УДК: 577.16:636.2

Скіп О.С., асистент, **Буцяк В.І.**, д.с.-г. наук, професор ©
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

ВМІСТ БІЛКА ТА АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД БІОМАСИ EISENIA FOETIDA, КУЛЬТИВОВАНИХ НА СУБСТРАТАХ ІЗ ПІДВИЩЕНИМ ВМІСТОМ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ТЛІ ДІЇ ЦЕОЛІТУ

Досліджено вплив цеолітового борошна на вміст загального білка та амінокислотний склад біомаси Eisenia foetida культивованих на субстратах з підвищеним вмістом важких металів.

Ключові слова: *Eisenia foetida, вміст білка, амінокислотний склад, субстрат, вермікультура, цеоліт, важкі метали.*

Серед величезної кількості нерозв'язаних проблем людства найбільш складною та актуальною є ліквідація дефіциту білка. У деякій мірі дефіцит білка покривається за рахунок використання високобілкових сільськогосподарських культур; жмихів та шротів олійних; рибного та м'ясо-кісткового борошна. Однак, проблема виробництва кормового білка залишається невирішеною, його дефіцит складає 28-35%. Ресурси білка тваринного походження обмежені. Розраховано, що при максимально можливих об'ємах виробництва рибного і м'ясо-кісткового борошна, сухого знежиреного молока та цільного молока потреби тваринництва можуть бути забезпечені лише на 28–30 % [1].

Різке підвищення цін на м'ясо-кісткове та рибне борошно, що є основним джерелом білка тваринного походження, сприяло пошуку та використанню в комбікормовій промисловості більш дешевих видів сировини, в тому числі нетрадиційні та побічні продукти виробництва [2].

Останніми роками у різних країнах світу спостерігається підвищення інтересу до технологій переробки органічних відходів за допомогою спеціалізованих дощових черв'яків у зв'язку із можливістю використання її як джерела повноцінного білка для задоволення потреб тваринництва [3]. У процесі вермікультивування гібрид червоних каліфорнійських черв'яків нарощує свою біомасу, у якій знаходиться 17–23% сухої речовини, понад 60% з якої складає сирий протеїн. Слід зазначити, що хімічний склад організму олігохет значною мірою залежить від характеру живильного середовища [4].

Метою досліджень було дослідити вплив цеолітового борошна на вміст загального білка та амінокислотний склад біомаси олігохет, яких культивували на субстраті з підвищеним вмістом важких металів.

Матеріали і методи досліджень. Для культивування Eisenia foetida використовували субстрат, який готували з опалого листя дерев, з різних екологічних зон (I – контроль – умовно екологічно чиста зона Брюховицького

© Скіп О.С., Буцяк В.І., 2013

лісництва, дві інші дослідні: II – листя з дерев Стрийського парку м. Львова; III – листя з дерев вул. К. Левицького, м. Львова). Науково-господарські досліди щодо впливу природного сорбенту – цеоліту на ріст біомаси каліфорнійського черв'яка на субстраті з підвищеним вмістом важких металів проводили методом створення дослідних груп – аналогів. Ложа формували за кількістю черв'яків, їхньою масою, площею і масою субстрату. Дослідний період червень–серпень місяці. Цеоліт вносять шляхом рівномірного перемішування його із субстратом, у концентрації, яка відповідає дослідним групам.

Зразки проб опалого листя відбирали згідно з ГОСТом 13.586.3 – 83. Екстракцію рухомих форм кадмію, свинцю, цинку та міді здійснювали 1 М розчином нітратної кислоти (HNO_3) [5]. Для цього усереднені зразки опалого, добре подрібненого та розтертого у фарфоровій чашці листя масою 10 г поміщали в конічну колбу місткістю 250 $см^3$, сюди ж додавали 100 $см^3$ 1 М HNO_3 (1:10). Вміст колби збовтували на ротаторі (1 год), настоювали (1 добу) і фільтрували через знезолений фільтр, попередньо змочений 1М HNO_3. Мінералізацію відібраних зразків вважали завершиною, коли папір мав білий колір, без обвуглених частинок згідно з ГОСТом 29929-86. В отриманих екстрактах визначали вміст важких металів за допомогою спектрохімічного методу [6], використовуючи режим абсорбції в повітряно-ацетиленовому полум'ї на атомно-абсорбційному спектрофотометрі AAS-30.

Вміст білка в гомогенатах олігохет визначали за методом Lowry. Із отриманих контрольних і дослідних лож каліфорнійських черв'яків готують гомогенат у гіпотонічному розчині NaCl. Досліджували амінокислотний склад сухого борошна популяції вермікультури, адаптованої до базового субстрату в умовах екологічно-безпечної зони та із забруднених територій з додаванням 6 % цеолітового борошна проводили на амінокислотному аналізаторі H1200E.

