

Нетрадиционные кормовые продукты

УДК 636.087.6:636.52/.58:591.11

doi: 10.15389/agrobiology.2020.6.1233rus

**СТАНДАРТИЗИРОВАННАЯ ИЛЕАЛЬНАЯ УСВОЯЕМОСТЬ
АМИНОКИСЛОТ БЕЛКОВОГО КОНЦЕНТРАТА НА ОСНОВЕ
ЛИЧИНОК МУХ *Lucilia* spp. (*Diptera: Calliphoridae*) И ЕГО ВЛИЯНИЕ
НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ (*Gallus gallus* L.)***
М.С. ЖУРАВЛЕВ¹ ✉, В.Г. ВЕРТИПРАХОВ² ✉, М.В. КОЩЕЕВА², Н.П. БУРЯКОВ¹,
М.И. СМАГЛЮК³, А.И. ИСТОМИН³

Экологически безопасным и эффективным способом утилизации органических отходов считается их биоконверсия, то есть использование в качестве субстрата в биотехнологиях производства продуктов разного назначения. К наиболее изученным насекомым, используемым при изготовлении кормов для домашней птицы, относится муха черная львинка (*Hermetia illucens* L.). В последнее время как перспективный источник белка в кормах для животных рассматривают личинок мух *Lucilia* spp. Их сухая обезжиренная биомасса содержит сырой протеин (не менее 62 %), жир (10 %), лизин (минимум 4,0 %), метионин + цистин (2,0 %), что делает этот продукт конкурентоспособным компонентом в рационах сельскохозяйственной птицы. Однако в целом, несмотря на все преимущества выращивания насекомых на органических отходах с целью получения сырья для производства кормов, сведения о качественных характеристиках таких источников кормового белка по-прежнему ограничены. Ранее была доказана эффективность включения 5-7,5 % высушенных полножирных личинок *Lucilia* spp. в рационы индеек на откорме. Однако оценку илеальной усвояемости аминокислот из этих источников, что необходимо для нормирования рационов по аминокислотам, не проводили. В представленной работе впервые в условиях *in vivo* на фистульных цыплятах-бройлерах изучена илеальная доступность аминокислот препарата белкового концентрата на основе личинок мух *Lucilia* spp. Целью исследования была оценка видимой и стандартизированной илеальной усвояемости (standardized ileal digestibility, SID) белкового концентрата на основе личинок мух *Lucilia* spp. в составе экспериментального корма и морфологических и биохимических показателей крови получавшей его птицы. Илеальную усвояемость определяли в условиях вивария (ФНЦ ВНИТИП РАН, г. Сергиев Посад, Московская обл., 2019 год) на 18-42-суточных цыплятах-бройлерах (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8 с фистулой подвздошной кишки. Монобелковый рацион включал белковый концентрат из личинок мух, декстрозу, клетчатку и витаминно-минеральный премикс. Значения стандартизированной илеальной усвояемости рассчитывали с учетом эндогенных потерь аминокислот. В результате эксперимента определены следующие значения стандартизированной илеальной усвояемости: для лизина, метионина, треонина, аргинина, изолейцина, лейцина, валина, гистидина и фенилаланина они составили соответственно 82,9; 86,6; 80,4; 89,5; 80,0; 81,9; 79,9; 82,9 и 85,7 %. Применение кормовой добавки положительно повлияло на биохимические и морфологические показатели крови бройлеров: активность аланинаминотрансферазы достоверно ($p < 0,05$) повышалась на 23,5 %, аспаратаминотрансферазы — снижалась на 24,6 % ($p < 0,05$), что указывает на преобладание в организме бройлеров анаболических процессов над катаболическими. Также по сравнению с контролем достоверно ($p < 0,05$) возрастало содержание общего белка в крови (на 20,0 %) и гемоглобина (на 4,2 %), что обусловлено активацией метаболизма. Применение коэффициента стандартизированной илеальной усвояемости позволяет более точно балансировать рацион по усвояемым аминокислотам, наиболее полно учитывать потребность птицы в аминокислотах и снизить выделение азота в окружающую среду за счет оптимизации доли белкового компонента в рационе.

Ключевые слова: бройлеры, птицеводство, альтернативные источники протеина, илеальная усвояемость, насекомые, зоопротенин.

Большой объем органических отходов и побочных продуктов пищевых производств порождает проблемы загрязнения природной среды — воды, воздуха и почвы. Экологически безопасным и эффективным способом утилизации органических отходов считается их биоконверсия, то есть использование в биотехнологиях в качестве субстрата для получения продуктов разного целевого назначения. Одно из перспективных направлений — выра-

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ для реализации научного проекта № 16-16-04089-П «Изучение физиологических и микробиологических особенностей пищеварения кур мясных пород в эмбриональный и постэмбриональный периоды для создания новых технологий кормления, обеспечивающих максимально полную реализацию генетического потенциала птицы».

щивание на таких отходах личинок мух отряда *Diptera*, из которых можно производить кормовую белковую добавку (1, 2) и биологически активные вещества (3). Двукрылые как переработчики отходов в сельском хозяйстве имеют ряд преимуществ: они вырабатывают гораздо меньше парниковых газов и аммиака, чем традиционные сельскохозяйственные животные (4), требуют меньше пространства для выращивания (5), конверсия корма у них более эффективна (6), при этом они способны преобразовывать не подходящие для питания животных и человека побочные продукты производства и отходы в высокобелковое сырье и энергию (7).

К наиболее изученным насекомым, используемым для кормления птицы, относится муха черная львинка *Hermetia illucens* L. (8). Рассмотрено применение высушенных и частично обезжиренных личинок мух этого вида в качестве источника протеина для цыплят-бройлеров (9), кур-несушек (10) и мясных перепелов (11). Также исследовано применение живых личинок черной львинки в кормлении индеек (12). Помимо птицеводства, личинки *H. illucens* могут использоваться в свиноводстве (13) и аквакультуре (14, 15).

