

KONCENTRACIJA GLUTATIONA I TBARS U KRVI PILIĆA HRANJENIH DODATKOM BILO MINERALNOG ILI KELATNOG CINKA

CONCENTRATION OF GLUTATHIONE AND TBARS IN THE CHICKEN FED DIFFERENT LEVELS OF MINERAL OR CHELATED ZINC

V. Mitin¹, Bojana Gradinski-Vrbanac¹, H. Mazija¹, I. Kiš², Z. Pišl³

Izvorni znanstveni članak - Original scientific paper

UDK: 636.5:636.087.72

Primljeno - Received: 15. rujan - september 1995.

SAŽETAK

Istražena je koncentracija glutationa i TBARS u krvi pilića koji su u hrani primali kelatni, odnosno mineralni cink u različitom omjeru. Koncentracija glutationa u krvi pilića tijekom pokusa od prvog do 42. dana života, kretala se između 1,80 i 2,89 m mol/L, a koncentracija TBARS između 1,07 i 5,12 μ mol/l.

Skupina pilića koji su primali u hrani samo kelatni cink, imala je sedmog dana života smanjenu koncentraciju glutationa u odnosu na ostale pokusne skupine što su jele samo mineralni ili mineralni i kelatni cink. U ovih pilića tijekom pokusa nalazi se i povećana koncentracija TBARS u odnosu na ostale skupine.

Gljučne riječi: glutation, lipidna peroksidacija, kelatni cink, mineralni cink, pilići

UVOD

Glutathion je jedan od metabolita što se neprestano stvara u stanicama organizma gdje sudjeluje kao bitna tvar u različitim procesima detoksikacije (Shviro i Shakali, 1987). Osobito velike količine glutathiona nalaze se u eritrocitima peradi (Smith, 1974). Tu služe kao reducirajuća tvar, odgovorna za očuvanje staničnih opni od reaktivnih oblika kisika i drugih elektrofilnih kationa, kakav je primjerice hemin. S heminom glutathion tvori kompleks i tako ga sprečava da u stanici inhibira gljučne enzime, odgovorne za održavanje funkcije eritrocita (Harvey i sur., 1982). Pri smanjenoj koncentraciji glutathiona, molekula hemoglobina se oksidira što značajno skraćuje vijek eritrocita (Beutler, 1969).

Na mjestu oštećenja tkiva nakupljaju se neutrofilni leukociti te fagocitiraju oštećene stanice, mikroorganizme i druge tvari. Utvrđeno je također, da u tom procesu neutrofilni leukociti izlučuju velike količine reaktivnih oblika kisika poput superoksid aniona (O_2^-), vodikovog peroksida (H_2O_2) i hipoklorne kiseline (HOCl). Iako je prvenstvena zadaća tih tvari pospješiti fagocitozu i probavu ostataka stanica, one također mogu izazvati oštećenje okolnih tkiva (Miura i Ogiso, 1991).

¹ Vladimir Mitin, prof. dr. sc., Hrvoje Mazija, prof. dr. sc., Bojana Gradinski-Vrbanac, dr. sc., znan. sur., Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Hrvatska-Croatia

² Ivan Kiš, dipl. ing., "Valpovka" d.d., A.B. Šimića 24, 32550 Valpovo

³ Zoran Pišl, prof. dr. sc., Institut za medicinska istraživanja, Ksaverska 2, 10000 Zagreb, Hrvatska-Croatia

Fliss i Menard (1992) dokazali su da se pri neposrednim oksidacijskim oštećenjima tkiva mobilizira cink iz staničnih metalbjelančevina (kelata) te da je on važan u detoksikacijskim procesima. Istražujući način djelovanja cinka Chvapil i sur. (1972) su utvrdili da cink stabilizira biološke opne in vivo i in vitro, inhibirajući peroksidaciju lipida.