Біологічну поживність білка сухого борошна вермікультури E. foetida визначали за амінокислотним складом порівнюючи з еталонним амінокислотним складом незамінних амінокислот для людини (в мг на 1 г білка: ізолейцину – 40; лейцину – 70; лізину – 55; метіоніну – цистеїну – 35; фенілаланін-теризину – 6; триптофану – 10; треоніну – 40 та валіну – 50).

Результати досліджень. Вміст білка в організмі черв'яків визначається значною кількістю факторів. Він залежить як від рівня метаболізму, так й від фізіологічного стану організму. Здебільшого рівень білка в організмі олігохет є досить постійним показником, який відображає гомеостатичні тенденції метаболічних процесів, однак він може коливатися під дією чинників зовнішнього середовища та може бути інтерпретований для пояснення деяких процесів на екосистемному рівні.

Використання для культивування базового субстрату із підвищеним вмістом рухомих форм Кадмію, Плюмбуму, Цинку та Купруму негативно впливає на поживну якість біомаси вермікультури, а саме на загальний білок. Так, за використання субстрату для вермікультивування з підвищеною концентрацією важких металів, вміст загального білка знижується на 24,3 %

(третя контрольна група, вміст важких металів у субстраті > ГДК) та на 6,3 % (друга контрольна група, вміст важких металів у субстраті < ГДК) (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст загального білка сухого борошна Eisenia foetida залежно від концентрації важких металів у базовому субстраті (БС) та цеолітового борошна M +m, n=50

Групи-ложа	Загальний білок г/кг сухої маси
Контроль БС (компост опалого листя дерев Брюховицького лісництва – умовно екологічно чиста зона)	684,4 ± 72,6
I дослідна БС (компост опалого листя з дерев Стрийського парку м. Львова – забруднення ≤ ГДК	641,4 ± 52,6
II дослідна БС (компост опалого листя з дерев вул. К.Левицького, м.Львова, забруднення > ГДК	518,1 ± 41,6
Контроль БС + 6% цеолітового борошна	688,6 ± 71,4
I дослідна БС + 6% цеолітового борошна	671,3 ± 42,4
II дослідна БС + 6% цеолітового борошна	660,4 ± 43,6*

Примітка: * – статистично вірогідна різниця щодо контролю; (p≤0,05).

Внесення до базових субстратів цеолітового борошна у дозі 6% сприяло підвищенню загального білка у всіх контрольних зразках у межах від 1,7 до 27,4%, а це вказує, що цеолітове борошно як кормова добавка та ентеросорбент позитивно впливає на метаболічні процеси, підвищує резистентність організму, а також стимулює приріст живої маси олігохет.

Повноцінність білка біомаси Eisenia foetida визначали за амінокислотним складом. Встановлено, що вміст аспарагінової кислоти, серину, гліцину, гістидину, треоніну, проліну, тирозину, триптофану, аргініну та метіоніну в сухому борошні біомаси олігохет є вищий, ніж у м'ясо-кістковому борошні.

За даними А.М. Ігоніна (1995) кількість білка у 100 г сухої речовини коров'ячого молока становить 26,1 г, свинини (м'яса) – 30,0 г, яловичини (м'яса) – 28,8 г; м'ясо птиці – 60,0 г; м'ясного борошна (фарш) – 60,0 г; рибного борошна – 61,0 г; сухих дріжджів 44,0 г, а у біомасі черв'яків – 69,1 г.

Досліджений амінокислотний склад сухого борошна популяції вермікультури Eisenia foetida, адаптованої до базового субстрату з вмістом білка (66,0 – 68,8%) наведено в табл.2-4. В 1 г білка, який досліджували з біомаси Eisenia foetida, культивованої на базовому субстраті: 80% компосту опалого листя з дерев умовно екологічно-безпечної зони (Брюховицьке лісництво) та 20% гною великої рогатої худоби міститься мг: ізолейцину – 97,5; лейцину – 130,4; лізину – 55,0; метіоніну та цистеїну – 266,8; фенілаланіну та тирозину – 167,7; триптофану – 66,4; треоніну – 94,2 та валіну – 94,5.

Порівняно з еталонним амінокислотним складом для людини (стандартною шкалою скори, %), вміст незамінних амінокислот у складі олігохет перевищував його у 2,4; 1,9; 7,6; 2,8; 6,6; 2,4; 1,9 та 1,8 рази.

