

## БИОФОРТИФИКАЦИЯ КУРИНОГО ЯЙЦА: ВИТАМИНЫ И КАРОТИНОИДЫ\* (обзор)

А.Ш. КАВТАРАШВИЛИ<sup>1</sup>, В.М. КОДЕНЦОВА<sup>2</sup>, В.К. МАЗО<sup>1</sup>, Д.В. РИСНИК<sup>1</sup>,  
И.Л. СТЕФАНОВА<sup>1</sup>

Увеличение содержания витаминов в рационе кур сопровождается постепенным нелинейным возрастанием их количества в яйце. Зависимость между содержанием витаминов в яйце и корме имеет вид кривых насыщения (В.М. Коденцова с соавт., 2005; К. Hebert с соавт., 2005; S. Leeson с соавт., 2004; А.Л. Штеле, 2004; S. Grobas с соавт., 2002). Рассматривается эффективность различных форм витаминов для обогащения корма кур (P. Mattila с соавт., 2004; P.H. Mattila с соавт., 2011), а также использование для этих целей растительных добавок (M. Hammerhøj с соавт.; 2010, J.A. Moreno с соавт., 2016). Доведение содержания витаминов и каротиноидов в корме птицы до оптимального сопровождается увеличением количества витаминов и каротиноидов в яйце до максимума, что превращает их в весомый источник витаминов D, E, группы В и каротиноидов. Одно такое яйцо может обеспечить поступление до 40-50 % от рекомендуемого суточного потребления витаминов D, В<sub>12</sub>, К, пантотеновой кислоты, 30 % — витамина Е, 20 % — фолата, 10 % — витамина А, 12 % — витамина В<sub>2</sub>, а также до 30 % от адекватного количества потребления лютеина. Добавления в рацион кур витамина D<sub>3</sub> наиболее эффективно для повышения его содержания в желтке (P. Mattila с соавт., 2004). Если корм кур содержит витамин D только в форме 25ОНD<sub>3</sub>, то в желтке витамин D в форме холекальциферола может полностью отсутствовать (P.H. Mattila с соавт., 2011). Оригинальный способ повышения количества витамина D в яйце — облучение кур ультрафиолетовым светом или их свободный выгул при естественном солнечном свете (A. Schutkowski с соавт., 2013; J. Kühn с соавт., 2014, 2015), что представляет собой многообещающую альтернативу, одновременно обеспечивая безопасный подход без риска передозировки этого витамина. За счет накопления лютеина в желтке куриного яйца можно существенно повысить биодоступность этого каротиноида по сравнению с растительными источниками (G.J. Handelman с соавт., 1999). Возможность обогащения яиц каротиноидами с использованием растительных источников имеет принципиальное значение при производстве органической продукции. Степень обогащения витаминами яиц в этом случае отвечает критериям для обогащенной витаминами пищевой продукции (В.М. Коденцова с соавт., 2010). Повышение количества всех витаминов (А, Е, группы В) в рационе кур приводило к одновременному увеличению их содержания в яйце (H. Zang с соавт., 2011). Биофортификация имеет несомненные преимущества по сравнению с технологическим обогащением пищевых продуктов, поскольку добавляемые в корм кур синтетические витамины в организме птицы биотрансформируются, превращаясь в натуральные. Биофортификация витаминами куриных яиц — одна из перспективных стратегий, направленных на увеличение потребления витаминов населением (M.S. Calvo с соавт., 2013).

**Ключевые слова:** биофортификация, витамины, каротиноиды, птицеводство, яйца.

Проблема микронутриентной недостаточности у населения решается несколькими способами. Один из подходов, получивших признание во всем мире, — технологическая модификация, в процессе которой витамины или их смеси добавляются к сырью, используемому при производстве пищевых продуктов (например, хлебопекарной муке), или непосредственно в пищевые продукты массового потребления (1). К сожалению, не только среди населения, но и в научных статьях можно встретить необоснованное мнение, что синтетические витамины плохо усваиваются организмом. В связи с этим в последние годы все большее внимание уделяется биофортификации (bio-addition, biofortification) — обогащению продукции животноводства посредством добавления витаминов в корма. В этом случае витамин, поступая в организм животного, проходит стадии биотрансформации и потребляется человеком в натуральном виде. Несмотря на то, что потребность кур-несушек в большинстве витаминов достаточно хорошо изучена и установлено оптимальное содержание витаминов в кормах, в

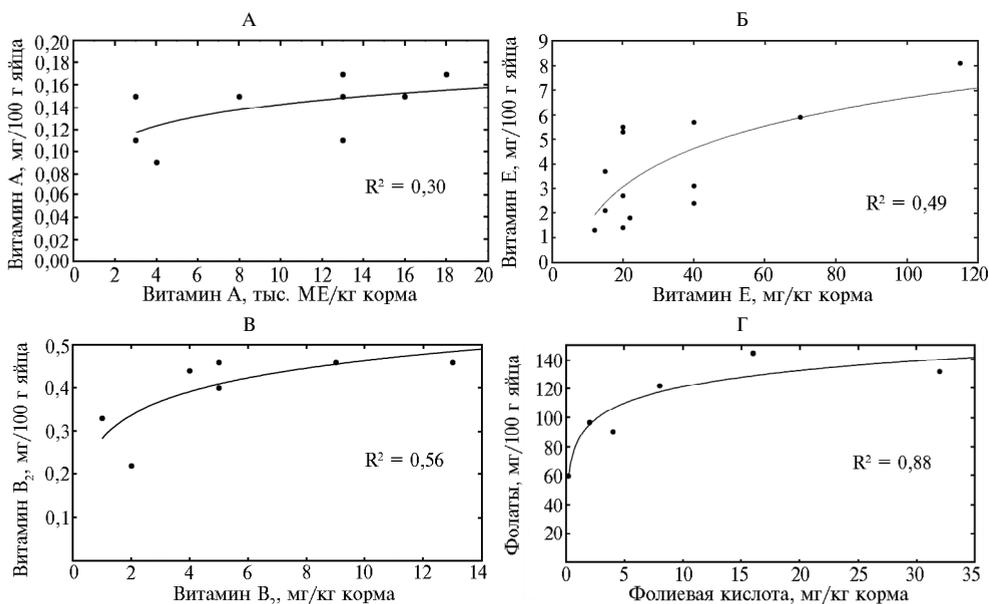
\* Работа финансово поддержана Российским научным фондом, грант № 16-16-04047.