Određivanje koncentracije rekativnih proizvoda tiobarbiturne kiseline pri lipidnim peroksidacijama (TBARs - ThioBarbituric Acid Reactive products of lipid peroxidation), pokazuje opseg peroksidacije različitih masnih kiselina. Što je koncentracija TBARs u krvi veća to je veći opseg lipidne peroksidacije u organizmu.

Očevidno je da u sprečavanje peroksidacijskih procesa u organizmu bitnu ulogu imaju i glutation i cink. Zato je posebice važno da u hrani životinja bude dovoljno cinka u obliku u kojem se dobro resorbira iz crijeva.

U vlastitom istraživanju nastojalo se utvrditi da li u hranu dodani cink, bilo mineralni ili keliran s

metioninom, podjednako zadovoljava potrebe tovnih pilića za tim metalom.

MATERIJAL I METODE

U pokusu je korišteno 200 tovnih pilića komercijalnog hibrida Avian, nabavljenih iz Valpova ("Valpovka" d.d.). Kao jednodnevni, raspoređeni su u pet skupina po 40 pilića te označani s A, B, C, D i E. Skupina A primala je u hrani 100% keliranog cinka, skupina B 75% keliranog i 25% mineralnog, skupina C 50% keliranog i 50% mineralnog, skupina D 25% keliranog i 75% mineralnog te skupina E 100% mineralnog cinka.

Pilići su tijekom 28 dana jeli početnu, a zatim po tjedan dana završnu I te završnu II krmnu smjesu. Potrebna količina hrane proizvedena je u "Valpovki" d.o.o., mješaonici stočne hrane iz Valpova. Hranu i vodu pilići su uzimali ad libitum. Sirovinski sastav krmnih smjesa, kemijska analiza i sastav premiksa prikazani su na tablicama 1, 2 i 3.

Tablica 1: Sirovinski sastav krmnih smjesa što su ih jeli pilići u tijeku pokusa

Table 1: Raw material composition of feedstuff mixture fed to chickens during the trial

Krmivo ili sirovina Feedstuff	Početna krmna smjesa - Starting	Završna krmna smjesa - Final	
		I.	II.
Kukuruz - Maize	56.8	62.9	73.4
Stočno brašno - Wheat brane	4.0	4.0	5.0
Kvasac - Yeast	1.0	-	-
Lucerna - Alfalfa meal	2.0	5.0	-
Suncokret sačma - Sunflower meal	4.0	3.0	5.0
Sojina sačma - Soybean meal	20.0	14.0	14.4
Riblje brašno - Fish meal	7.0	5.0	-
Mesno brašno - Meat meal	1.0	2.0	-
Mast - Fat	2.0	2.0	-
Sol - Salt	0.2	0.2	0.2
Vapnenac - Limestone	0.45	0.35	0.45
Dikalcij fosfat - Dicalcium phosphate	0.55	0.55	0.55
Premiks - Premix	1.0	1.0	1.0
UKUPNO - TOTAL	100.0	100.0	100.0

Tablica 2. Kemijski sastav krmnih smjesa

Table 2: Chemical analysis of mixture

	Početna krmna smjesa - Starting	Završna krmna smjesa - Final	
		I.	II.
S. bjelančevine, C. protein	21.15	18.35	15.00
S. mast, C. fat	5.33	5.55	3.78
S. vlaknina, C. fiber	4.12	4.13	3.80
Lizin, Lysine	1.17	0.95	0.67
Metionin + cistin, M + C	0.73	0.64	0.65
Kalcij, Ca	0.83	0.85	0.37
Fosfor, ukupni, P total	0.65	0.61	0.42
Natrij - Na	0.21	0.17	0.11
ME, Kcal kg	2929.26	2965.68	2975.12

