

ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УЛЬТРАДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ И СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ И НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА РУБЦОВОЕ ПИЩЕВАРЕНИЕ *in vitro**

Е.А. СИЗОВА^{1, 2}, Е.В. ЯУШЕВА¹✉, А.М. КАМИРОВА¹, Д.Е. ШОШИН^{1, 2},
К.В. РЯЗАНЦЕВА¹, К.С. НЕЧИТАЙЛО^{1, 2}

Повышение показателей продуктивности остается актуальным вопросом животноводства и связано с удовлетворением потребностей организма сельскохозяйственных животных в питательных веществах, в том числе макро- и микроэлементах. Ультрадисперсные частицы (УДЧ) диоксида кремния перспективны как стимуляторы процессов пищеварения. Однако следует проводить предварительную оценку взаимодействия УДЧ с другими кормовыми компонентами для выявления потенциальных синергических и антагонистических эффектов и обоснования рецептуры кормовой добавки. В настоящей работе впервые выявлены показатели рубцового пищеварения и элементный профиль рубцовой жидкости при комбинации УДЧ диоксида кремния с органическими и неорганическими источниками серы в составе кормовой добавки. Выявлено стимулирующее действие трехкомпонентной добавки (УДЧ диоксида кремния, комплекс аминокислоты, сульфат натрия) на азотный обмен, метаболизм короткоцепочечных жирных кислот и биодоступность эссенциальных элементов из корма. Нашей целью было изучение совместного влияния ультрадисперсных частиц диоксида кремния и серосодержащих соединений на концентрацию химических элементов в рубцовой жидкости и особенности рубцового метаболизма с оценкой переваримости, бактериальной биомассы, содержание летучих жирных кислот и форм азота. Исследования проведены в Федеральном научном центре биологической систем и агротехнологий РАН, на базе центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве» и в центре коллективного пользования биологических систем и агротехнологий РАН в 2023 году. Схема эксперимента *in vitro* была следующей: контроль — без добавок, I группа — УДЧ диоксида кремния + натрий сернокислый, II группа — УДЧ диоксида кремния + аминокислоты (лизин, метионин, триптофан), III группа — УДЧ диоксида кремния + натрий сернокислый + аминокислоты (лизин, метионин, триптофан). Исследования проводили на модели «искусственного рубца» с использованием установки-инкубатора ANKOM Daisy II («ANKOM Technology Corporation», США). Биосубстрат (пшеничные отруби) для переваривания и исследуемые комплексы помещали в герметичные полиэфирные мешочки ($n = 5$) и инкубировали в установке с рубцовой жидкостью при $+39,5$ °C. Каждый исследуемый комплекс инкубировали в отдельном сосуде с рубцовой жидкостью, который постоянно вращался. Рубцовую жидкость отбирали через хроническую фистулу рубца («ANKOM Technology Corporation», США) через 3 ч после кормления у быка породы казахская белоголовая (250 кг, 10 мес), основной рацион которого включал 30 % концентратов и 70 % грубых кормов. Коэффициент переваримости сухого вещества *in vitro* вычисляли как разницу масс образца корма с мешочком до и после инкубации. Численность простейших в рубцовой жидкости определяли в камере Горяева. Микробальную массу рассчитывали методом дифференцированного центрифугирования с последующим высушиванием. Элементный состав (Mg, Ca, K, P, Mn, I, Co, Fe, Zn, Cu, Ni, Pb, As, Al, Cd) рубцовой жидкости определяли атомно-эмиссионным и масс-спектральными методами на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 ICP-MS («Agilent Technologies», США). Общий и остаточный азот в рубцовой жидкости определяли методом Кьельдаля по ГОСТ 13496.4-2019 (М., 2019), белковый — по разности общего и остаточного азота, аммиак — микродиффузным методом в чашках Конвея по ГОСТ 26180-84 (М., 1984). Общее количество летучих жирных кислот в рубцовой жидкости оценивали на хроматографе Кристалл ЛЮКС 4000 (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия). По результатам опытов было отмечено увеличение коэффициента переваримости в I и III группах на 2,9 и 3,2 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем. В рубцовой жидкости наблюдалось снижение концентрации Ni и Al в I (на 16 и 14,6 %, $p \leq 0,05$) и II (на 16,5 и 10,6 %, $p \leq 0,05$) группах относительно контрольных значений. В III группе отмечали увеличение концентрации Mg, P, Ca и Fe на 17,7; 22,1; 13,8 и 76 % ($p \leq 0,05$), а также снижение содержания Pb (–27,3 %, $p \leq 0,05$) и Cd (–73,0 %, $p \leq 0,05$). Концентрация уксусной кислоты в рубцовой жидкости в I, II и III группах была на 10,4; 26,4 и 15,8 % выше, чем в контроле, масляной кислоты в тех же группах — на 13,8; 25 и 43,8 %. Наблюдались изменения в количестве общего азота в сравнении с контролем: в I группе

* Эксперименты проведены на базе центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве» и в Центре коллективного пользования биологических систем и агротехнологий РАН (<http://цкп-бст.рф>). Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 20-16-0078-П.