последние годы усилился интерес к куриному яйцу как идеальному объекту, витаминная ценность которого может быть повышена естественным способом за счет обогащения витаминами и минеральными веществами рациона птицы (2).

Куриное яйцо — природный функциональный пищевой продукт массового потребления, который используется в питании всех слоев населения и представляет особый интерес для биофортификации. Согласно таблицам химического состава пищевых продуктов, два больших куриных яйца обеспечивают поступление до 20 % от рекомендуемого суточного потребления белка, до 30 % — витамина В<sub>2</sub>, до 6 % — витамина Е, до 12 % — витамина А (3, 4). Однако реальное содержание витаминов в яйцах, произведенных на разных птицефабриках и в личных приусадебных хозяйствах (5), зависит от количества витаминов в используемых кормах и может существенно отличаться от величин, указанных в таблицах химического состава пищевых продуктов (6, 7).

В настоящем обзоре впервые обобщены данные современной научной литературы о возможностях повышения содержания витаминов в яйце не только за счет обогащения ими рациона кур-несушек, но и благодаря введению в корм растительных компонентов, а также посредством УФ-облучения птицы.

При содержании витаминов в корме, не достигающем рекомендованных для кур-несушек норм (2), их количество в яйце минимально (рис.). Увеличение содержания большинства витаминов в рационе кур сопровождается постепенным нелинейным возрастанием их количества в яйце (табл.), которое может существенно превышать величины, приведенные в таблицах химического состава пищевых продуктов, используемые для расчета потребления витаминов с рационом.



Содержание витаминов А (А), Е (Б), В<sub>2</sub> (В) и фолатов (Г) в целом яйце в зависимости от их количества в рационах кур (5, 16-19, 25).

**В и т а м и н Е.** Влияние ввода различных доз витамина Е в рационы кур-несушек — от 20-60 (8) до 100-200 мг/кг корма (9, 10) и выше (11) — представлено на рисунке (Б). По данным некоторых исследователей (12, 13), увеличение содержания витамина Е в комбикорме с 10 до 150 мг/кг

сопровождалось повышением концентрации витамина Е в желтке яиц. Это повышение происходило вплоть до 200 мг  $\alpha$ -токоферилацетата на 1 кг корма (14). Накопление витамина Е в желтке яиц на фоне добавок селена (0,1 г/т) повышалось на 6,8-38,9 %.

**Количество витаминов в целых яйцах, полученных от кур-несушек при обогащении рациона витаминами (данные литературы)**

Витамин	Данные национальных таблиц химического состава пищевых продуктов (6, 7)	Рацион	
		без дополнительного обогащения кормов	при дополнительном обогащении кормов
D	88 МЕ 310 МЕ <sup>a</sup>	25-80 МЕ (17, 20) 150-450 МЕ <sup>a</sup> (21)	180-1700 МЕ (17) 33,7-150 мкг <sup>a</sup> (21, 22)
K	—	0,01-0,05 мг (20)	0,05 мг (17)
B <sub>6</sub>	0,14 мг 0,46 мг <sup>a</sup>	0,11-16 мг (17, 20) 0,35-1,50 мг <sup>a</sup> (17)	—
Ниацин	0,19-0,20 мг	0,07-0,15 мг (17, 20, 23) 0,05 мг <sup>a</sup> (17)	—
B <sub>12</sub>	0,0005 мг 0,0018 мг <sup>a</sup>	0,0004-0,0010 мг (17, 23) 0,0018 мг <sup>a</sup> (17)	0,0016 мг (17)
Фолат	7-32 мкг 0,022 мг <sup>a</sup>	0,009-0,078 мг (2, 17, 23) 0,12-0,17 мг <sup>a</sup> (17, 23)	33-75 мкг (24, 25)
Пантотеновая кислота	1,3 мг 4 мг <sup>a</sup>	1,2-1,6 мг (17, 26) 3,5-12,5 мг <sup>a</sup> (17, 20)	1,9 мг(17)
Биотин	0,02 мг 0,056 мг <sup>a</sup>	0,016-0,030 мг (17, 20) 0,1 мг <sup>a</sup>	0,070 мг(17)
$\beta$ -Каротин	—	0,014 мг <sup>a</sup>	0,52 мг <sup>a</sup> (18)
Лютеин	—	0,3 мг/60 г	1,5 мг/60 г (27) 0,8-2,7 мг <sup>a</sup> (5)
Криптоксантин	—	-	0,08-0,20 мг <sup>a</sup> (5)

Пр и м е ч а н и е. Прочерки означают отсутствие данных в доступной литературе; <sup>a</sup> — содержание в 100 г желтка куриного яйца.

Витамин Е всасывается в тонком кишечнике, и эффективность этого процесса зависит от состава рациона, используемой дозы, возраста, пола, других индивидуальных характеристик птицы. Витамин Е накапливается в печени и жировой ткани, однако этого недостаточно для продолжительного удовлетворения потребностей в нем. Например, количество витамина Е, которое поступает из организма несушки в одно яйцо, больше, чем резерв этого соединения в печени (12, 15).

Количество витамина Е в корме влияет на качество яиц, предохраняет от окислительной порчи полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) при комнатной температуре в течение 28 сут (28), а также способствует сохранности в яйце ретинола, каротиноидов (12, 15, 29, 30). Обогащение рациона кур ПНЖК семейства  $\omega$ -3 совместно с витамином Е продлевает срок хранения, снижая окисление липидов (31). По данным А. Barroeta (32), при низком содержании в рационе ПНЖК (15 г/кг) для поддержания стабильности липидов необходимо вводить в корм 60 мг/кг  $\alpha$ -токоферола, тогда как при высоком (30 г ПНЖК/кг корма) требуется 200 мг/кг. Витамин Е нетоксичен, даже его высокие дозы не приводят к гипervитаминозу, однако избыточное введение в корм должно быть экономически оправданным (33). К тому же очень высокие дозы витамина Е (10-20 тыс. МЕ/кг корма) существенно снижали концентрацию витамина А и каротиноидов в яичном желтке (19).

Помимо токоферолов, для обогащения корма птиц используют природные источники этого витамина. Добавление в корм кур в течение 7 сут масла из рисовых отрубей, содержащего 1,3 % токотриенолов (одна из форм натурального витамина Е), приводило к увеличению их содержания до 0,62 мг/яйцо против обычного содержания 0,11 мг/яйцо (34).

