовом сырье - это анализ в автоматических анализаторах методом ионообменной колоночной хроматографии. Оптимальное содержание валина в комбикорме важно для здоровья птицы; при оптимизации рецептов валин балансируют, как правило, с глутаматом.

Ключевые слова: протеин, аминокислоты, нормирование, продуктивность, ионообменная хроматография, рентабельность.

Нормирование протеина и аминокислот. Нормирование показателей в комбикормах для животных - один из наиболее важных аспектов формирования рационов, который привносит значительный вклад в их эффективность и результатирующие зоотехнические показатели, качество и объ-

емы получаемой продукции, прибыльность и общую рентабельность ее производства [1,2]. Эффективность рациона есть функция от его полноценности и сбалансированности по компонентному составу - нормируемым показателям; для птицы это, прежде всего, сухое вещество, обмен-

ная энергия (ОЭ), сырой протеин, отдельные аминокислоты, углеводы, микроэлементы и витамины [2-4]. Важным условием является также качество сырья. Общее число нормируемых показателей рациона может доходить до нескольких десятков (40-50); нормируемые показатели рациона

отличаются по наименованиям и количеству для животных и птицы различных видов и продуктивного назначения.

В свою очередь, для формирования рецепта рациона необходимо знать содержание компонентов в комбикорме и кормовом сырье. Достоверное, надежное и точное измерение и оценка одного из ключевых параметров комбикорма - его протеинового компонента, в т.ч. отдельных аминокислот - необходимы для составления полноценного и сбалансированного рецепта [1,2,5].

Комбикорма для птицы нормируют как по общему содержанию протеина, так и по отдельным аминокислотам. Птица очень чувствительна к содержанию протеина и аминокислот в рационе и быстро реагирует на изменение его количества и состава изменением зоотехнических характеристик и показателей продуктивности. Протеиновая полноценность рациона для птицы определяется уровнем сырого протеина и содержанием аминокислот в комбикормах и кормовых смесях. В зависимости от вида, кросса, возраста и направления продуктивности птицы потребность в протеине и аминокислотах значительно варьирует.

Аминокислоты, полученные птицей из протеина корма, необходимы для выполнения целого

ряда важных функций: формирования структурных и защитных тканей, протекания реакций метаболизма (обмена веществ), аминокислоты - предшественники многих важных непротеиновых витальных молекул, в том числе витаминов. Протеиновый состав тела птицы (количественный и качественный) находится в динамическом равновесии, происходит как его синтез, так и распад. При дефиците протеина в рационе рост птицы замедляется или прекращается, снижается яйценоскость и качество получаемых яиц и мяса [5,6].

Чем более полноценный протеин получают животные, чем выше его качество, и чем лучше он нормирован по содержанию отдельных аминокислот, особенно лимитирующих, тем, как правило, лучше зоотехнические параметры птицы, продуктивность, выживаемость и качество получаемых продуктов. Кроме того, если, например, корм содержит высококачественный, но несбалансированный протеин, то аминокислотный анализ делает возможной детальную качественную и количественную оценку аминокислотного состава протеина и улучшение его баланса при помощи добавок органических аминокислот (биодобавки). При этом перерасход кормов и количество непереваримого протеина будут меньше, и снижаются

негативные эффекты со стороны зоотехнических показателей, уровня санитарии и продуктивности животных, связанные с избытком непереваримого протеина и повышенным выделением белкового азота с экскрементами. Кроме того, белковый компонент корма (протеин) является наиболее дорогостоящим, и снижение его перерасхода может вносить значимый вклад в экономический баланс и рентабельность производства.

В случае применения комбикормов с пониженным уровнем протеина в кормлении птицы дефицитными могут оказаться аминокислоты аргинин, валин, треонин, триптофан [7-9]. Так, дефицит отдельных аминокислот может наблюдаться в пшенично-ячменных и кукурузно-подсолнечных рационах. При нормировании аминокислот необходимо также учитывать их взаимодействие с витаминами. В то же время избыток аминокислот также не полезен для организма птицы и оказывает угнетающее влияние на продуктивность и качество продуктов, может вызывать снижение скорости роста и токсикоз. Именно поэтому столь важно проводить анализ и нормирование кормов и рационов не только по общим протеиновым показателям, но и по отдельным аминокислотам, доступным для усвоения.



Под доступностью аминокислот понимают их способность высвобождаться из белков корма под действием протеолитических ферментов пищеварительного тракта и через стенку кишечника поступать в общий пул обмена веществ.