В настоящее время в мире продолжается поиск и изучение других насекомых как перспективных источников протеина для кормления животных. В работе A. Huis и D. Ooninx (16) рассмотрены опыты по замене рыбной муки в рационах сельскохозяйственных животных на белок насекомых и сделан вывод, что частичная замена обоснована. Мета-анализ 75 исследований (17) показал, что при кормлении домашней птицы белок насекомых в целом не имел статистически значимого неблагоприятного влияния на темпы прироста живой массы, потребление и конверсию корма, но включение в рацион более 10 % биомассы насекомых приводило к снижению среднесуточного прироста.

Помимо изучения насекомых как источника протеина обсуждаются вопросы нормативного регулирования и использования продуктов из насекомых. Так, в статье G. Sogari с соавт. (18) рассмотрены вопросы нормативной базы Евросоюза, Северной Америки и ряда азиатских стран по применению насекомых в кормопроизводстве и их оценка потребителями. Авторы сделали вывод, что эти объекты по-прежнему недостаточно используются в производстве кормов для животных, однако ожидается, что с развитием промышленного выращивания насекомых их использование и оценка конечным потребителем возрастет. К таким потенциально применимым в кормлении животных насекомых относятся зеленые падальные мухи (род *Lucilia* L., *Diptera: Calliphoridae*) (19).

В России изучалась возможность использовать высушенные необезжиренные личинки рода *Lucilia* для поросят на дорастивании (1-2 % рациона) (20). Ранее (21) была доказана эффективность включения 5-7,5 % высушенных полножирных личинок *Lucilia* spp. в рационы индеек на откорме. Однако оценку илеальной усвояемости аминокислот из этих источников, что необходимо для нормирования рационов по аминокислотам, не проводили. Усвояемость аминокислот компонента корма — один из ключевых показателей, определяющих его качество (22). Коэффициент стандартизированной илеальной усвояемости позволяет наиболее точно рассчитывать процент усвоения аминокислот в кишечнике с учетом их эндогенных потерь в организме и использования микроорганизмами слепых отростков или толстого кишечника (23). Отметим, что в целом, несмотря на все преимущества выращивания насекомых на органических отходах с целью получения сырья для производства кормов, сведения о качественных характеристиках таких источников кормового белка по-прежнему ограничены.

В работе впервые представлены данные по илеальной усвояемости

аминокислот белкового концентрата из личинок мух *Lucilia* spp., которая составила для кажущейся доступности 79,3 %, для стандартизированной — в среднем 80,7 %. Используемая добавка оказала благоприятное воздействие на метаболизм, изменяя соотношения аминотрансфераз, увеличивая общий белок и гемоглобин в крови птицы.

Целью работы была оценка илеальной усвояемости аминокислот белкового концентрата из личинок мух *Lucilia* spp. и его влияния на биохимические и морфологические показатели крови у бройлеров для оптимизации регламента применения личинок зеленых падальниц как перспективного источника кормового протеина.

Методика. Белковый концентрат произведен группой компаний «Зоопротеин» (г. Липецк) из личинок мух *Lucilia* spp. Личинок после вылупления выращивали в течение 4 сут на субстрате из пищевых продуктов с истекающим сроком годности (мясо и продукты его переработки), перед окукливанием личинок отделяли от субстрата и высушивали в течение 1 ч при 110 °С. Полученный белково-липидный концентрат (сырой протеин — 43,8 %, сырой жир — 23,5 %) обезжиривали на маслопрессе для холодного отжима масличных культур, полученный жмых измельчали на молотковой дробилке до состояния сыпучего порошка (сырой протеин — 62,70 %, сырой жир — 13,46 %, лизин — 4,09 %).

Опыты выполняли на шести 18-42-суточных цыплятах-бройлерах (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8. Птицу выращивали в виварии (ФНЦ ВНИТИП РАН, г. Сергиев Посад, Московская обл., декабрь 2019-январь 2020 года) с учетом регламентов, разработанных для кросса.

В 15-суточном возрасте всем подопытным бройлерам с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (24), с помощью хирургического вмешательства устанавливали фистулу подвздошной кишки (25). За 12-18 ч до операции птиц лишали корма, все хирургические манипуляции выполняли с использованием обезболивающих средств (анальгин и димедрол), для обезболивания применяли ксилазал (0,2 мл). Бройлеров фиксировали в левом боковом положении на специальном операционном столике, 0,5 % раствором новокаина выполняли проводниковую анестезию и инфильтрационную анестезию (в брюшную полость по линии разреза). Через разрез с правой стороны за последним ребром в каудальном направлении на расстоянии 4-5 см несколько выше края бокового отростка грудной кости извлекали каудальную часть подвздошной кишки и, отступя краниально от места впадения слепых отростков 1-2 см, производили разрез кишки. Слепые отростки промывали дезинфицирующим раствором и накладывали лигатуру для полной остановки их деятельности. На каудальную часть кишки накладывали серозно-слизистый кисетный шов, а затем, наложив сверху серозный шов, погружали предыдущий шов вовнутрь. Делали небольшое отверстие в брюшной стенке, отступив 4-5 см ниже и правее от клоаки, и узловыми швами подшивали к полученному отверстию краниальный отрезок подвздошной кишки, формируя искусственное анальное отверстие. После закрытия раны узловатыми швами в отверстие подшивали хлорвиниловую трубку длиной 1,5-2,0 см. Постоперационный восстановительный период длился 3-5 сут.