**В и т а м и н D.** В отличие от других, витамин D не только поступает с пищей, но и может образовываться в коже человека и животных под действием ультрафиолетового излучения, то есть к нему не применим

классический смысл термина «витамин». Это прогормон, превращающийся в организме в свою гормональную форму — 1,25-дигидроксивитамин D. Существует от 200 до 2000 генов, непосредственно или косвенно реагирующих на воздействие витамина D. Спектр его доказанного физиологического действия чрезвычайно широк и включает ингибирование клеточного деления, стимуляцию синтеза инсулина, апоптоз, подавление продукции ренина, стимуляцию продукции макрофагами кателицидина — пептида, обладающего антимикробным действием (35). Дефицит витамина D ассоциируется со многими социально значимыми хроническими заболеваниями (сердечно-сосудистые, инфаркт миокарда, сахарный диабет 2-го типа, аутоиммунные болезни, туберкулез, бронхиальная астма, атопический дерматит, крапивница, рак простаты, молочной железы, кишечника), нейрокогнитивными расстройствами, депрессивными состояниями (35).

Содержание витамина D в организме человека определяется сочетанием его синтеза в коже под воздействием солнечных лучей и потреблением двух основных алиментарных форм витамина D — эргокальциферола (витамина D<sub>2</sub>) и холекальциферола (витамина D<sub>3</sub>). Сниженная концентрация витамина D в крови наблюдается у 50-92 % взрослого населения трудоспособного возраста и детей нашей страны вне зависимости от сезона года (36). Причины дефицита витамина D заключаются как в его недостаточном потреблении с пищей, так и в низком эндогенном синтезе вследствие географического расположения России (36). Поддержание адекватного количества витамина D<sub>3</sub> в организме человека имеет важный профилактический потенциал для здоровья. Пищевые источники этого витамина для человека немногочисленны, к тому же витамин D не содержится в продуктах растительного происхождения. К основным источникам относятся (в порядке убывания содержания) печень трески, рыба жирных сортов, куриные яйца, печень, сливочное масло.

В этой связи перспективы биофортификации куриных яиц витамином D приобретают особое значение (37). Витамин D находится преимущественно в желтке в форме холекальциферола и 25ОНD<sub>3</sub>. Содержание витамина D в яйце повышается при увеличении его дозы в корме. Более эффективно для повышения содержания витамина в желтке яйца добавление в рацион кур витамина D<sub>3</sub> (22). По мнению некоторых авторов, удваивая количество витамина D<sub>3</sub> в кормах по сравнению с физиологической нормой, можно производить яйца с повышенным в 2 раза содержанием витамина D<sub>3</sub> (приблизительно 2-3 мкг/яйцо) (38). Содержание витамина D<sub>3</sub> в желтке яиц кур, получавших 6000 МЕ (150 мкг) или 15000 МЕ (375 мкг) витамина D<sub>3</sub> на 1 кг корма, варьировало соответственно от 9,1 до 13,6 и от 25,3 до 33,7 мкг/100 г. При добавлении в корм витамина D<sub>2</sub> показатель составил 4,7-7,0 и 13,3-21,0 мкг/100 г желтка (22).

Начиная с 2009 года, в Европейском Союзе в соответствии с положением ЕС № 887/2009 (39) при откорме кур, помимо холекальциферола, разрешено использовать стабилизированный метаболит 25ОНD<sub>3</sub>. У человека это основная циркулирующая (транспортная) форма витамина. Максимальное содержание комбинации 25ОНD<sub>3</sub> с витамином D<sub>3</sub> в 1 кг корма для цыплят не должно превышать 125 мкг (5000 МЕ). Однако оказалось, что если корм кур содержит витамин D только в форме 25ОНD<sub>3</sub>, то в желтке витамин D в форме холекальциферола может полностью отсутствовать (38).

В качестве альтернативы для получения обогащенных витамином D яиц недавно были предложены облучение птиц ультрафиолетом или свободный выгул (bio-addition). Яйцо от кур, облученных ультрафиолетом по 3 ч ежедневно в течение 4 нед и получавших D<sub>3</sub>-адекватный рацион

(3000 МЕ/кг корма), содержало в среднем 2,5 мкг витамина D (витамин D<sub>3</sub> + 25ОНD<sub>3</sub>), что почти в 5 раз выше по сравнению с его количеством в яйцах кур, не подвергавшихся обучению ультрафиолетовой лампой (доза на расстоянии 20 см — 76 мкВт/см<sup>2</sup>) (40). Любопытно, что эндогенный синтез происходит в основном в ногах кур, где оперение наименьшее. Зависимость содержания витамина D<sub>3</sub> и 25ОНD<sub>3</sub> в яичном желтке от времени ежедневного облучения ультрафиолетом имела нелинейный характер. При ежедневном облучении по 300 мин содержание витамина D<sub>3</sub> увеличивалось до 28,6 мкг/100 г сухого вещества яичного желтка, но не достигло плато, тогда как количество 25ОНD<sub>3</sub> оказывалось максимальным уже при облучении в течение 60 мин (41). Количество витамина D<sub>3</sub> в яичном желтке было в 3-4 раза выше ( $p < 0,001$ ) у птиц при воздействии солнечным светом (открытый и закрытый/открытый способ содержания), чем у кур, находившихся в закрытом помещении (42). Концентрация витамина D<sub>3</sub> в яичном желтке птиц на свободном выгуле составила 14,3 мкг/100 г сухого вещества против 3,8 мкг/100 г. Количество витамина D в желтке яиц от птиц на смешанном содержании занимало промежуточное положение. Содержание 25ОНD<sub>3</sub> в яичном желтке также зависело от воздействия солнечных лучей, хотя и менее выражено, чем концентрация витамина D<sub>3</sub> ( $p < 0,05$ ).

Следовательно, облучение птиц ультрафиолетовым или естественным солнечным светом представляет собой многообещающую альтернативу по обогащению яиц и мяса кур витамином D, одновременно обеспечивая безопасный подход без риска передозировки этого витамина.

Витамин А и каротиноиды. Повышение в 5,3 раза количества витамина А в корме до оптимального содержания (2) приводило к увеличению его содержания в яйце в 1,3 раза (см. рис., А).