Применение комбикормов, сбалансированных по доступным аминокислотам, обеспечивает повышение продуктивности птицы на 3-5% и снижает затраты на производство яйца и мяса в среднем на 2-4% и более.

Таким образом, нормирование и оптимизация рациона по протеину и по отдельным аминокислотам - очень важный элемент при составлении рациона для птицы. Благодаря техническим возможностям современных методов анализа можно измерить содержание не только общего протеина, но и отдельных аминокислот.

Методы аминокислотного

анализа. Аминокислоты представляют собой органические молекулы, которые обладают как аминогруппой (NH_2), так и карбоксильной группой (COOH), и переменной группой, обозначенной R . R -группа может быть простой, например, атом водорода у глицина, или углеродным скелетом с присоединенными различными функциональными группами [10].

Современные методы определения протеина и отдельных аминокислот

НОКИСЛОТ отличаются высокой точностью, разрешением, надежностью и воспроизводимостью результатов. Высокотехнологичное приборное оснащение современных лабораторий делает анализы более трудозатратными, но позволяет повысить качество получаемых результатов.

Основные группы методов анализа содержания аминокислот - это электрохимический и хроматографический. Более часто применяют хроматографические методы, особенно высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ). ВЭЖХ, как правило, дешевле электрохимических методов. Наиболее распространенным современным методом хроматографического анализа аминокислотного состава протеинов и пептидов в настоящее время является их определение с помощью специальных приборов - автомати-

ческих анализаторов аминокислот. Такие методы включены в различные международные стандарты и в отечественные ГОСТы [6, 11].

Разделение аминокислот в автоматических анализаторах происходит по принципу ионообменной хроматографии на колонках, заполненных сульфополистирольными катионитами [12,13]. Степень прочности сорбции и десорбции на смоле разных аминокислот различна и определяется, главным образом, величиной заряда молекулы аминокислоты. Наибольшая прочность сорбции - у диаминовых аминокислот, наименьшая - у дикарбоновых (аспартиновая и глутаминовая кислоты). Для разделения аминокислот их элюируют с колонки буферными растворами различной величины pH и/или ионной силы. Для элюирования кислых и нейтральных аминокислот применяют Na-

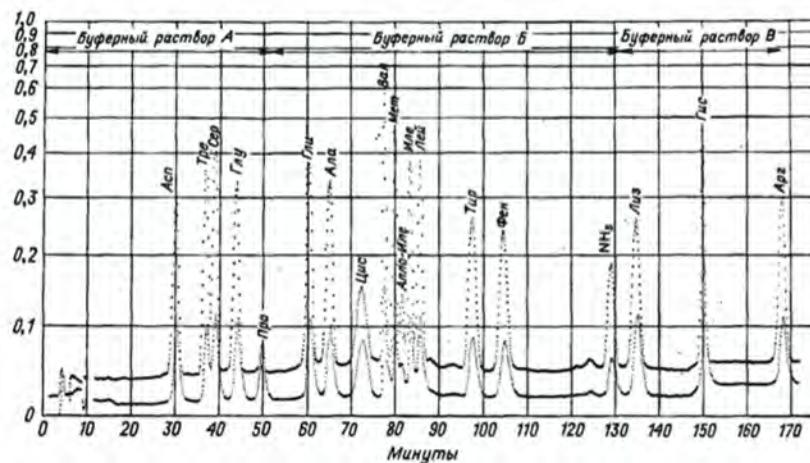


Рисунок 1. График выхода пиков аминокислот на колоночной хроматограмме при элюировании.
Пример стандартной хроматограммы.



цитратные буферные растворы с pH 3,25 и 4,25. Для десорбции наиболее прочно связанных основных аминокислот выбирают буферный раствор с pH 5,28 и более высокой ионной силой (0,35 M). Стандартный порядок элюирования и выход пиков аминокислот представлены на рис. 1.

Наиболее распространенным и часто применяемым является нингидриновый метод определения аминокислот с пост-колоночной дериватизацией.

Нингидрин реагирует как с первичными, так и с вторичными аминокислотами. Реакция происходит при температуре 130°C, в результате образуются сине-фиолетовые комплексы, поглощающие при 570 nm и 405 nm (рис. 2).

Современные автоматические анализаторы аминокислот позволяют определять очень малые количества вещества (единицы пикомолей). Для проведения тако-

го анализа требуется также и очень малый объем образца - всего 0,1-1 нмоль белка, время анализа составляет порядка 1 ч (рис. 3).