Tablica 3. Sastav premixa

Table 3. Premix composition

	u 1 kg premiksa	u 1 kg hrane
Vitamin A, i.j.	1200000	12000
Vitamin D3, i.j.	200000	2000
Vitamin E, mg.	3000	30
Vitamin K3, mg.	150	1.50
Vitamin B1, mg.	135	1.35
Vitamin B2, mg.	600	6
Vitamin B6, mg.	360	3.60
Vitamin B12, mcg.	1000	10
Pantotenska kiselina, mg.	1500	15
Niacin, mg.	2500	25
Folna kiselina, mg.	100	1
Kolin klorid, mg.	50000	500
Željezo, mg.	2000	20
Bakar, mg.	200	2
Mangan, mg.	6000	60
Cink, mg.	4000	40
Magnezij, mg.	10000	100
Kobalt, mg.	20	0.20
Selen, mg.	15	0.15
Jod, mg.	100	1
Diklavet, mg.	100	1
Antioksidant, mg.	14700	147

Pokusni pilići izvagani su prilikom razvrstavanja u skupine, a zatim svakih sedam dana, sve do kraja pokusa u dobi od 42 dana. Uz tjelesnu masu, zabilježen je i tjedni utrošak hrane po skupinama pilića.

Svi su pilići vakcinirani protiv Marekove bolesti (vakcina MARIKAL® primijenjena je intramuskularno), u dobi od devet te 18 dana protiv gumborske bolesti (vakcina GUMBOKAL primijenjena je oba puta u pitkoj vodi) te 21. dana života protiv newcastleske bolesti okulonazalno, vakcinom od soja La Sota (PESTIKAL). Sve upotrijebljene vakcine proizvod su PLIVA d.d., Zagreb.

Krv za potrebne pretrage uzeta je pilićima prvog dana života, punkcijom srca, a zatim u tjednim razmacima do kraja pokusa, punkcijom krilne vene. Dodanim heparinom spriječeno je grušanje krvi.

U punoj krvi određene su koncentracije glutaciona i TBARs, probama što su ih opisali Beutler i sur. (1963), odnosno Trotta i sur. (1982).

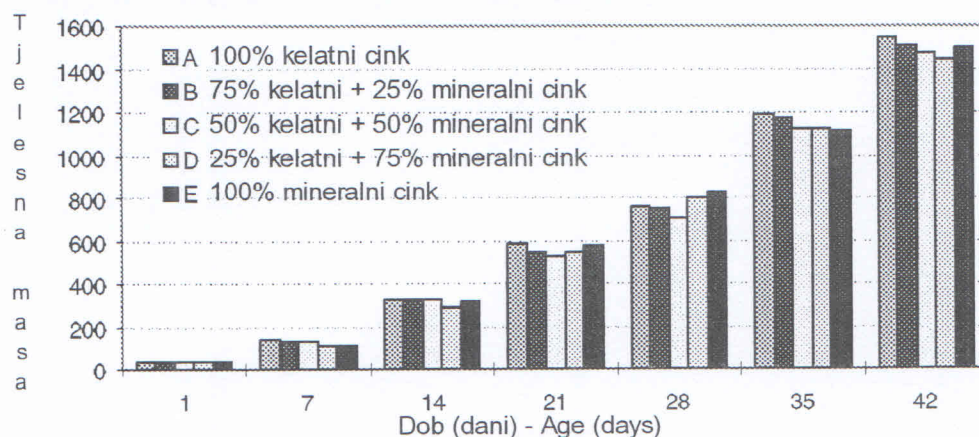
Rezultati su opisani kao postignute srednje vrijednosti po skupinama pilića, u tjednim razmacima. Značajnost razlika između njih provjerena je Kruskal - Wallis analizom.

REZULTATI

Slika 1. i tablica 4. prikazuju prosječne vrijednosti tjelesnih masa pilića tijekom 42 dana pokusa. Prvog dana života tjelesna masa pilića iznosila je 36-39 g, sedmog 107-138 g, 14. dana 288-330 g, 21. dana 527-587, 28. dana 705-824 g, 35. dana 1117-1194 g te 42. dana 1438-1546 g.