Опыты по усвояемости аминокислот и оценке физиологического состояния птицы выполняли на цыплятах с илеальной фистулой ($n = 6$), из которых формировали группы (по $n = 3$ в каждой). Для получения достоверных результатов опыты по кормлению выполняли не менее 3 раз на каждой цыпленке, заменяя группы по схеме латинского квадрата по следую-

щим периодам: 3 сут — контрольный рацион, 2 сут — переходный период, 3 сут — опытный период (монобелковый рацион на основе концентрата из личинок мух *Lucilia spp.*).

Обычный и экспериментальный рационы были составлены таким образом, что имели одинаковое содержание сырого протеина (23,6 %). Экспериментальный корм готовили таким образом, что единственным источником аминокислот корма выступал белковый концентрат из личинок мух в количестве, соответствующем 23,6 % сырого протеина. Декстроза («Roquette Freres SA», Франция) использовалась в качестве основного источника энергии. Корм был сбалансирован по кальцию, фосфору, витамину и микроэлементам согласно нормам ВНИТИП (2014), необходимое количество клетчатки обеспечивалось за счет хитина белкового концентрата из личинок мух и добавления целлюлозы торговой марки Arbocel («J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co KG», Германия).

Кровь (2-3 мл) брали из подкрыльцовой вены утром до кормления птицы. В качестве антикоагулянта использовался 3,8 % раствор цитрата натрия в объемном соотношении с пробой крови 1:10. Пробу центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин для отделения плазмы от форменных элементов. Полученную плазму исследовали на проточном полуавтоматическом анализаторе Sinnowa BS-3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай) с использованием биохимических наборов («ДИАКОН-ВЕТ», Россия), определяли общий белок, концентрацию мочевой кислоты; активность аланин-, аспаратаминотрансферазы и трипсина (26). Для выполнения балансового опыта учитывали количество потребленного корма и выделенного помета. Все экскременты на протяжении 3-суточного опытного периода собирали, упаковывали, хранили при -20 °С в лабораторном морозильнике, после чего лиофилизировали и анализировали на содержание аминокислот.

Количество аминокислот в корме и химусе подвздошной кишки оценивали с помощью ионообменной хроматографии с постколоночной дериватизацией нингидриновым реагентом и последующим детектированием при $\lambda = 570$ нм (для пролина $\lambda = 440$ нм). Анализы выполняли с использованием системы для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) YL 9100 HPLC System («Young Lin Instrument Co., Ltd», Корея).

Величины кажущейся (apparent ileal digestibility, AID) и стандартизированной (standardized ileal digestibility, SID) илеальной усвояемости рассчитывали по формулам:

$$AID = \frac{AK_{\text{потребленные}} - AK_{\text{в химусе ТК}}}{AK_{\text{потребленные}}} \times 100 \%,$$
$$SID = \frac{AK_{\text{потребленные}} - (AK_{\text{в химусе ТК}} - \text{основные ЭП})}{AK_{\text{потребленные}}} \times 100 \%,$$

где АК — аминокислоты, ТК — тонкий кишечник, ЭП — эндогенные потери.

Для преобразования AID в SID использовали средние значения основных эндогенных потерь аминокислот (27) в химусе подвздошной кишки бройлеров, полученные на безазотистом рационе (9) (мг/кг потребленного сухого вещества): сырой протеин — 9234; лизин — 255, метионин — 79, цистин — 169, треонин — 571, триптофан — 82, аргинин — 216, изолейцин — 390, лейцин — 381, валин — 449, гистидин — 209, фенилаланин — 237, глицин — 280, серин — 1023, пролин — 580, аланин — 301, аспарагиновая кислота — 612 и глутаминовая кислота — 1037.

Для статистической обработки результатов использовалось программное обеспечение JMP Trial 14.1.0 («SAS Institute, Inc.», США). Представлены средние (M) и их стандартные ошибки ($\pm SEM$). Для сравнения

полученных показателей усвояемости белкового концентрата с традиционно применяемым кормовым сырьем использовали базы данных программы AminoDat 5.0 («Evonik Industries AG», Германия), представляющей средние значения содержания стандартизированной илеальной усвояемости аминокислот по глобальной выборке.

Результаты. Состав экспериментального корма приведен в таблице 1.

1. Состав экспериментального монобелкового рациона на основе концентрата из личинок мух *Lucilia spp.* для цыплят-бройлеров (*Gallus gallus L.*) кросса Смена 8 (виварий СГЦ «Загорское» ФНЦ ВНИТИП РАН, Московская обл., 2019 год)

Компонент	Содержание, %
Белковый концентрат из личинок мух	37,5
Декстроза	52,5
Целлюлоза (Arbocel)	1,5
Масло подсолнечное	1,5
Дикальцийфосфат	3,0
Бикарбонат натрия	1,5
Хлорид калия	1,0
Витаминно-минеральный премикс	1,5

Аминокислотный анализ показывает, что контрольный и экспериментальный корм различались по содержанию некоторых аминокислот (табл. 2). В экспериментальном корме содержание глутаминовой кислоты ниже на 1,46 %, аргинина — на 0,43 %, пролина — на 0,37 %, цистина — на 0,17 %, метионина — на 0,17 %, чем в контрольном, хотя доля каждой из перечисленных аминокислот в белковом концентрате из личинки мух относительно высокая. При этом в экспериментальном корме оказалось выше содержание аланина (на 0,50 %), фенилаланина (на 0,36 %), гистидина (на 0,30 %) по сравнению с контрольным кормом.