Выходящая с колонки жидкость поступает в смеситель C1, содержащий раствор нингидрина (Hg), который подается насосом H2. Эта реакционная смесь проходит через капилляр Кп, погруженный в водяную баню с температурой 100°C, где и происходит характерная для аминокислот цветная реакция. Далее окрашенный элюат проходит через спектрофотометр Ф, показания которого регистрируются самописцем [13].

Такой принцип метода соблюдается в большинстве автоматических анализаторов, приборы отличаются по степени автоматизации и техническим возможностям, в том числе - по программному обеспечению.

По полученным пикам аминокислот при помощи графика и ком-

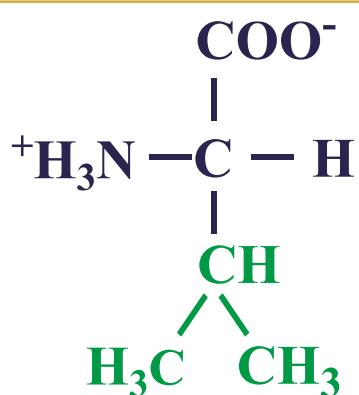


Рисунок 4. Химическая формула валина

пьютерных программ (или полностью в компьютерной программе - в зависимости от степени автоматизации и компьютеризации метода) проводят расчет содержания аминокислот в образце.

Оптимизация содержания валина в рационах птицы. Валин - алифатическая гидрофобная альфа-аминокислота (рис. 4), неполярная, кодирована в ДНК кодонами GUU, GUC, GUA, и GUG. Вместе с лейцином и изолейцином валин относится к аминокислотам с разветвленной цепью [14]. В рационе цыплят-бройлеров валин 4-я лимитирующая аминокислота, следующая после треонина [15].

Валин относится к незаменимым аминокислотам - они жизненно необходимы для животных и человека, но не образуются в организме в ходе метаболизма, поэтому должны поступать в организм извне. К синтезу валина и других незаменимых аминокис-

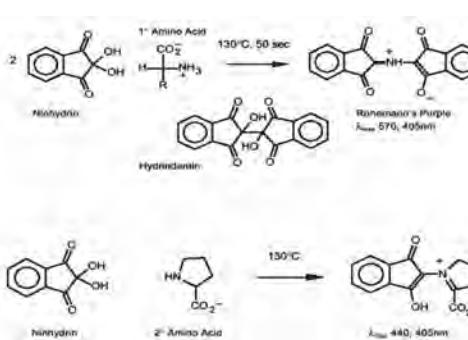


Рисунок 2. Реакция с нингидрином.

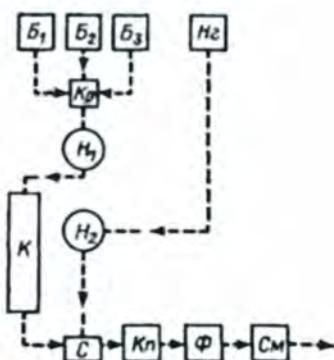


Рисунок 3. Общая схема работы автоматического аминокислотного анализатора (по [13]).



лот в природе способны растения и некоторые микроорганизмы, в том числе входящие в состав микрофлоры ЖКТ. Однако количество валина, которое может быть произведенено микрофлорой организма-хозяина, недостаточное, поэтому при дефиците аминокислоты в рационе необходимо обогащать его добавками валина.

Валин входит в состав практически всех белков, как структурных, так и регуляторных, отвечающих за формирование гидрофобных свойств молекул. Валин выполняет в организме ряд важных функций, в том числе энергетическую и строительную (одна из главных аминокислот в формировании и энергетическом обеспечении мышечной ткани), а также является предшественником пантотеновой кислоты (витамина В3).

В рационах птицы валин присутствует в составе протеиногенных ингредиентов комбикорма, в

том числе сои и других зернобобовых, шротов и белковых вторичных продуктов животного происхождения. Количество валина в различных базовых вариантах рационов для птицы варьирует от 2 до 8 г/кг корма, рекомендуемое среднее процентное содержание - 0,7-0,8%, рекомендуемая пропорция лейцин:изолейцин:валин в рационе - 2-1:1:1 [4,7]. Дефицит валина в рационе птицы снижает прирост массы тела и конверсию корма, развиваются патологии перьев, печени, кожи, мышц и суставов [4,8,9,16] (рис. 5). При дефиците валина вероятно развитие мышечной дистрофии различной степени, птица не набирает достаточную мышечную массу. После определения содержания валина в случае его дефицита в комбикорм вводят добавку чистой аминокислоты, оптимизируя его количество применительно к данному рецепту рациона.