Slika 1: Prosječna tjelesna masa pilića tijekom pokusa (g)

Figure 1: Average body mass of chickens during the trial (g)



Tablica 4. Prosječna tjelesna masa pilića (g)

Table 4. Average body mass of chickens

Skupina - Group	Dob pilića (dani) - Age of chickens (days)						
	1.	7.	14.	21.	28.	35.	42.
A	38	138	330	587	767	1194	1546
B	39.1	130	326	552	749	1170	1505
C	38	129	323	527	705	1122	1469
D	37	115	288	545	796	1122	1438
E	37.5	107	316	580	824	1117	1495

Pretvaranje hrane u kg tjelesne mase po skupinama pilića iznosilo je: A 1,90 kg, B 1,82, C 1,95, D 1,98 i u E skupini 1,88 kg.

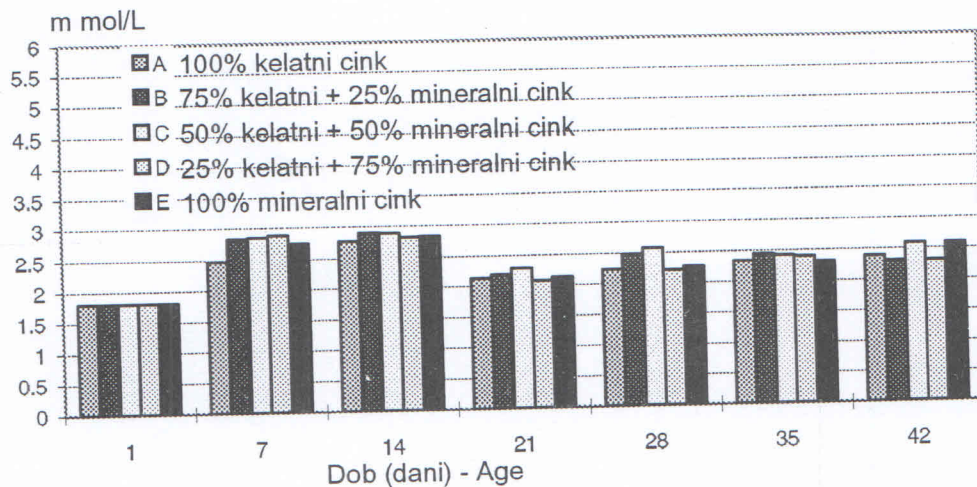
Na slici 2. i tablici 5 prikazana je koncentracija glutaciona u krvi pilića od 1. do 42. dana pokusa. Prvog dana, koncentracija glutaciona iznosila je 1,80 mmol/L. Sedmog dana u skupini A 2,46 mmol/L, a u svih ostalih skupina pilića od 2,74 do 2,84 mmol/L. Razlika koncentracije glutaciona u skupini A i svih ostalih skupina pilića statistički je značajna ($P < 0,0002$).

U dobi pilića od 14 dana koncentracija glutaciona u krvi pilića svih skupina gotovo je istovjetna a razlika statistički nije značajna, iznosi

od 2,76 do 2,89 mmol/L. Trećeg tjedna pokusa koncentracija glutaciona u svih skupina opada te se kreće od 2,07 do 2,27 mmol/L. Isto tako, razlike nisu statistički značajne. Zatim, 28. dana, u pilića svih skupina dolazi do porasta koncentracije glutaciona. One se kreću od 2,19 do 2,56 mmol/L te su statistički međusobno značajno različite ($P < 0,004$). U dobi od 35 dana ponovo se koncentracije glutaciona izjednačuju između pojedinih skupina (od 2,32 do 2,44 mmol/L) te razlike međusobno nisu statistički značajne. Na kraju pokusa, u dobi pilića od 42 dana, koncentracija glutaciona ponovo se značajno razlikuje u pilića pojedinih skupina ($P < 0,007$) a kreću se od 2,31 do 2,58 mmol/L.