2. Аминокислотный состав (%) средней пробы кормов для цыплят-бройлеров (*Gallus gallus L.*) кросса Смена 8 и исходного белкового концентрата из личинок мух *Lucilia spp.* (виварий СГЦ «Загорское» ФНЦ ВНИТИП РАН, Московская обл., 2019 год)

Ингредиент	Корм		Белковый концентрат из личинки мух
	контрольный	экспериментальный	
Аминокислота:			
аспарагиновая	2,20	2,23	5,98
треонин	0,74	0,8	2,30
серин	0,91	0,86	2,47
глутаминовая	4,33	2,87	7,9
глицин	1,01	0,94	2,74
аланин	0,97	1,47	4,22
валин	1,07	1,16	3,26
изолейцин	0,93	0,89	2,48
лейцин	1,54	1,37	3,76
тирозин	0,73	1,42	4,21
фенилаланин	1,01	1,36	3,75
гистидин	0,54	0,84	2,26
лизин	1,42	1,46	4,09
аргинин	1,50	1,07	2,99
пролин	1,29	0,92	2,57
цистин	0,36	0,19	0,51
метионин	0,75	0,58	1,48
Сырой протеин	23,61	23,63	62,79
Сырая клетчатка	3,52	7,65	3,56

Значения коэффициентов кажущейся и стандартизированной илеальной усвояемости аминокислот белкового концентрата из личинок мух

представлены в таблице 3.

3. Коэффициенты кажущейся (apparent ileal digestibility, AID) и стандартизированной (standardized ileal digestibility, SID) илеальной усвояемости аминокислот из белкового концентрата на основе личинок мух *Lucilia spp.* для цыплят-бройлеров (*Gallus gallus L.*) кросса Смена 8 ($n = 6$, $M \pm SEM$, виварий СГЦ «Загорское» ФНЦ ВНИТИП РАН, Московская обл., 2019 год)

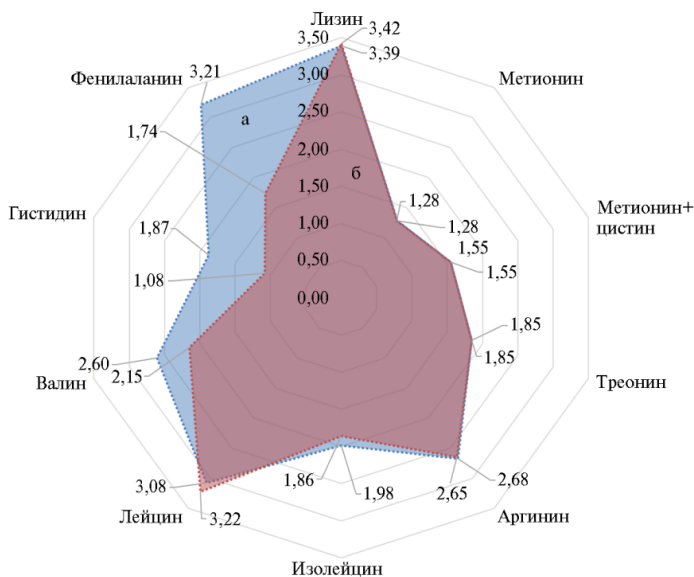
Аминокислота	AID, %	SID, %
Лизин	82,3±1,47	82,9±1,46
Метионин	86,1±1,30	86,6±1,29
Цистин	50,0±0,60	53,5±0,56
Треонин	77,9±1,63	80,4±1,58
Аргинин	88,8±0,51	89,5±0,51
Изолейцин	78,4±1,31	80,0±1,28
Лейцин	80,9±1,23	81,9±1,21
Валин	78,5±1,47	79,9±1,44
Гистидин	82,0±0,85	82,9±0,84
Фенилаланин	85,1±0,35	85,7±0,35
Тирозин	90,3±0,51	90,3±0,51
Глицин	65,4±3,51	66,4±3,46
Серин	80,9±1,91	85,0±1,82
Пролин	79,3±1,27	81,6±1,23
Аланин	78,9±1,70	79,6±1,68
Аспарагиновая кислота	80,7±1,21	81,7±1,19
Глутаминовая кислота	82,6±0,85	83,9±0,84

Судя по показателям кажущейся и стандартизированной илеальной усвояемости, аминокислоты белкового концентрата из личинок мух в среднем усваивались соответственно на 79,3 и 80,7 %. Полученные экспериментальные данные по усвояемости аминокислот белкового концентрата сравнивали со средними значениями содержания SID аминокислот по глобальной выборке базы данных AminoDat 5.0 («Evonik Industries AG», Германия). Среди незаменимых аминокислот самое низкое значение SID выявили у валина — 79,9 %, что на 0,9 % выше, чем его усвоение из рапсового шрота (79 %), а самое высокое — у аргинина (89,5 %), что с аналогичным показателем у кукурузного глютена (89,0 %). Среди заменимых аминокислот самое низкое значение SID было у цистина (53,5 %), что, однако, выше, чем усвояемость цистина из перьевой муки (48,0 %), но несколько ниже, чем для мясокостной муки птицы (56,0 %). Лучше всего из белкового концентрата усваивался тирозин (90,3 %), что сравнимо с его усвоением из рыбной муки.

Усвоение основных лимитирующих аминокислот было достаточно высоким — 82,9 % для лизина (выше показателя для кукурузного глютена — 80,0 %) и 86,6 % для метионина (усвояемость соответствует таковой из рыбной муки — 86-87 %). По количеству усвояемых незаменимых аминокислот белковый концентрат из личинок мух *Lucilia spp.* близок к лососевой рыбной муке (сравнение аминокислотных профилей незаменимых аминокислот представлены на рисунке). В лососевой рыбной муке по глобальной выборке в среднем содержится 3,42 % усвояемого лизина (по оценке SID), 1,55 % метионина + цистина, 1,85 % треонина, 2,68 % аргинина, что согласуется со средним содержанием усвояемых аминокислот в белковом концентрате из личинок мух в белковом концентрате выше соответственно на 0,12; 0,45; 0,79 и 1,47 %. По содержанию усвояемого лейцина белковый концентрат уступает лососевой рыбной муке на 0,14 %.