показатель был ниже на 3,5 %, во II и III группах — выше соответственно на 39,7 ($p \leq 0,05$) и 45,3 % ($p \leq 0,05$). Таким образом, было выявлено положительное влияние совместного использования УДЧ диоксида кремния с аминокислотным комплексом и сульфатом натрия для стимуляции процессов рубцового пищеварения. Показана перспектива применения сочетания УДЧ диоксида кремния с аминокислотами и сульфатом натрия для повышения биодоступности эссенциальных элементов из корма, и снижения концентрации токсичных в рубцовой жидкости.

Ключевые слова: аминокислоты, сульфат натрия, биодоступность, ультрадисперсные частицы диоксида кремния, рубцовое пищеварение.

Одним из важнейших факторов, лимитирующих эффективность кормления, в мясном скотоводстве выступает дисбаланс элементов в организме животных. Он может быть вызван как избытком тех или иных элементов (гиперэлементозом), так и дефицитом эссенциальных металлов, который приводит к развитию патологий органов и тканей (1-3). Макро- и микроэлементы — это ключевые нутриенты, обеспечивающие эффективное функционирование всех систем организма. Они служат кофакторами многих ферментов и гормонов, необходимы для развития костной и других тканей (4).

Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных сопровождается метаболическими перестройками, в значительной степени изменяющими потребность организма в химических элементах (5). Коррекция эссенциальных элементов обеспечивает снижение риска возникновения ассоциированных патологий и может в ряде случаев обладать ростостимулирующим влиянием, обеспечивая хороший продуктивный эффект. Подобное было продемонстрировано в отношении цинка (6), меди (7), а также мультиминеральных добавок (8). Следовательно, обеспечение крупного рогатого скота (КРС) биодоступными эссенциальными элементами и снижение гиперэлементоза — одна из результативных стратегий повышения эффективности кормления в мясном скотоводстве.

Поиск эффективных комбинаций биологически активных веществ, обеспечивающих повышение показателей продуктивности и коррекцию элементозов, чрезвычайно актуален (9). Перспективным классом веществ, способным в микродозировках оказывать влияние на продуктивность и адсорбцию элементов в организме, служат ультрадисперсные частицы (УДЧ) различной природы, в том числе кремнийсодержащие (10). Интерес к использованию кремния в животноводстве обусловлен рядом его функций.

Кремний играет важную роль в развитии костной и соединительной ткани, иммунных реакциях, в обмене жиров, белков и углеводов (11). Показано положительное влияние УДЧ диоксида кремния на пищеварение КРС (12-14) и птицы (15). Отмечается, что кремнийсодержащие вещества способны не только увеличивать переваримость компонентов корма, но и влияют на усвоение в организме элементов, в том числе кальция (16, 17). Описана способность УДЧ диоксида кремния снижать концентрацию тяжелых металлов (свинец, алюминий) (18). Это позволяет рассматривать их в качестве потенциальной составляющей рациона. Однако особенности синергизма и антагонизма элементов, влияние на их биодоступность и усвоение в организме используемых УДЧ диоксида кремния в смеси с другими компонентами малоизучено. Показано, что комбинирование УДЧ диоксида кремния в рационе с компонентами органической и минеральной природы приводит к изменениям переваримости питательных веществ корма (19). Поэтому при оценке перспектив применения диоксида кремния в животноводстве следует учитывать, что УДЧ могут взаимодействовать с другими компонентами, которые также используются в качестве дополнений к основному рациону или для его нормирования, и приводить к изменению их

усвоения.

Одним из таких компонентов, играющих важную роль в пищеварении жвачных, выступает сера (20). Сера — жизненно необходимый элемент для сельскохозяйственных животных, она связана с метаболизмом азота и входит в состав аминокислот, витаминов, коферментов и антибиотиков природного происхождения (21). Ключевая роль серы для синтеза микробильного белка отмечается в рубцовом пищеварении у жвачных (22).