Таблиця 2

Амінокислотний склад сухого борошна Eisenia foetida, адаптованої до базового субстрату з опалого листя умовно екологічно-чистої зони

Амінокислоти	Від вмісту білка, %	Від вмісту в біомасі E.f., г	Біомаса E.f. мг/1 г	Стандартна шкала скори
Ізолейцин	4,56	6,66	97,5	40
Лейцин	6,10	8,92	130,4	70
Лізин	6,28	9,18	134,2	55
Метіонін	1,86	2,72	39,8	
Цистин	10,62	15,50	227,0	35
Фенілаланін	4,10	5,99	87,6	
Тирозин	3,84	5,61	82,1	6
Триптофан	2,11	4,54	66,4	10
Треанін	4,41	6,45	94,2	40
Валін	4,42	6,46	94,5	50
Гліцин	3,12	4,65	67,9	-
Аланін	4,98	7,28	106,4	-
Глутамінова кислота	18,22	26,72	390,7	-
Серин	4,18	6,11	89,3	-
Пролін	3,71	5,42	79,3	-
Аспарагінова кислота	7,18	10,49	153,4	-
Аргінін	6,05	8,85	129,3	-
Гістидин	3,14	4,59	67,1	-

Отже, біомаса Eisenia foetida збалансована як за незамінним, так й за замінним амінокислотним складом. Найменша кількість у досліджуваній біомасі лізину та валіну (186,3 та 189,0% до еталонного вмісту амінокислот), а найбільша кількість метіоніну, цистину, фенілаланіну та тирозину (762,5 та 2828,3% відповідно). За більшістю показниками сухе борошно вермікультури відповідає м'ясо-кістковому борошну I сорту. Вона є не тільки джерелом енергії та протеїну, але й вітамінів групи D та B, у тому числі B_{12}.

Використання цеолітового борошна, як мінеральної кормової добавки до базового субстрату, який готували з опалого листя із дерев умовно чистої зони сприяло підвищенню вмісту незамінних амінокислот на 2,29%.

Цеолітове борошно у дозі 6% використане у базовому субстраті, який приготовлений з опалого листя із вмістом важких металів (Кадмій, Плюмбуму, Цинку та Купруму), що перевищують ГДК проявляє не тільки ентеросорбентні властивості, а й як йоннообмінник регулює метаболізм амінокислот. Амінокислоти виконують пластичні функції, підтримують окисно-відновний потенціал, вільні амінокислоти є критерієм оцінки інтенсивності білкового обміну, а їх вміст та співвідношення вказують на забезпеченість організму повноцінним білком.

Амінокислоти здатні адсорбувати та зв'язувати важкі метали (особливо ті амінокислоти, що містять –SH; $–CH_3$ групи), попереджуючи надходження токсичних елементів в органи й тканини організму олігохет.

Таблиця 3

Амінокислотний склад сухого борошна Eisenia foetida, адаптованої до базового субстрату з компосту опалого листя умовно екологічно-чистої зони та з 6% вмістом цеолітового борошна.

Амінокислоти	Від вмісту білка, %	Від вмісту в біомасі E.f., г	Біомаса E.f., мг/1г	Стандартна шкала, скори
Ізолейцин	5,18	7,52	109,4	40
Лейцин	6,14	8,92	129,7	70
Лізин	7,18	10,43	151,6	55
Метіонін	2,16	3,14	45,6	
Цистин	9,98	14,5	210,8	35
Фенілаланін	4,12	5,98	87,0	
Тирозин	3,18	4,62	67,2	6
Триптофан	4,16	6,05	87,8	10
Треанін	4,62	6,72	97,6	40
Валін	5,16	7,50	109,0	50
Гліцин	4,12	5,99	87,1	-
Аланін	6,18	8,98	130,5	-
Глутамінова кислота	12,12	17,62	256,1	-
Серин	4,16	6,05	87,8	-
Пролін	3,18	4,62	67,2	-
Аспарагінова кислота	7,10	10,32	149,9	-
Аргінін	7,12	10,35	150,4	-
Гістидин	4,14	6,45	93,8	-

Таблиця 4

Амінокислотний склад білка сухого борошна Eisenia foetida, адаптованого до базового субстрату з опалого листя дерев, забруднених територій та 6% цеолітового борошна

Амінокислоти	Від вмісту білка, %	Від вмісту в біомасі E.f., г	Біомаса E.f.,мг/1г	Стандартна шкала, скори
Ізолейцин	5,02	7,60	115,2	40
Лейцин	6,18	9,36	141,8	70
Лізин	7,21	10,92	165,5	55
Метіонін	2,05	3,10	47,1	
Цистин	10,21	15,46	234,1	35
Фенілаланін	3,98	6,03	91,3	
Тирозин	3,01	4,56	69,1	6
Триптофан	4,06	6,15	93,2	10
Треанін	4,82	7,30	110,6	40
Валін	5,02	7,60	115,2	50
Гліцин	5,40	8,18	123,9	-
Аланін	7,14	10,80	163,9	-
Глутамінова кислота	10,38	15,72	238,3	-
Серин	4,80	7,27	110,2	-
Пролін	3,12	4,72	71,6	-
Аспарагінова кислота	5,30	8,03	121,6	-
Аргінін	6,12	9,27	144,5	-
Гістидин	6,18	9,36	141,8	-