Для этого сначала методом аминокислотного анализа определяют содержание соответствующих аминокислот в сырье и комбикормах и проводят оптимизацию рациона путем нормирования по необходимым аминокислотам. Пики валина на стандартной хроматограмме регистрируются, как правило, между цистином и метионином, время выхода 70-90 мин при стандартном проведении анализа.

В рационах валин балансируют как правило с глутаматом (чтобы добавить больше валина, уменьшают количество глутаминовой кислоты, в связи с чем уровень азота в комбикорме сохраняется стандартным).

Таким образом, с применением аминокислотного анализа, валин (как и другие аминокислоты) в комбикормах становится возможным балансировать не «валовым» методом, за счет нормирования общего протеина по лимитирующему аминокислоте (тогда, как правило, получается, что когда эта кислота будет в норме, многие другие могут оказаться в избытке, что негативно сказывается на здоровье и продуктивности птицы), а направленно, путем введения в рацион необходимого количества данной аминокислоты как добавки. Так комбикорм становится полноценным без перенасыщения протеином, что важно для про-



Рисунок 5. Нарушение оперения при дефиците валина в рационе (по [8]).

Таблица 1. Сопоставление возможных расходов и прибылей при проведении аминокислотного анализа комбикормов и оптимизации рациона

Дополнительные расходы на реализацию задачи	Сокращение расходов при выполнении условий задачи
Проведение анализа кормов на содержание отдельных аминокислот и соответствующих аналитических балансовых расчетов рационов по полученным данным.	Уменьшение расхода готового комбикорма на получение единицы продукции (и на 1 гол. в день) до 5%.
Приобретение коммерческих аминокислотных добавок.	Уменьшение расходов на сверхплановые санитарно-гигиенические мероприятия и расходные материалы (подстилка).

изводства как с зоотехнической, так и с экономической точки зрения.

Высокие технические возможности дифференциального аминокислотного анализа методом ВЭЖХ на автоматических анализаторах делают возможным составление комбикормов полноценными по общему содержанию протеина (чтобы количество протеина было не ниже физиологических потребностей организма для жизни, роста и набора массы), а также сбалансированным по содержанию отдельных аминокислот без создания в рационе излишка общего протеина. Такой анализ является эффективным инструментом для решения задачи лимитирующего фактора (бочки Либиха) и оптимизации рационов для птицы различных кроссов в производственных условиях.

Выводы. Сопоставление возможных расходов и прибылей при проведении аминокислотного анализа комбикормов и оптимизации рациона приведено в

табл. 1.

Измеряя содержание отдельных аминокислот в кормовом сырье и в рационе, возможно:

- обеспечить оптимальное количество протеина корма;
- нормировать его по содержанию отдельных аминокислот при помощи биодобавок отдельных чистых аминокислот (коммерческие фирменные препараты).

В результате становится возможным:

- создать рацион, который будет полноценным и максимально сбалансированным по протеиновому компоненту и отдельным аминокислотам;
- уменьшить перерасход корма, как в расчете на 1 гол. в день, так и в расчете на 1 кг производимой продукции за цикл выращивания;
- уменьшить экономические затраты на корма;
- избежать избытка протеина в кормах, снизить процент непереваримого протеина и избыточное выделение азота с пометом;

- снизить себестоимость производства единицы продукции при обеспечении ее эквивалентного или более высокого качества и гастрономической привлекательности, т.е. обеспечить возможности для двухстороннего увеличения прибыли от производства за счет уменьшения расходов и увеличения прибыли от реализации продукции.

Литература

1. Макарцев Н.Г. Кормление сельскохозяйственных животных: учебник для ВУЗов. - 3-е изд., перераб. и дополн. - Калуга: Ноосфера, 2012. - С. 51-61, 243-245.
2. Калашников А.П. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. - Справочное пособие; 3-е изд., перераб. и дополн. / Под ред. А.П. Калашникова, В.И. Фисинина, В.В. Щеглова, Н.И. Клеиненкова. - М., 2003. - 456 с. - С. 17-21.
3. Буряков Н.П. Кормление животных: / Н.П. Буряков, М.А. Бурякова, В.Г. Кослапова, В.Г. Епифанов, А.С. Заикина. - М.: Электро Принт, 2019. - С. 15.
4. Подобед Л.И. Аминокислоты в питании сельскохозяйственных животных и птицы. - М., Одесса: Акватория, 2017. - С. 14-18, 115-117.
5. Фисинин В.И. Кормление сельскохозяйственной птицы / В.И. Фисинин, И.А. Егоров, И.Ф. Драганов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - С. 14-16.
6. Sell J.L. Nutrient Requirements of Poultry. 9th Rev. Ed. (NRC 1994) / J.L. Sell, F.H. Kratzer, D.J.D. Latshaw, S.L.