Основными каротиноидами, придающими естественный цвет желтку яйца, служат лютеин и зеаксантин (43, 44). Их содержание составляет до 80-90 % от суммы каротиноидов (2). Базовый рацион кур-несушек на основе кукурузы обычно содержит около 11,8 мг каротиноидов (в основном в форме лютеина и зеаксантина) на 1 кг корма, а на основе пшеницы — 5,6 мг/кг корма (45). К усилению окраски желтка приводит добавление в рацион до 1 % по массе корма моркови, перца, тыквы, плодов шиповника, а также до 5-6 % травяной муки. Такое обогащение позволяет достигнуть количества каротиноидов, соответствующего 8-10 мг на 1 кг корма (17). Добавление к рациону кур оранжевой, желтой или пурпурной моркови (по 70 г на одну птицу) увеличивало содержание в яичном желтке лютеина более чем в 1,5 раза, а минорного каротиноида β-каротина — более чем в 100 раз (46). Яйца кур, получавших рацион с добавлением листьев капусты огородной *Brassica oleracea* var. *acephala* (кале) (120 г на курицу/сут) имели более высокое содержание лютеина, β-каротина, а также оранжевого ксантофилавиолаксантина (47). Добавление в корм кур по 5 или 10 г порошка томатов на 1 кг рациона приводило к увеличению в желтке количества ликопина, β-каротина, лютеина и витамина А при одновременном снижении концентрации малонового диальдегида (48). Содержание лютеина в яичном желтке у японских перепелов значительно увеличивалось, если в рацион включали 0,2 % экстракта календулы (49). При добавлении в корм 3 % порошка хлореллы количество лютеина повышалось с 0,2 мг/яйцо (13 мкг/г желтка в контрольной группе) до 0,43 мг/яйцо (27 мкг/г желтка) (50). Очевидно, что такое обогащение яиц каротиноидами имеет принципиальное значение при производстве органической продукции. Описан пример получения «дважды биофицированного яйца» с повышенным содержанием каротиноидов посредством включения в рацион

он биофортифицированной кукурузы (51).

Помимо использования природных источников каротиноидов для усиления пигментации яичных желтков в корм птицы добавляют различные каротиноиды, в том числе не характерные для желтка. К ним относятся кантоксантин (от 0,9-1,5 до 70 мг/кг корма, коммерческое название лукантин), смесь (коммерческое название липокаротин)  $\beta$ -каротина (0,9-1,8 г на 1 тыс. голов кур) и ликопина (0,4-0,8 г на 1 тыс. гол. кур) (52). Иногда применяются более высокие дозы каротиноидов — до 400 мг/кг корма  $\beta$ -каротина, кантоксантина и лютеина (53). Добавление  $\beta$ -каротина в дозе 200 мг/кг корма сопровождается увеличением его содержания в желтке в 37 раз — с 0,14 до 5,2 мкг/г (18). Следовательно, добавление каротиноидов в корм кур-несушек приводит к увеличению суммарного содержания этих пигментов практически на порядок по сравнению с данными таблиц химического состава; в результате такое яйцо может обеспечить поступление от 5 до 10 % каротиноидов от адекватного количества их потребления (43). Эмульгирование каротиноидов позволяет достичь желаемого содержания каротиноидов при их более низкой дозе (на 20-30 %) (54). Добавление к корму 2,5 % порошка спирулины (*Arthrospira platensis*) или 30 мг/кг лукантина оказалось одинаково эффективным для окрашивания желтка яиц (55). Увеличение содержания ликопина в рациионе (0; 420 и 840 мг/кг) и  $\alpha$ -токоферола (0; 84; 164; 200; 284 и 364 мг/кг) сопровождалось повышением концентрации в яичном желтке ликопина ( $p < 0,05$ ) и витамина Е ( $p < 0,05$ ), тогда как содержание лютеина и зеаксантина оставалось неизменным (56). Зависимость содержания лютеина в желтке яйца от его дозы в рационе имеет вид кривой насыщения: при добавлении более 375 мг лютеина на 1 кг рациона дальнейшего увеличения его количества (с 0,3 до 1,5 мг/60 г) не происходит (27).

Лютеин — основной каротиноид, предотвращающий дегенерацию макулы при старении; из обогащенного им яичного желтка вещество усваивается лучше, чем непосредственно изолированный лютеин или лютеин, содержащийся в растительных источниках (57). Ежедневное потребление в течение 4,5 нед по 1,3 желтка куриного яйца, обеспечивающего 0,38 мг лютеина и 0,28 мг зеаксантина, приводило к повышению концентрации этих каротиноидов в плазме крови соответственно на 28-50 и 114-142 % (43). При этом поступление каротиноидов за счет желтков оказалось эквивалентным таковому при потреблении 60 г готовых блюд из шпината или 150 г из кукурузы. Поскольку лютеин — специфический каротиноид, сконцентрированный в желтом пятне сетчатки, включение в рацион богатых им продуктов с высокой биодоступностью можно рассматривать как фактор, снижающий риск возрастной дегенерации макулы глаза (26, 58).

**Витамины группы В.** За счет увеличения содержания в корме витамина В<sub>1</sub> можно достичь повышения его количества в яйце примерно на 25 %, витамина В<sub>2</sub> — в 1,7 раза (см. рис., В, Г).

У женщин репродуктивного возраста с неоптимальным фолатным статусом имеется риск рождения детей с дефектами нервной трубки, также показана выраженная взаимосвязь между концентрацией фолата, гомоцистеина в крови и риском возникновения сердечно-сосудистых заболеваний (59). Фолиевая кислота (птероил-L-глутаминовая) в природе встречается только в следовых количествах. Основными природными формами (50-80 %) этого витамина в пищевых продуктах служат полиглутаматы — 5,6,7,8-тетрагидрофолаты (Н4-фолаты). Биодоступность природного фолата ниже, чем фолиевой кислоты. Это различие частично объясняется тем, что фолиевая кислота может всасываться непосредственно, в то время как

фолаты (в основном полиглутаматы) предварительно гидролизуются дисконъюгазой до моноглутамилфолата. Благодаря своей высокой устойчивости фолиевая кислота служит единственной формой фолата, добавляемой непосредственно к пищевым продуктам и входящей в состав поливитаминных смесей для животных. Среди противников технологического способа витаминизации пищевых продуктов существует точка зрения, что обогащение фолиевой кислотой приводит к повышению количества неметаболизированной фолиевой кислоты в организме человека. Как уже отмечалось выше, биофортификация, в процессе которой происходит биотрансформация фолиевой кислоты в организме кур, опровергает этот аргумент.