Содержание аминокислот в белковом концентрате с учетом их илеальной усвояемости представлено в таблице 4. Стоит отметить, что в рыбной муке, взятой для сравнения, по выборке из 33 анализов доля сырого протеина в среднем 54,71 %, в белковом концентрате из личинок мух *Lucilia spp.* — в среднем 62,79 %. Такая разница в количестве сырого протеина

объясняется не только более высокой усвояемостью аминокислот, но и тем, что показатель сырого протеина в белковом концентрате из личинок мух включает белковый азот и большое количество азота хитина и меланина, что затрудняет использование классического коэффициента пересчета азота на протеин, равного 6,25. R.H. Janssen с соавт. (28) предлагают коэффициент конверсии азота в протеин с учетом азота хитина и прочих азотсодержащих соединений для белковых концентратов из личинок мух, равный $5,60 \pm 0,39$. В белковом концентрате из личинок мух *Lucilia* spp., применяемом в нашем исследовании, при использовании уточненного коэффициента содержание сырого протеина, скорректированного на хитин, равно 56,26 %, что согласуется с количеством аминокислот в сравниваемой с ним рыбной муке с учетом усвояемости этих кормовых ингредиентов.



Среднее содержание SID аминокислот в белковом концентрате из личинок мух *Lucilia* spp. (а), использованном при приготовлении экспериментального корма для цыплят-бройлеров (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8, и в лососевой рыбной муке (б, данные взяты из базы данных AminoDat 5.0, «Evonik Industries AG», Германия).

4. Содержание аминокислот в белковом концентрате на основе личинок мух *Lucilia* spp. с учетом стандартизированной илеальной усвояемости (standardized ileal digestibility, SID) для цыплят-бройлеров (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8 ($M \pm SEM$, виварий СГЦ «Загорское» ФНЦ ВНИТИП РАН, Московская обл., 2019 год)

Аминокислота	Всего, %	С учетом SID, %
Лизин	4,09	3,39
Метионин	1,48	1,28
Метионин + цистеин	1,99	1,55
Треонин	2,3	1,85
Аргинин	2,99	2,68
Изолейцин	2,48	1,98
Лейцин	3,76	3,08
Валин	3,26	2,60
Гистидин	2,26	1,87
Фенилаланин	3,75	3,21
Тирозин	4,21	3,80
Глицин	2,74	1,82
Серин	2,47	2,10
Пролин	2,57	2,10
Аланин	4,22	3,36
Аспарагиновая кислота	5,98	4,89
Глутаминовая кислота	7,9	6,63

Мы также сравнили биохимические и морфологические показатели крови, отражающие состояние метаболизма животных, при использовании в рационе белкового концентрата из личинок мух *Lucilia* spp. (табл. 5).

5. Биохимические и гематологические показатели крови у цыплят-бройлеров (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8 при использовании в рационе белкового концентрата на основе личинок мух *Lucilia* spp. ($n = 6$, $M \pm SEM$, виварий СГЦ «Загорское» ФНЦ ВНИТИП РАН, Московская обл., 2019 год)

Показатель	Группы	
	контрольная	опытная
Общий белок, г/л	25±0,4	30±0,4*
Мочевая кислота, мкмоль/л	79±4,4	90±3,4
Трипсин, ед/л	59±2,4	65±3,3
Аланинаминотрансфераза, ед/л	6,8±0,72	8,4±0,25*
Аспаратаминотрансфераза, ед/л	338±15,9	255±18,6*
Коэффициент де Ритиса	50	30
Эритроциты, $\times 10^{12}$ /л	1,8±0,03	1,9±0,04
Гемоглобин, г/л	94±0,5	98±1,2*
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	31,2±1,00	30,9±1,00

* Различия с контролем статистически значимы при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования показывают, что метаболизм цыплят-бройлеров при введении в рацион белкового концентрата из личинок мух изменяется в сторону усиления анаболических и снижения активности катаболических процессов. Об этом свидетельствует уменьшение коэффициента де Ритиса почти в 1,7 раза по сравнению с контролем. Повышение содержания гемоглобина в крови на 4,2 % ($p \leq 0,05$) указывает на интенсивность окислительных процессов у цыплят, получавших экспериментальный корм. Таким образом, использование в рационе цыплят-бройлеров белкового концентрата из личинок мух *Lucilia* spp. положительно влияет на обмен веществ за счет достоверно повышения активности аланинаминотрансферазы на 23,5 % и снижения активности аспаратаминотрансферазы на 24,6 %, а также увеличения количества общего белка в крови на 20,0 %, гемоглобина — на 4,2 % по сравнению с контролем.

Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований по усвояемости белка личинок мух других видов. У высушенных необезжиренных личинок комнатной мухи *Musca domestica* L. (*Diptera: Muscidae*), выращенных на помете бройлеров (29), процент кажущейся илеальной усвояемости аминокислот в среднем равен 83,16 % против 79,30 % для *Lucillia* spp., а значения AID лизина, метионина, треонина, валина и аргинина составили 87,0; 88,0; 78,0; 81,0 и 88,0 % против 82,3; 86,1; 77,9; 78,5 и 88,8 %. В наших опытах процент усвояемости оказался ниже, что, вероятно, связано с разным возрастом птицы, использованной в экспериментах, биологическими особенностями мух разных видов, а также с формой продукта: в своей работе Н.Н. Халл с соавт. (29) применяли другую технологии сушки при получении необезжиренной биомассы личинок — 65 °С в течение 3 ч и затем 40 мин при 95 °С против 1 ч при 110 °С в нашем исследовании. Термообработка личинок насекомых играет важную роль в усвояемости. Так, сравнение переваримости сырого протеина *in vitro* в зависимости от способа приготовления (варка, жарка на сковороде, приготовление в вакууме и приготовление в духовке) большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* L. (*Coleoptera: Tenebrionidae*) (30) показала ее улучшение при любой термической обработке, хотя имеются и обратные результаты (31), но они были получены при использовании более высоких температур продолжительного нагрева. Показано, что длительная термообработка увеличивает число дисульфидных связей в молекулах белка и ускоряет их окисление, тем самым изменяет конформацию белков и уменьшает доступность пептидных связей

для ферментов (31).