Slika 2: Koncentracija glutaciona

Figure 2: Glutathione concentration



Tablica 5. Koncentracija glutaciona (m mol/L)

Table 5. Glutathione concentration (m mol/L)

Skupina - Group	Dob pilića (dani) - Age of chickens (days)						
	1.	7.	14.	21.	28.	35.	42.
A	1.80	2.46	2.76	2.12	2.22	2.34	2.39
B	1.80	2.82	2.89	2.17	2.47	2.44	2.31
C	1.80	2.84	2.88	2.27	2.56	2.42	2.58
D	1.80	2.87	2.81	2.07	2.19	2.40	2.31
E	1.80	2.74	2.82	2.12	2.26	2.32	2.58

Najveća koncentracija glutationa u cijelom tijeku pokusa zabilježena je sedmog dana i to u svih osim pokusne skupine A gdje ga je najviše 14. dana pokusa.

Na slici 3. i tablici 6. prikazana je koncentracija TBARS u krvi pilića od 1. do 42. dana pokusa.

Slika 3: Koncentracija TBARs
Figure 3: TBARs concentration

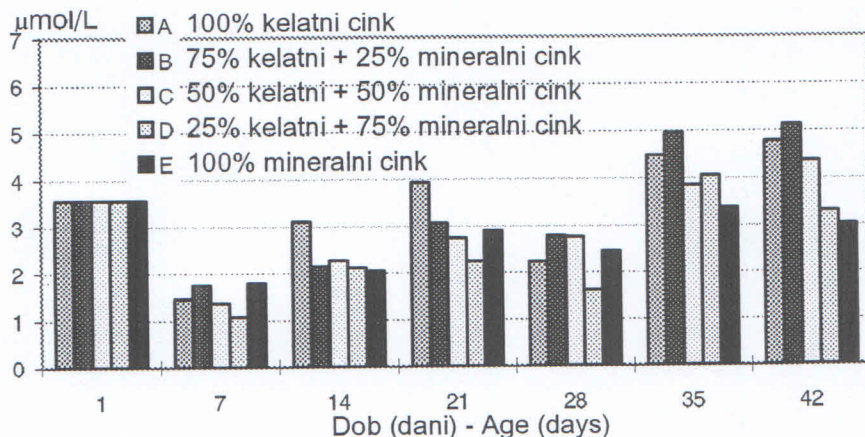


Table 6. Koncentracija TBARs (μ mol/L)

Table 6: TBARs concentration (μ mol/L)

Skupina - Group	Dob pilića (dani) - Age of chickens (days)						
	1.	7.	14.	21.	28.	35.	42.
A	3.57	1.45	3.12	3.93	2.22	4.48	4.77
B	3.57	1.76	2.14	3.08	2.78	4.96	5.12
C	3.57	1.37	2.26	2.75	2.76	3.84	4.35
D	3.57	1.07	2.12	2.24	1.64	4.05	3.31
E	3.57	1.80	2.04	2.90	2.45	3.37	3.02

Prvog dana pokusa koncentracija TBARs iznosila je 3,57 μ mol/L. Sedmog dana života pilića dolazi do značajnog pada TBARs u svih skupina, a vrijednosti se kreću od 1,07 do 1,80 μ mol/L, a razlike između skupina nisu značajne. U pilića dobi od 14 dana dolazi do manjeg porasta koncentracije TBARs (od 2,04 do 2,26 μ mol/L) osim u skupini A gdje su vrijednosti, u odnosu na sedmi dan, gotovo udvostručene te prosječno iznose 3,12 μ mol/L.

Razlika koncentracije TBARs skupine A i ostalih skupina pilića statistički je značajna ($P < 0,0001$).