Исследование зависимости содержания фолата в яйце от добавления фолиевой кислоты в рацион на основе ячменя (0-128 мг/кг в течение 21 сут) показало, что она имеет форму кривой насыщения. Содержание фолата достигало максимума 32,8-42,2 мкг/яйцо при добавлении синтетической фолиевой кислоты к корму в количестве 2 мг/кг корма и далее оставалось постоянным (24). По другим данным, насыщение куриного яйца фолатом до  $41,0 \pm 0,7$  мкг происходило при дозе 4 мг фолиевой кислоты на 1 кг корма на основе ячменя, причем этот показатель сохранялся в течение 28 сут хранения при 4 °С (60). Двукратное увеличение содержания фолатов в расчете на меланж происходило при добавлении 3,5 мг фолиевой кислоты на 1 кг корма (61). Включение в рацион кур фолиевой кислоты (от 0 до 32 мг/кг) через 12 нед приводило к увеличению содержания фолатов в яйце до 75 мкг, или в 2,3 раза (25). В яйце фолат содержится в форме 5-метилтетрагидрофолата и лишь 10 % приходится на фолиевую кислоту. В экспериментах *in vivo* на крысах доказано, что фолат из обогащенных яиц от кур, потреблявших корм с добавлением фолата, хорошо усваивался (62). Вместе с тем избыток фолиевой кислоты в рационе кур на основе кукурузы и сои (50 мг на 1 кг) сопровождался снижением потребления корма и яйценоскости (63).

Характер зависимостей (64) между содержанием витамина в рационе и яйце, обнаруженный во всех случаях (см. рис.), показывает, что количество витаминов в яйце увеличивается не безгранично, а стремится к некоторому максимальному значению, когда дальнейшее повышение дозы витаминов в корме перестает сопровождаться дополнительным увеличением их содержания в яйце (см. рис.). То есть происходит насыщение яйца этими микронутриентами (16, 17). Избыточное добавление витаминов в корма может приводить к снижению продуктивной способности кур-несушек (63).

Совершенно очевидно, что для достижения максимального количества каждого витамина требуются специальные исследования по определению его оптимального содержания в рационе. При этом избыточное потребление отдельных витаминов может нарушать баланс других в яйце. Так, чрезмерно высокое содержание витамина А в диете (400 тыс. МЕ/кг) приводило к снижению в желтке концентрации витамина Е и каротиноидов (19, 65). Следствием одновременного обогащения рациона кур витамином Е и β-каротином (по 200 мг/кг корма) было значительное снижение концентрации витамина Е в желтке (18). Увеличение в рационе содержания кантаксантина с 12 до 24 мг/1 кг корма вызывало увеличение количества γ-токоферола в желтке яйца (66). Повышение количества всех витаминов в рационе приводило к одновременному увеличению содержания в яйцах фолата, биотина и пантотената, витаминов А, Е, В<sub>1</sub>, В<sub>12</sub>, D, 25ОНD<sub>3</sub> ( $p < 0,05$ ) (67). Описан опыт одновременного обогащения куриного яйца витаминами D, К и железом: добавление 12000 МЕ витамина D<sub>3</sub> и 7,5 мг витамина К на 1 кг корма в течение 20 сут увеличивало со-

держание витаминов соответственно в 4,6 и 4,8 раза (68).

Вследствие существования в организме межвитаминовых функциональных связей одновременное поступление витаминов более эффективно для улучшения статуса организма (69), поэтому максимальное обогащение яиц всеми витаминами до количества, отвечающего критериям для обогащенной пищевой продукции (70), представляется весьма перспективным.

Таким образом, посредством оптимального обогащения витаминами корма птицы можно получить яйца с максимальным содержанием витаминов и каротиноидов, что заметно повышает их пищевую ценность. Одно такое яйцо может обеспечить поступление до 40-50 % от рекомендуемого суточного потребления витаминами D, B<sub>12</sub>, K, пантотеновой кислоты, 30 % витамина E, 20 % фолата, около 10 % витаминов A и B<sub>2</sub>, а также до 30 % от адекватного количества потребления лютеина. Обогащение витаминами в таком случае отвечает критериям для пищевой продукции (от 15 до 50 % в одной порции). Биофортификация витаминами куриных яиц — одна из действенных стратегий, направленных на увеличение потребления населением витаминов.

<sup>1</sup>*Всероссийский НИИ птицеперерабатывающей промышленности — филиал ФГБНУ ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН,*

141552 Россия, Московская обл., Солнечногорский р-н, рп. Ржавки, стр. 1,  
e-mail: dp.vniipp@mail.ru, alexk@vniitp.ru;

<sup>2</sup>*ФГБНУ ФИЦ питания и биотехнологии,*

109240 Россия, г. Москва, Устьинский пр., 2/14,  
e-mail: kodentsova@ion.ru

*Поступила в редакцию  
14 июня 2017 года*

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2017, V. 52, № 6, pp. 1094-1104*

## BIOFORTIFICATION OF HEN EGGS: VITAMINS AND CAROTENOIDS (review)

*A.Sh. Kavtarashvili<sup>1</sup>, V.M. Kodentsova<sup>2</sup>, V.K. Mazo<sup>1</sup>, D.V. Risnik<sup>1</sup>, I.L. Stefanova<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*All-Russian Scientific Research Institute of Poultry Processing Industry — branch of Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, Federal Agency of Scientific Organizations, 1, Rzhavki, Solnechnogorsk Region, Moscow Province, 141552 Russia, e-mail dp.vniipp@mail.ru, alexk@vniitp.ru (corresponding author);*

<sup>2</sup>*Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Federal Agency of Scientific Organizations, 2/14, Ust'inskiy pr., Moscow, 109240, Russia, e-mail: kodentsova@ion.ru*

ORCID:

Kavtarashvili A.Sh. orcid.org/0000-0001-9108-1632

Risnik D.V. orcid.org/0000-0002-3389-8115

Kodentsova V.M. orcid.org/0000-0002-5288-1132

Stefanova I.L. orcid.org/0000-0002-4394-5149

Mazo V.K. orcid.org/0000-0002-3237-7967

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation, grant № 16-16-04047

Received June 14, 2017

doi: 10.15389/agrobiol.2017.6.1094eng

### Abstract

The dependence of the vitamin content in the egg from the content in the chicken feed represents the saturation curves (V.M. Kodentsova et al., 2005; K. Hebert et al., 2005; S. Leeson et al., 2004; A.L. Shtele, 2004; S. Grobas et al., 2002). The effectiveness of the various forms of vitamins for enrichment of chicken feed and the use for this purpose of herbal supplements had been analyzed (P. Mattila et al., 2004; P.H. Mattila et al., 2011; M. Hammershøj et al., 2010; J.A. Moreno et al., 2016). The optimal content of vitamins and carotenoids in the poultry feed results in an increase to the maximum level of vitamins and carotenoids in the egg that makes them a significant source of vitamins D, E, B and carotenoid for humans. One such egg can provide up to 40-50 % of the recommended daily intake of vitamins D, B<sub>12</sub>, A, pantothenic acid, 30 % of vitamin E, 20 % of folate, 10 % of vitamin A, 12 % of vitamin B<sub>2</sub>, and up to 30 % of the adequate level of lutein intake. The advantage of biofortification is biotransformation in the chicken's body of synthetic vitamins added to food into their natural form, which deprives the arguments of opponents of enrichment of food products with synthetic vitamins. Comparison of the addition of different forms of vitamins showed that D<sub>3</sub> in the diet more effectively increased the vitamin content in egg yolk (P. Mattila et

al., 2004). If the chicken feed contains vitamin D only as 25OHD<sub>3</sub>, then vitamin D in the form of cholecalciferol may be completely absent in the yolk (P.H. Matvila et al., 2011). Irradiation of chicken with ultraviolet light or free-range farming in the natural sunlight may provide an original, safe and natural alternative to produce vitamin D-enriched eggs (A. Schutkowski et al, 2013; J. Kühn et al., 2014, 2015) and chicken meat without the risk of overdose of this vitamin. By increasing the content of lutein in the yolk of a chicken egg, the bioavailability of this carotenoid can be substantially increased as compared to plant sources (G.J. Handelman et al., 1999). The enrichment of eggs with vitamins meets the criteria for the fortified foods (V.M. Kodentsova et al., 2010). Increasing the level of all vitamins in hen diet resulted in a simultaneous increase in the content of all vitamins in eggs (H. Zang et al., 2011). Biofortification has clear advantages over the technological enrichment since synthetic vitamins received from feed are converted into natural ones in hen body. Biofortification of eggs with vitamins is one of the most promising strategies to increase consumption of vitamins for population (M.S. Calvoa et al., 2013).

Keywords: biofortification, vitamins, carotenoids, poultry, eggs.

## REFERENCES

1. Kodentsova V.M. *Pishchevaya promyshlennost'*, 2014, (3): 14-18 (in Russ.).
2. *Vitamin compendium. The properties of the vitamins and their importance in human and animal nutrition*. Basel, 1976.
3. Applegate E. Introduction: nutritional and functional roles of eggs in the diet. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2000, 19(5): 495S-498S.
4. Song W.O., Kerver J.M. Nutritional contribution of eggs to American diets. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2000, 19: 556S-562S.
5. Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Beketova N.A., Kodentsova O.V. *Voprosy pitaniya*, 2005, 5: 19-24 (in Russ.).
6. *Khimicheskii sostav Rossiiskikh pishchevykh produktov* /Pod redaktsiei I.M. Skurikhina, V.A. Tutel'yana [Chemical composition of Russian food stuffs. I.M. Skurikhin, V.A. Tutel'yan (eds.)]. Moscow, 2002 (in Russ.).
7. *Khimicheskii sostav pishchevykh produktov* /Pod redaktsiei I.M. Skurikhina, M.N. Volgareva [Chemical composition of food. I.M. Skurikhia, M.N. Volgarev (eds.)]. Moscow, 1987 (in Russ.).
8. Kirunda D.F., Scheideler S.E., Mckee S.R. The efficacy of vitamin E (DL-alpha-tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. *Poultry Sci.*, 2001, 80: 1378-1383 (doi: 10.1093/ps/80.9.1378).
9. Cortinas L., Villaverde C., Galobart J., Baucells M.D., Codony R., Barroeta A.C. Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. *Poultry Sci.*, 2004, 83: 1155-1164 (doi: 10.1093/ps/83.7.1155).
10. Zduńczyk Z., Gruzauskas R., Semaskaite A., Juskievicius J., Raceviciute-Stupeliene A., Wroblewska M. Fatty acid profile of breast muscle of broiler chickens fed diets with different levels of selenium and vitamin E. *Arch. Geflügelkd.*, 2011, 75: 264-267.
11. Chung M.K., Choi J.H., Chung Y.K., Chee K.M. Effects of dietary vitamins C and E on egg shell quality of broiler breeder hens exposed to heat stress. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 2005, 18(4): 545-551 (doi: 10.5713/ajas.2005.545).
12. Surai P.F. *Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction*. UK, Nottingham, 2002.
13. Karavashchenko V.F., Zhuk R.K., Pritulenko O.V. *Materialy VI konferentsii Baltiiskikh stran po ptitsevodstvu* [Proc. VI Baltic Conf. on Poultry Farming]. Vil'nyus, 1998: 50-51 (in Russ.).
14. Mohiti-Asli M., Shariatmadari F., Loftollahian H., Mazuji M.T. Effects of supplementing layer hen diets with selenium and vitamin E on egg quality, lipid oxidation and fatty acid composition during storage. *Can. J. Anim. Sci.*, 2008, 88: 475-483.
15. Surai P.F. Vitamin E in avian reproduction. *Poult. Avian Biol. Rev.*, 1999, 10: 1-60.
16. Sergeeva A.M., Blagodatskikh A.V. *Puti povysheniya kachestva pishchevykh yait*s [Egg quality improvement]. Moscow, 1978 (in Russ.).
17. Shtelev A.L. *Kurinoe yaitso: vchera, segodnya, zavtra* [Chicken egg modifications]. Moscow, 2004 (in Russ.).
18. Jiang Y.H., McGeachin R.B., Bailey C.A. Alpha-tocopherol, beta-carotene, and retinol enrichment of chicken eggs. *Poultry Sci.*, 1994, 73(7): 1137-1143.
19. Sunder A., Halle I., Flachowsky G. Vitamin E hypervitaminosis in laying hens. *Arch. Tieremehr.*, 1999, 52(2): 185-194.
20. *Handbook of vitamins*. L.J. Machlin (ed.). NY, Basel, 1984.
21. *Eksperimental'naya vitaminologiya (spravochnoe rukovodstvo)* /Pod redaktsiei Yu.M. Ostrovskogo [Experimental vitaminology. Yu.M. Ostrovskii (ed.)]. Minsk, 1979 (in Russ.).
22. Mattila P., Valaja J., Rossow L., Venäläinen E., Tupasela T. Effect of vitamin D<sub>2</sub>- and D<sub>3</sub>-enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. *Poultry Sci.*, 2004, 83: 433-440 (doi: 10.1093/ps/83.3.433).
23. Vahteristo L.T., Ollilainen V., Varo P. Liquid chromatographic determination of