- Leeson, E.T. Moran, C.M. Parsons, P.W. Waldroup. - Washington, D.C.: National Academy Press, 1994. - 174 p.
7. Dobson D.C. A determination of the essential amino acid proportions needed to allow rapid growth in chicks / D.C. Dobson, J.O. Anderson, R.E. Warnick // J. Nutr. - 1982. - V. 64. - P. 67-75.
8. Anderson H.C. Gross abnormalities in chicks fed on amino acid deficient diets / H.C. Anderson, R.E. Warnick // Poult. Sci. - 1967. - V. 46, No 4. - P. 856-861.
9. Robel E.J. A feather abnormality in chicks fed diets deficient in certain amino acids // Poult. Sci. - 1977. - V. 56, No 6. - P. 1968-1971.
10. Райлс А. Основы органической химии / А. Райлс, К. Смит, Р. Уорд; Перевод с англ. К. П. Бутина. - М.: Мир, 1983. - 352 с.
11. ГОСТ 32195-2013 Корма, комби- корма. Метод определения содержания аминокислот. - М.: Стандартинформ, 2016. - 43 с.
12. Северин С.Е. Практикум по биохимии: Учеб. пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. - 2-е изд., перераб. и дополн. - М.: Изд.-во МГУ, 1989. - С. 125-129.
13. Дэвени Т. Аминокислоты, пептиды и белки / Т. Дэвени, Я. Грэй; пер. с англ. А.Н. Маца, под ред. Р.С. Незлина. - М.: Мир, 1976. - С. 173-186.
14. Campos A. Digestible valine:lysine ratios for broilers during the starter and finisher periods / A. Campos, E.T. Nogueira, L.F. Albino, H. Rostagno // Poult. Sci. - 2009. - V. 88. - P. 109.
15. Cmiljanic R. New additives in poultry nutrition. / R. Cmiljanic, Z. Pavlovski, S. Trenkovski, M. Lukic // Biotechnol Anim Husb. - 2003. - V. 19. - P. 357-362. (Proc.
- 7th International symposium 'Modern Trends in Livestock Production', Belgrade, 2003).
16. Farran M.T. Valine deficiency. 1. The effect of feeding a valine-deficient diet during the starter period on performance and feather structure of male broiler chicks. 2. The effect of feeding a valine-deficient diet during the start period on performance and leg abnormalities of male broiler chicks / M.T. Farran, O.P. Thomas // Poult. Sci. - 1992. - V. 71, No 11. - P. 1879-1890.

Для контакта с авторами:**Буряков Николай Петрович****Щукина Светлана Анатольевна****Горст Ксения Андреевна****Тел.: 8(965)119-06-73****E-mail: ksengo87@gmail.com**

The Significance of Amino Acid Analysis of Compound Feeds and Feed Ingredients for Poultry for the Effective Balancing of Dietary Amino Acid Profiles and Optimization of Dietary Valine Content

Buryakov N.P., Shchukina S.A., Gorst K.A.

Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev's Agricultural Academy

Summary: The balancing of dietary protein content for animals is an extremely important aspect of diet formulation affecting the productive performance, product quality, and profitability of animal production. Compound feeds for poultry should contain balanced amounts of total protein and individual amino acids. Poultry is extremely sensitive to the dietary contents of protein and amino acids; any change in the latter will rapidly result in the alterations of the productive performance. The more valuable dietary protein balanced in amino acid contents is fed to poultry, the better is productivity, product quality, and production efficiency (in the terms of profitability). The analysis on automatic analyzers using the ion-exchange column HPLC is the most common and modern method for the qualitative and quantitative determination of amino acids (including valine) in compound feeds and feed ingredients. Optimal dietary valine content is essential for health promotion in poultry; valine is usually balanced with glutamate when formulating the diets.

Key words: protein, amino acids, balancing, productivity, ion-exchange chromatography, profitability.