U iste skupine pilića (skupina A) i 21. dana pokusa uočava se daljnji porast koncentracije TBARs, na vrijednost 3,93 μ mol/L, dok je u ostalih skupina od 2,24 do 3,08 μ mol/L. Ova je razlika, u odnosu na ostale skupine, također statistički značajna ($P < 0,005$). U daljnjem tijeku pokusa, u dobi od 35 dana dolazi do određenog smanjenja koncentracija

TBARs u svih skupina, pa se vrijednosti kreću od 1,64 do 2,78 $\mu\text{mol/L}$. Te su razlike također statistički značajne ($P < 0,0001$).

Ponovno povećanje koncentracije TBARs bilježi se 38. dana pokusa u svim skupinama pilića te se one kreću od 3,37 do 4,96 $\mu\text{mol/L}$. Razlike između skupina statistički su značajne ($P < 0,0000008$).

Na kraju pokusa, u dobi pilića od 42 dana, koncentracija TBARs kretala se od 3,02 do 5,12 $\mu\text{mol/L}$ pa je i ta razlika između pojedinih skupina značajna ($P < 0,0006$).

Uspoređujući koncentracije TBARs između skupina tijekom trajanja pokusa, nalazi se da su najveće u krvi pilića skupina A i B, a najniže u skupina D i E. Vrijednosti TBARs skupine C nalazi se između ovih skupina.

RAZMATRANJE REZULTATA

Postignute tjelesne mase te pretvaranje hrane pokazuju da je pokus proveden veoma uspješno. Prosječna tjelesna masa pilića skupine A nešto je veća negoli ostalih, ali ta razlika nije značajna. Isto tako nema značajnih razlika u iskorištavanju hrane pilića pojedinih skupina. Nalaz pokazuje da oblik cinka u hrani pilića, mineralni ili kelatni, ne utječe na njihovu tjelesnu masu niti iskorištavanje hrane.

Istraživanjem glutaciona u krvi dokazana je njegova najmanja koncentracija neposredno nakon leženja pilića. Najveća, ustanovljena je sedmog dana života u skupina B, C, D i E, a 14. dana i u pilića skupina A.

Od 14. do 42. dana života pilića, koncentracija glutaciona gotovo je istovjetna u pilića svih pokusnih skupina a razlike se uočuju 28. i 42. dana kada su i statistički značajne. Međutim, smanjena koncentracija glutaciona u krvi pilića skupine A kao i produženo vrijeme do 14. dana potrebno za postizanje njegove najveće koncentracije, moglo bi se povezati s povećanom potrošnjom glutaciona u stanicama organizma pileta te s nedovoljno raspoloživog cinka. Naime, pilići skupine A primali su u hrani samo kelirani, a svi ostali osim keliranog i određenu količinu mineralnog cinka. To je jedina razlika kojoj se može pripisati razlika postignutih koncentracija glutaciona u krvi pokusnih skupina. Moguće je, da zbog nedostatka slobodnog cinka u organizmu,

dolazi do veće potrošnje glutaciona u procesu zaštite od lipidne peroksidacije, pa to dovodi do smanjenja njegove koncentracije u krvi.

Takvom mišljenju ide u prilog činjenica da cink stabilizira biološke opne in vivo i in vitro te da značajno smanjuje razinu lipidne peroksidacije mikrosoma i mitohondrija stanica jetre (Chvapil i sur., 1972). Nadalje, Chvapil i sur. (1974) dokazali su u istraživanjima, da cink dodan u hranu pokusnim štakorima čini eritrocite rezistentnijim prema osmotskoj hemolizi, dok učinak izostaje ako se cink primijeni ispranim eritrocitima in vitro.

Povećana koncentracija TBARs u krvi pilića skupine A u dobi od 7. do 28. te 35. do 42. dana pokusa te u manjoj mjeri i u skupine B (35.-42. dana pokusa) pokazuje povećani opseg lipidne peroksidacije. Očevidno su pilići skupine A uzimali hranom jedino kelirani cink, a skupine B tek 25% mineralnog te 75% keliranog cinka. To je moglo značiti nedostatak raspoloživog ionskog cinka u organizmu što smanjuje zaštitu biomembrana od lipidne peroksidacije.