- folate monoglutamates in fish, meat, egg, and dairy products consumed in Finland. *J. AOAC Int.*, 1997, 80(2): 373-378.
24. Hebert K., House J.D., Guenter W. Effect of dietary folic acid supplementation on egg folate content and the performance and folate status of two strains of laying hens. *Poultry Sci.*, 2005, 84(10): 1533-1538 (doi: 10.1093/ps/84.10.1533).
  25. Hoey L., McNulty H., McCann E.M.E., McCracken K.J., Scott J.M., Marc B.B., Molloy A.M., Graham C., Pentieva K. Laying hens can convert high doses of folic acid added to the feed into natural folates in eggs providing a novel source of food folate. *Br. J. Nutr.*, 2009, 101(2): 206-212 (doi: 10.1017/S0007114508995647).
  26. Hammond B.R., Johnson E.J., Russell E.J., Krinsky N.I., Yeum K.J., Edwards R.B., Snodderly D.M. Dietary modification of human macular pigment density. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1997, 38(9): 1795-1801.
  27. Leeson S., Caston L. Enrichment of eggs with lutein. *Poultry Sci.*, 2004, 83(10): 1709-1712 (doi: 10.1093/ps/83.10.1709).
  28. Meluzzi A., Sirri F., Manfreda G., Tallarico N., Franchini A. Effects of dietary vitamin E on the quality of table eggs enriched with n-3 long-chain fatty acids. *Poultry Sci.*, 2000, 79: 539-545 (doi: 10.1093/ps/79.4.539).
  29. Imangulov Sh.A., Kavtarashvili A.Sh., Bebin M.L. *Povyshenie kachestva yaits [How to improve egg quality].* Sergiev Posad, 1999 (in Russ.).
  30. Hacquebard M., Carpentier Y.A. Vitamin E: absorption, plasma transport and cell uptake. *Curr. Opin. Clin. Nutr.*, 2005, 8: 133-138.
  31. Galobart J., Barroeta A.C., Baucells M.D., Codony R., Ternes W. Effect of dietary supplementation with rosemary extract and alpha-tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with omega3-fatty acids. *Poultry Sci.*, 2001, 80: 460-467.
  32. Barroeta A.C. Nutritive value of poultry meat: relationship between vitamin E and PUFA. *World Poultry Sci. J.*, 2007, 63: 277-284 (doi: 10.1017/S0043933907001468).
  33. Surai P., Fisinin V.I. Natural antioxidants in hens' embryogenesis and antistress defence in postnatal development (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2013, 2: 3-18 (in Engl.).
  34. Sookwong P., Nakagawa K., Nakajima S., Amano Y., Toyomizu M., Miyazawa T. Tocotrienol content in hen eggs: its fortification by supplementing the feed with rice bran scum oil. *Biosci. Biotech. Bioch.*, 2008, 72(11): 3044-3047 (doi: 10.1271/bbb.80432).
  35. Hammershøj M., Steenfeldt S. The effects of kale (*Brassica oleracea* ssp. *acephala*), basil (*Ocimum basilicum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) as forage material in organic egg production on egg quality. *Brit. Poultry Sci.*, 2012, 53(2): 245-256 (doi: 10.1080/00071668.2012.681770).
  36. Kodentsova V.M., Risnik D.V. V sbornike: *Ekologiya. Ekonomika. Informatika. Tom 1. Sistemnyi analiz i modelirovanie ekonomicheskikh i ekologicheskikh sistem [In: Ecology. Economy. Informatics. V. 1. System analysis and simulation of economic and environmental systems].* Rostov-na-Donu, 2016: 486-498 (in Russ.).
  37. Calvo M.S., Whiting S.J. Survey of current vitamin D food fortification practices in the United States and Canada. *J. Steroid Biochem.*, 2013, 136: 211-213 (doi: 10.1016/j.jsbmb.2012.09.034).
  38. Mattila P.H., Valkonen E., Valaja J. Effect of different vitamin D supplementations in poultry feed on vitamin D content of eggs and chicken meat. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, 59: 8298-8303 (doi: 10.1021/jf2012634).
  39. COMMISSION REGULATION (EC) No 887/2009 of 25 September 2009 concerning the authorisation of a stabilised form of 25-hydroxycholecalciferol as a feed additive for chickens for fattening, turkeys for fattening, other poultry and pigs. Available <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/57fd129b-5875-4ce7-aeb2-0539da4ed9ee/language-en>. No date.
  40. Schutkowski A., Krämer J., Kluge H., Hirche F., Krombholz A., Thümer T., Stangl G.I. UVB exposure of farm animals: study on a food-based strategy to bridge the gap between current vitamin D intakes and dietary targets. *PLoS ONE*, 2013, 8(7): e69418 (doi: 10.1371/journal.pone.0069418).
  41. Kühn J., Schutkowski A., Hirche F., Baur A.C., Mielenz N., Stangl G.I. Non-linear increase of vitamin D content in eggs from chicks treated with increasing exposure times of ultraviolet light. *J. Steroid. Biochem.*, 2015, 148: 7-13 (doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.10.015).
  42. Kühn J., Schutkowski A., Kluge H., Hirche F., Stangl G.I. Free-range farming: a natural alternative to produce vitamin D-enriched eggs. *Nutrition*, 2014, 30(4): 481-484 (doi: 10.1016/j.nut.2013.10.002).
  43. Handelman G.J., Nightingale Z.D., Lichtenstein A.H., Schaefer E.J., Blumberg J.B. Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1999, 70: 247-251.
  44. Schaeffer J.L., Tyczkowski J.K., Parkhurst C.R., Hamilton P.B. Carotenoid composition of serum and egg yolks of hens fed diets varying in carotenoid composition. *Poultry Sci.*, 1988, 67: 608-614.
  45. Surai P.F., Sparks N.H. Comparative evaluation of the effect of two maternal diets on fatty acids, vitamin E and carotenoids in the chick embryo. *Brit. Poultry Sci.*, 2001, 42(2): 252-259 (doi: 10.1080/00071660120048519).