Усвояемость белка личинок черной львинки *Hermetia illucens* L. (*Diptera: Stratiomyidae*) сравнивалась в многочисленных публикациях. Так, усредненный процент кажущейся илеальной усвояемости аминокислот из личинок *H. illucens*, выращенных на зерновых отходах и высушенных при температуре 60 °С в течение 20 ч без дальнейшего обезжиривания составила 68 % (32), что значительно ниже полученного нами для *Lucillia* spp. значения и не согласуется с результатами другого исследования (33), в котором для обезжиренного белкового концентрата из *H. illucens* получили AID и SID соответственно 80,7 и 86,0 %. В работе Z. Mwaniki с соавт. (34) значения кажущейся илеальной усвояемости по некоторым аминокислотам близки к полученным нами: AID лизина, метионина, треонина, валина, аргинина равен соответственно 83,9; 85,3; 78,2; 85,0 и 88,7 % для *H. illucens* и 82,3; 86,1; 77,9; 78,5 и 88,8 % для *Lucillia* spp. Данные Z. Mwaniki с соавт. (34) также подтверждаются исследованием A. Schiavone с соавт. (35), в котором при использовании обезжиренной муки из черной львинки (65,5 % сырого протеина), высушенной при 60 °С в течение 20 ч, средняя кажущаяся илеальная усвояемость аминокислот составила 80 %, по лизину, метионину, треонину, валину и аргинину — соответственно 80, 78, 77, 91 и 80 %, что в целом согласуется с результатами нашего исследования.

Итак, установлено, что белок личинок *Lucilia* spp. представляет собой ценный источник усвояемых аминокислот. Впервые определена илеальная усвояемость аминокислот белкового концентрата из личинок мух рода *Lucilia* L. (кажущаяся и стандартизированная в среднем составила 79,3 и 80,7 %). Полученные данные о коэффициентах SID (стандартизированная илеальная усвояемость) будут полезны при составлении рецептур инновационных кормов для птицы. Использование в рационе цыплят-бройлеров белкового концентрата из личинок мух положительно повлияло на обмен веществ за счет увеличения активности аланинаминотрансферазы на 23,5 % ($p \leq 0,05$) и снижения активности аспартатаминотрансферазы на 24,6 % ($p \leq 0,05$), а также повышения ($p \leq 0,05$) содержания общего белка в крови на 20,0 % и гемоглобина на 4,2 % по сравнению с контролем.

¹ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет—МСХА им. К.А. Тимирязева,
127550 Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49,
e-mail: mikhael.sterh@gmail.com ✉, kormlenieskota@gmail.com;

²ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН,
141311 Россия, Московская обл., г. Сергиев Посад,
ул. Птицеградская, 10,
e-mail: Vertiprakhov63@mail.ru ✉, lkhasanova@mail.ru, vlk.733@mail.ru;

³ООО «Зоопротейн»,
398001 Россия, Липецкая обл., г. Липецк, Советская ул., 64, оф. 701,
e-mail: ms@misma.pro, ais@misma.pro

Поступила в редакцию
24 сентября 2020 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2020, V. 55, № 6, pp. 1233-1244

THE STANDARDIZED ILEAL DIGESTIBILITY OF AMINO ACIDS
FROM PROTEIN CONCENTRATE BASED ON THE LARVAE
OF COMMON GREEN BOTTLE FLY *Lucilia* spp. (*Diptera: Calliphoridae*)
AND ITS EFFECTS ON THE MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL
BLOOD INDICES IN BROILERS (*Gallus gallus* L.)

M.S. Zhuravlev¹ ✉, V.G. Vertiprakhov² ✉, M.V. Koshcheyeva², N.P. Buryakov¹,
M.I. Smahliuk³, A.I. Istomin³

¹Timiryazev Russian State Agrarian University—Moscow Agrarian Academy, 49, ul. Timiryazevskaya, Moscow, 127550 Russia, e-mail mikhail.sterh@gmail.com (✉ corresponding author), kormlenieskota@gmail.com;

²Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, 10, ul. Ptitsegradskaya, Sergiev Posad, Moscow Province, 141311 Russia, e-mail Vertiprakhov63@mail.ru (✉ corresponding author), lkhasanova@mail.ru, vlk.733@mail.ru;

³OOO «Zooprotein», 64 of. 701, Sovetskaya ul., Lipetsk, Lipetsk Province, 398001 Russia, e-mail ms@misma.pro, ais@misma.pro

ORCID:

Zhuravlev M.S. orcid.org/0000-0002-4586-2937

Buryakov N.P. orcid.org/0000-0002-6776-0835

Vertiprakhov V.G. orcid.org/0000-0002-3240-7636

Smahliuk M.I. orcid.org/0000-0003-3676-9746

Koshcheyeva M.V. orcid.org/0000-0002-0744-1883

Istomin A.I. orcid.org/0000-0003-0394-5280

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially from the Russian Science Foundation for the Project No. 16-16-04089-П “Study of physiological and microbiological aspects of digestion in meat chicken in embryonic and post-embryonic periods to develop diets which fully meet the genetic potential of poultry”