Високий рівень сірковмісних амінокислот (метіоніну та цистину) (третьої дослідної групи, що в сумі на 24,8 мг перевищує відповідні показники

першої дослідної групи сприятливо впливає на адаптацію черв'яків до субстрату з підвищеним вмістом важких металів, що узгоджується з даними інших авторів). Функціональні групи сірковмісних амінокислот легше окиснюються порівняно з іншими функціональними групами молекули білка від ушкоджуючої окиснювальної модифікації. Гістидин та його похідні, концентрація якого 141,8 мг на 1 г білка (зросли на 34,9%), завдяки наявності імідазольного ядра є добрими комплексоутворювачами. Зв'язуючи йони важких металів, імідазольні похідні захищають функціональні групи ферментів, які беруть участь у метаболічних процесах.

Концентрація глікогенних амінокислот (аланін, гліцин, серин, треонін), які в процесі трансамінування можуть перетворюватися на метаболіти вуглеводного обміну відповідно зросла на 20,4, 29,8, 20,6 та 21,8% і складали 163,9; 123,9; 110,2 та 110,6 мг на 1 г білка.

Слід зазначити, що використання організмом глікогенних амінокислот, а особливо аланіну, на енергетичні потреби, коли під впливом важких металів гальмуються окремі ланки анаеробного перетворення вуглеводів, зростає. Ця амінокислота утворюється в організмі в результаті процесів переамінування з піровиноградної кислоти, а також за рахунок протеолізу ендогенних білків, зумовленого токсичним впливом важких металів. Виходячи з вищенаведеного, можна припустити, що за умов техногенного навантаження важкими металами організм олігохет активно використовує глюкогенні амінокислоти для синтезу глюкози.

Висновок. Цеолітове борошно у дозі 6% використане у базовому субстраті, який приготовлений з опалого листя із вмістом важких металів, що перевищують ГДК проявляє не тільки ентеросорбентні властивості, але й як йоннообмінник регулює їх метаболізм, що призводить до збільшення вмісту не замінимих амінокислот. Біомаса вермікультури гібрида каліфорнійського черв'яка за амінокислотним складом прирівнюється до м'ясо-кісткового та рибного борошна. Встановлено, що вміст аспарагінової кислоти, серину, гліцину, гістидину, треоніну, проліну, тирозину, триптофану, аргініну та метіоніну в сухому борошні біомаси олігохет є вищий, ніж у м'ясо-кістковому борошні.

Література

1. Игонин А.М. Как повысить плодородие почвы в десятки раз с помощью дождевых червей. – М.: Информ.-внедренч. центр "Маркетинг", 1995. – 88 с.

2. Свеженцов А.И., Цап С.В., Бегма Н.А., Жайворонок В.В., Биологическая и экономическая оценка нетрадиционных источников кормового белка // Корми і кормовиробництво. – 2006. – Вип. 58. – С. 188-195.

3. Zajac M. Hodowla dzdzownic a ochrona srodowiska natulalnego // Biul. inform. – 1999. – № 1. – S. 5–9.

4. Бількевич В.В., Дяченко Л.С. Перетравність корму, баланс азоту і мінеральних елементів та ріст курчат-бройлерів за згодовування різних доз препарату НуПро. // Сучасне птахівництво. – 2010. - №7-8(92-93). – С. 23-26.

5. Методическое указание по определению тежелых металлов в почве, сельхозугодии и продукции растениеводства. М.:ЦИНАО. – 1992. – 61 с.

6. Price W.Y. Analitikal atomie absorption spectrometry //London, New-York, Phein. – 1972. – P.259 – 275

Summary

Skip O. Butsyak V.

Lviv National University of Veterinary Medicine and biotechnology named after S.Z. Gzhytskyj

The content of protein and aminoacids composition of biological mass Eisenia foetida, cultivated on substrates with the increased content of heavy metals on the background of zeolite action.

It was investigated the influence of zeolite flaer on the content of common protein and aminoacid content of biological mass Eisenia foetida cultivated on substrates with the increased content of heavy metals.

Key words: *Eisenia foetida, protein content, aminoacid content, substrate, vermiculture, zeolite, heavy metals.*

Рецензент – к.б.н., доцент Турко І.Б.