Temeljem dobivenih rezultata pokusa, te spoznaje o važnosti cinka, uočava se da je za piliće osobito važno osigurati dovoljno anorganskog cinka u hrani, kako bi se sigurno zaštitile biološke membrane od lipidne peroksidacije.

LITERATURA

1. Beutler, E., O. Duron, Kelly Mikus (1963): Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 61, 882-888.
2. Beutler, E. (1969): Drug-induced hemolytic anemia. *Pharmacol. Rev.* 21, 73-103.
3. Chvapil, M., J. N. Ryan, C. F. Zukoski (1972): Effect of zinc on lipid peroxidation in liver microsomes and mitochondria. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 141, 150-153.
4. Chvapil, M., Y. M. Peng, A. L. Aronson, C. F. Zukoski (1974): Effect of zinc on lipid peroxidation and metal content in some tissues of rats. *J. Nutr.* 104, 434-443.
5. Fliiss, H., M. Menard (1992): Oxidant - Induced Mobilization of Zinc from Metallothionein. *Arch. Biochem. Biophys.* 293, 195-199.
6. Harvey, J. W., E. Beutler (1982): Binding of heme by glutathione S-transferase: A possible role of the erythrocyte enzyme. *Blood* 60, 1227-1230.

7. Miura, T., T. Ogiso (1991): Lipid Peroxidation of the Erythrocyte Membrane Couased by Stimulated Polymorphonuclear Leukocytes in the Presence of Ferritin. Chem. Pharm. Bull. 39, 1507-1509.
8. Smith, J.E. (1974): Relationship of in vivo erythrocyte glutathione flux to the oxidized glutathione transport system. J. Lab. Clin. Med. 83, 444-450.
9. Shviro, Y., N. Shakali (1987): Glutathione as a scavenger of free Hemin. Biochem. Pharmacol. 36, 3801-3807.
10. Trotta, R. J., S. G. Sullivan, A. Stern (1982): Lipid peroxidation and haemoglobin degradation in red blood cells exposed to t-butyl hydroperoxide. Biochem. J. 204, 405-415.

SUMMARY

The level of glutathione and Thiobarbituric Acid Reactive products of lipid peroxidation (TBARs) in blood of chickens fed different levels of mineral and chelated zinc, respectively, was investigated. The concentration of glutathione in blood of chickens in the course of the trial from the first till 42nd day of life varied between 1.80 and 1.89 m mol/L. The concentration of TBARs in the blood of chickens varied in the course of trial between 1.07 and 5.12 μ mol/L. In comparison to all other groups of chickens fed combinations of different levels of chelated and mineral or only mineral zinc, the group one receiving only chelated zinc had the lowest level of glutathione at the seventh day of life. In the same group of chickens the highest level of TBARs was recorded during the 42 days of trial and was higher compared to all other groups of chickens.

Key words: glutathione, lipid peroxidation, chelated zinc, mineral zinc, chicken



Proizvodnja i trgovina poljoprivrednim i prehrambenim proizvodima

PRERADA ULJARICA

bjelančevinaste sirovine za stočnu hranu: soja, sojine, suncokretove i repičine sačme

PROIZVODNJA STOČNE HRANE

potpune i dopunske krmne smjese, žitarice i druge sirovine za stočnu hranu

PROIZVODNJA I PROMET STOKE I MESA

PROIZVODNJA I TRGOVINA CVIJEĆEM

UVOZ - IZVOZ

AGROKOR d.d., Zagreb, Gajeva 5

Telefoni: 01 / 428-011

01 / 428-298

01 / 426-638

Telefaks: 01 / 416-680

01 / 423-446