Received September 24, 2020

doi: 10.15389/agrobiol.2020.6.1233eng

Abstract

Bioconversion is an ecologically friendly and effective way of the utilization of organic wastes; it involves the use of these wastes as a substrate in the biotechnologies of different products. The larvae of the black soldier fly (*Hermeia illucens* L.) grown on the organic wastes have been earlier studied as a raw material for feed ingredients for poultry; recently the larvae of common green bottle fly (*Lucilia* spp.) draw the attention as a potential source of feed-grade protein for animals and poultry. The dried defatted biomass of the larvae contains crude protein (no less than 62 %), fat (10 %), lysine (no less than 4 %), methionine + cystine (2.0 %) and hence could be a promising protein source in diets for poultry. However, despite the apparent advantages of the bioconversion of organic wastes by insects into the dietary protein sources for poultry there is a scarcity of the data on the quality of these products and on their effects on poultry. Earlier research evidenced the efficiency of the supplementation of diets for growing turkeys with 5.0-7.5 % of dried full-fat *Lucilia* larvae; however, the ileal digestibility of amino acids in turkeys (necessary for the balancing of dietary amino acids) was not assessed. The study presented is a first attempt of the *in vivo* assessment of ileal digestibility of amino acids from *Lucilia* larvae protein concentrate (LLPC) in broilers (*Gallus gallus* L.). The aim of the study was the determination of apparent (AID) and standardized ileal digestibility (SID) of amino acids from LLPC within the experimental diet and its effects on the morphological and biochemical blood indices in broilers. AID and SID were determined in the vivarium of the All-Russian Research and Technological Institute of Poultry in 2019 on broilers (cross Smena 8, 18-42 days of age) with chronic ileal fistulae fed mono-protein diet contained LLPC, dextrose, fiber, and a premix of vitamins and minerals. SID was calculated with the endogenous losses of amino acids taken into account. SID of potentially limiting amino acids were as follows: lysine 82.9 %, methionine 86.6 %; threonine 80.4 %; arginine 89.5 %; isoleucine 80.0 %; leucine 81.9 %; valine 79.9 %; histidine 82.9 %, and phenylalanine 85.7 %. The beneficial effects of LLPC on the blood indices were found: the activity of alanine transaminase was significantly higher by 23.5 % in broilers fed LLPC in compare to control while the activity of aspartate transaminase was lower by 24.6 % ($p < 0.05$) indicating the prevalence of the anabolic processes over the catabolic. The significant increase in total protein concentration in serum (by 20.0 %, $p < 0.05$) and increase in hemoglobin concentration by 4.2 % in compare to control evidenced the activation of the metabolism. The use of SID (instead of AID) allows for more accurate balancing of dietary contents of available amino acids, more adequate amino acid supply to poultry, and for the reduction of nitrogen emissions into the environment due to the optimization of dietary protein content.

Keywords: broilers, poultry farming, alternative protein sources, ileal digestibility, insects, zooprotein.

REFERENCES

1. Dedyeva V.V., Istomin A.I., Argunov M.N., Zhukov I.V., Stepanov V.A. *Materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 90-letiyu fakul'teta veterinarnoi meditsiny i tekhnologii zhivotnovodstva, provodimoi na baze FGBOU VO Voronezhskii gosudarstvennyi agronomicheskii universitet* [Proc. Int. Conf., dedicated to the 90th anniversary of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry Technology, the Voronezh State Agronomic University]. Voronezh, 2016: 87-90 (in Russ.).
2. Nekrasov R.V., Chabaev M.G., Zelenchenkova A.A., Bastrakov A.I., Ushakova N.A. Nutritional properties of *Hermetia illucens* L., a new feed product for young pigs (*Sus scrofa domestica* Erxleben). *Agricuktural Biology [Sel'skokhozyaistvennaya biologiya]*, 2019, 54(2): 316-325 (doi: 10.15389/agrobiol.2019.2.316eng).
3. Bastrakov A.I., Dontsov A.E., Ushakova N.A. *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN*, 2016,