46. Hammershøj M., Kidmose U., Steenfeldt S. Deposition of carotenoids in egg yolk by short-term supplement of coloured carrot (*Daucus carota*) varieties as forage material for egg-laying hens. *J. Sci. Food Agr.*, 2010, 90(7): 1163-1171 (doi: 10.1002/jsfa.3937).
47. Hossein-nezhad A., Holick M.F. Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin. Proc.*, 2013, 88(7): 720-755 (doi: 10.1016/j.mayocp.2013.05.011).
48. Akdemir F., Orhan C., Sahin N., Sahin K., Hayirli A. Tomato powder in laying hen diets: effects on concentrations of yolk carotenoids and lipid peroxidation. *Brit. Poultry Sci.*, 2012, 53(5): 675-680 (doi: 10.1080/00071668.2012.729142).
49. Karadas F., Grammenidis E., Surai P.F., Acamovic T., Sparks N.H.C. Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *Brit. Poultry Sci.*, 2006, 47: 561-566 (doi: 10.1080/00071666000962976).
50. Jeon J.Y., Kim K.E., Im H.J., Oh S.T., Lim S.U., Kwon H.S., Moon B.H., Kim J.M., An B.K., Kang C.W. The production of lutein-enriched eggs with dietary chlorella. *Kor. J. Food Sci. An.*, 2012, 32: 13-17 (doi: 10.5851/kosfa.2012.32.1.13).
51. Moreno J.A., Diaz-Gymez J., Nogareda C., Angulo E., Sandmann G., Portero-Otin M., Serrano J.C., Twyman R.M., Capell T., Zou C., Christou P. The distribution of carotenoids in hens fed on biofortified maize is influenced by feed composition, absorption, resource allocation and storage. *Scientific Reports*, 2016, 6: 35346 (doi: 10.1038/srep35346).
52. Tyczkowski J.K., Yagen B., Hamilton P.B. Metabolism of canthaxanthin, a red diketocarotenoid, by chickens. *Poultry Sci.*, 1988, 67(5): 787-793.
53. Haq A.U., Bailey C.A., Chinnah A. Effect of beta-carotene, canthaxanthin, lutein, and vitamin E on neonatal immunity of chicks when supplemented in the broiler breeder diets. *Poultry Sci.*, 1996, 75(9): 1092-1097.
54. Chow P.Y., Gue S.Z., Leow S.K., Goh L.B. The bioefficacy of microemulsified natural pigments in egg yolk pigmentation. *Brit. Poultry Sci.*, 2014, 55(3): 398-402 (doi: 10.1080/00071668.2014.918583).
55. Zahroojian N., Moravej H., Shivazad M. Comparison of marine algae (*Spirulina platensis*) and synthetic pigment in enhancing egg yolk colour of laying hens. *Brit. Poultry Sci.*, 2011, 52(5): 584-588 (doi: 10.1080/00071668.2011.610779).
56. Olson J.B., Ward N.E., Koutsos E.A. Lycopene incorporation into egg yolk and effects on laying hen immune function. *Poultry Sci.*, 2008, 87(12): 2573-2580 (doi: 10.3382/ps.2008-00072).
57. Chung H.Y., Rasmussen H.M., Johnson E.J. Lutein bioavailability is higher from lutein-enriched eggs than from supplements and spinach in men. *J. Nutr.*, 2004, 134: 1887-1893.
58. Sommerburg O., Keunen J.E., Bird A.C., vanKujik F.J. Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. *Br. J. Ophthalmol.*, 1998, 82: 907-910.
59. European Food Safety Authority (EFSA). *ESCO report on analysis of risks and benefits of fortification of food with folic acid. Appendix 2: EFSA meeting summary report. Folic acid: an update on scientific developments.* Sweden, Uppsala, 2009: 94-115 (doi: 10.2903/sp.efsa.2009.EN-3).
60. House J.D., Braun K., Ballance D.M., O'Connor C.P., Guenter W. The enrichment of eggs with folic acid through supplementation of the laying hen diet. *Poultry Sci.*, 2002, 81: 1332-1337 (doi: 10.1093/ps/81.9.1332).
61. Benková J., Baumgartner J., Molnár F., Peškovičová D. Effect of folic acid addition into feed mixture of laying hens on its content in eggs. *Slovak J. Anim. Sci.*, 2009, 42(3): 124-128.
62. Sugiyama A., Awaji H., Horie K., Kim M., Nakata R. The beneficial effect of folate-enriched egg on the folate and homocysteine levels in rats fed a folate and choline-deficient diet. *J. Food Sci.*, 2012, 77(12): 268-272 (doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02997.x).
63. Terčič D., Pestotnik M. Effect of excess folic acid on egg production, fertility and hatchability in layer breeders. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 2014, 18 (Suppl. 1): 122-128.
64. Grobas S., Mendez J., Lopez B.C., De B.C., Mateos G.G. Effect of vitamin E and A supplementation on egg yolk alpha-tocopherol concentration. *Poultry Sci.*, 2002, 81(3): 376-381.
65. Surai P.F., Ionov I.A., Kuklenko T.V., Kostjuk I.A., Acperson A.M., Speake B.K., Noble R.C., Sparks N.H.C. Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation of vitamins A and E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver. *Brit. Poultry Sci.*, 1998, 39(2): 257-263 (doi: 10.1080/00071669889222).
66. Surai A.P., Surai P.F., Steinberg W., Wakeman W.G., Speake B.K., Sparks N.H.C. Effect of canthaxanthin content of the maternal diet on the antioxidant system of the developing chick. *Brit. Poultry Sci.*, 2003, 44(4): 612-619 (doi: 10.1080/00071660310001616200).
67. Zang H., Zhang K., Ding X., Bai S., Hernández J.M., Yao B. Effects of different dietary vitamin combinations on the egg quality and vitamin deposition in the whole egg of laying hens. *Rev. Bras. Cienc. Avic.*, 2011, 13(3): 189-196 (doi: 10.1590/S1516-635X2011000300005).
68. Park S.W., Namkung H., Ahn H.J., Paik I.K. Enrichment of vitamins D3, K and iron in eggs of laying hens. *Asian Austral. J. Anim.*, 2005, 18(2): 226-229.
69. Kodentsova V.M. *Meditsinskii sovet*, 2016, (9): 106-114 (in Russ.).
70. Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Spirichev V.B., Shatnyuk L.N. *Voprosy pitaniya*, 2010, 79(1): 23-33 (in Russ.).