- 4: 77-79 (in Russ.).
4. Oonincx D.G., Van Itterbeeck J., Heetkamp M.J., Van Den Brand H., Van Loon J.J., Van Huis A. An exploration on greenhouse gas and ammonia production by insect species suitable for animal or human consumption. *PLoS ONE*, 2010, 5(12): e14445 (doi: 10.1371/journal.pone.0014445).
 5. Oonincx D.G.A.B., De Boer I.J.M. Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans — a life cycle assessment. *PLoS ONE*, 2012, 7(12): e51145 (doi: 10.1371/journal.pone.0051145).
 6. Van Huis A. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annual Review of Entomology*, 2013, 58: 563-583 (doi: 10.1146/annurev-ento-120811-153704).
 7. FAO. *Global food losses and food waste — extent, causes and prevention*. Rome, 2011.
 8. Barragan-Fonseca K.B., Dicke M., van Loon J.J. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed — a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2017, 3(2): 105-120 (doi: 10.3920/JIFF2016.0055).
 9. Dabbou S., Gai F., Biasato I., Capucchio M.T., Biasibetti E., Dezzutto D., Schiavone A. Black soldier fly defatted meal as a dietary protein source for broiler chickens: effects on growth performance, blood traits, gut morphology and histological features. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2018, 9(1): 49 (doi: 10.1186/s40104-018-0266-9).
 10. Maurer V., Holinger M., Amsler Z., Früh, B., Wohlfahrt J., Stamer A., Leiber F. Replacement of soybean cake by *Hermetia illucens* meal in diets for layers. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2016, 2(2): 83-90 (doi: 10.3920/JIFF2015.0071).
 11. Woods M.J., Cullere M., Van Emmenes L., Vincenzi S., Pieterse E., Hoffman L.C., Zotte A.D. *Hermetia illucens* larvae reared on different substrates in broiler quail diets: effect on apparent digestibility, feed-choice and growth performance. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2019, 5(2): 89-98 (doi: 10.3920/JIFF2018.0027).
 12. Veldkamp T., Van Niekerk T. Live black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) for turkey poults. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2019, 5(4): 301-311 (doi: 10.3920/JIFF2018.0031).
 13. Newton G.L., Booram C.V., Barker R.W., Hale O.M. Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *Journal of Animal Science*, 1977, 44(3): 395-400 (doi: 10.2527/jas1977.443395x).
 14. Caimi C., Renna M., Lussiana C., Bonaldo A., Gariglio M., Meneguz M., Dabbou S., Schiavone A., Gai F., ConcettaElia A., Prearo M., Gasco L. First insights on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal dietary administration in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) juveniles. *Aquaculture*, 2020, 515: 734539 (doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734539).
 15. Belghit I., Liland N.S., Gjesdal P., Biancarosa I., Menchetti E., Li Y., Lock E.J. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 2019, 503: 609-619 (doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.12.032).
 16. Huis A., Oonincx D. The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 2017, 37(5): 43 (doi: 10.1007/s13593-017-0452-8).
 17. Moula N., Detilleux J. A meta-analysis of the effects of insects in feed on poultry growth performances. *Animals*, 2019, 9(5): 201 (doi: 10.3390/ani9050201).
 18. Sogari G., Amato M., Biasato I., Chiesa S., Gasco L. The potential role of insects as feed: a multi-perspective review. *Animals*, 2019, 9(4): 119 (doi: 10.3390/ani9040119).
 19. Romanenko E., Istomin A., Zhukov I., Argunov M., Dedyeva V. *Kombikorma*, 2018, 7: 79-81 (in Russ.).
 20. Nekrasov R., Chabaev M., Zelenchenkova A., Zhuravlev M. *Kombikorma*, 2019, 3: 41-43 (doi: 10.25741/2413-287X-2019-03-3-052) (in Russ.).
 21. Romanenko E.A., Istomin A.I. Intensivnost' rosta i razvitiya indyushat krossa big-6 pri ispol'zovanii belka iz lichinok mukh populyatsii *Lucilia caesar*. *Politematicheskii setevoi elektronnyi nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2020, 157: 136-144 (doi: 10.21515/1990-4665-157-011) (in Russ.).
 22. Dalibard P., Paillard E. Use of the digestible amino acid concept in formulating diets for poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 1995, 53(2): 189-204 (doi: 10.1016/0377-8401(95)02010-W).
 23. Yapontsev A.E. *Pitsevodstvo*, 2016, 2: 35-37 (in Russ.).
 24. *Evropeiskaya konventsiya o zashchite pozvonochnykh zhivotnykh, ispol'zuemykh dlya eksperimentov ili v inykh nauchnykh tselyakh (ETS № 123) (Strasburg 18.03.1986)* [The European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS № 123) (Strasburg 18.03.1986)]. Available: http://www.conventions.ru/view_base.php?id=19432. No date (in Russ.).
 25. Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Kislova I.V., Rebrakova T.M. *Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii*, 2019, 4: 125-131 (in Russ.).
 26. Vertiprakhov V.G., Grozina A.A. *Veterinariya*, 2018, 12: 51-54 (doi: 10.30896/0042-4846.2018.21.12.51-54) (in Russ.).
 27. Golian A., Guenter W., Hoehler D., Jahanian H., Nyachoti C. Comparison of various methods for endogenous ileal amino acid flow determination in broiler chickens. *Poultry Science*, 2008, 87(4): 706-712 (doi: 10.3382/ps.2007-00330).
 28. Janssen R.H., Vincken J. P., van den Broek L.A., Fogliano V., Lakemond C.M. Nitrogen-to-

- protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(11): 2275-2278 (doi: 10.1021/acs.jafc.7b00471).
29. Hall H.N., Masey O'Neill H.V., Scholey D., Burton E., Dickinson M., Fitches E.C. Amino acid digestibility of larval meal (*Musca domestica*) for broiler chickens. *Poultry Science*, 2018, 97(4): 1290-1297 (doi: 10.3382/ps/pex433).
 30. Megido R.C., Poelaert C., Ernens M., Liotta M., Blecker C., Danthine S., Francis, F. Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). *Food Research International*, 2018, 106: 503-508 (doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.002).
 31. Poelaert C., Beckers Y., Despret X., Portetelle D., Francis F., Bindelle J. In vitro evaluation of fermentation characteristics of two types of insects as potential novel protein feeds for pigs. *Journal of Animal Science*, 2016, 94: 198-201 (doi: 10.2527/jas.2015-9533).
 32. Bax M., Aubry L., Ferreira C., Daudin J., Gatellier P., Rémond D., Santé-Lhoutellier V. Cooking temperature is a key determinant of in vitro meat protein digestion rate: investigation of underlying mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(10): 2569-2576 (doi: 10.1021/jf205280y).
 33. De Marco M., Martínez S., Hernandez F., Madrid J., Gai F., Rotolo L., Kovitvadhi A. Nutritional value of two insect larval meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for broiler chickens: apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy. *Animal Feed Science and Technology*, 2015, 209: 211-218 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.08.006).
 34. Mwaniki Z., Neijat M., Kiarie E. Egg production and quality responses of adding up to 7.5 % defatted black soldier fly larvae meal in a corn-soybean meal diet fed to Shaver White Leghorns from wk 19 to 27 of age. *Poultry Science*, 2018, 97(8): 2829-2835 (doi: 10.3382/ps/pey118).
 35. Schiavone A., De Marco M., Martínez S., Dabbou S., Renna M., Madrid J., Gasco L. Nutritional value of a partially defatted and a highly defatted black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) meal for broiler chickens: apparent nutrient digestibility, apparent metabolizable energy and apparent ileal amino acid digestibility. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2017, 8(1): 51 (doi: 10.1186/s40104-017-0181-5).