Органическими серосодержащими компонентами кормовых добавок в животноводстве служат аминокислотные комплексы на основе незаменимых аминокислот, таких как метионин, лизин и триптофан (23). Особое внимание уделяется содержанию в рационах метионина. Метионин — ультразаменимая серосодержащая аминокислота, которая обеспечивает синтез металлотионеинов, способных связывать и выводить токсины из организма (24). Высокая эффективность метионина в кормлении достигается его совместным применением с триптофаном и лизином (25, 26).

Среди неорганических компонентов кормовых добавок широкое применение получили минеральные источники серы (8, 27). Так, сернокислый (безводный) натрий положительно влияет на рубцовое пищеварение и увеличивает содержание в плазме ряда аминокислот (28, 29).

Таким образом, следует проводить предварительную оценку взаимодействия УДЧ с другими кормовыми компонентами для выявления потенциальных синергических и антагонистических эффектов и обоснования рецептуры кормовой добавки.

В настоящей работе впервые получены показатели рубцового пищеварения и элементный профиль рубцовой жидкости при комбинации УДЧ диоксида кремния с органическими и неорганическими источниками серы в составе кормовой добавки. Выявлено стимулирующее действие трехкомпонентной добавки (УДЧ диоксида кремния, комплекс аминокислоты, сульфат натрия) на азотный обмен, метаболизм короткоцепочечных жирных кислот и биодоступность эссенциальных элементов из корма *in vitro*.

Нашей целью было изучение совместного влияния ультрадисперсных частиц диоксида кремния и серосодержащих соединений на концентрацию химических элементов в рубцовой жидкости и особенности рубцового метаболизма с оценкой переваримости, бактериальной биомассы, содержание летучих жирных кислот и форм азота.

Методика. Исследования проведены в 2023 году (одобрены Комитетом по биоэтике ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН, протокол № 1 от 17.01.2023). Обслуживание животных и эксперименты выполняли в соответствии с Модельным законом Межпарламентской Ассамблеи государств — участников Содружества Независимых Государств «Об обращении с животными», статья 20 (постановление 29-й Межпарламентской Ассамблеи государств — участников СНГ № 29-17 от 31 октября 2007 года).

Использовали следующие вещества (мг/л рубцовой жидкости): химически чистые ультрадисперсные частицы (УДЧ) диоксида кремния (SiO_2 — 99,8 %; Cl_2 — < 0,2 %; $S_{уд} = 55,4 \text{ м}^2/\text{г}$; Z-потенциал — $31 \pm 0,5 \text{ мВ}$ (ИП Хисамутдинов Р.А., Россия) в количестве 100 мг/л, химически чистый Na_2SO_4 безводный в дозе 133,2 мг/л (ООО «Орхимком», Россия), L-триптофан 98 % — 4,66 мг/л (ООО «Волгахимпром», Россия), DL-метионин 99 % — 60 мг/л (ООО «Азимут», Россия), L-лизин моногидрохлорид 98,5 % — 360 мг/л (ООО «Азимут», Россия). Выбор дозировок был обоснован ранее проведенными исследованиями и нормами кормления (30, 31). Использовались аминокислоты, защищенные от активного распада в рубце.

В эксперименте *in vitro* оценивали влияние сочетания УДЧ диоксида

кремния с сульфатом натрия и аминокислотным комплексом на интенсивность рубцового пищеварения и концентрацию химических элементов. Схема эксперимента была следующей: контроль — без добавок, I группа — УДЧ диоксида кремния + натрий серноокислый, II группа — УДЧ диоксида кремния + аминокислоты (лизин, метионин, триптофан), III группа — УДЧ диоксида кремния + натрий серноокислый + аминокислоты (лизин, метионин, триптофан).

Исследования проводили на модели «искусственного рубца» с использованием установки-инкубатора ANKOM Daisy II («ANKOM Technology Corporation», США). Биосубстрат (пшеничные отруби) для переваривания и исследуемые комплексы помещали в герметичные полиэфирные мешочки ($n = 5$) и инкубировали в установке с рубцовой жидкостью при $+39,5$ °С. Каждый исследуемый комплекс инкубировали в отдельном сосуде с рубцовой жидкостью, который постоянно вращался.

Отбор рубцовой жидкости осуществляли через хроническую фистулу рубца («ANKOM Technology Corporation», США) через 3 ч после кормления у быка породы казахская белоголовая (250 кг, 10 мес), основной рацион которого включал 30 % концентратов и 70 % грубых кормов. Транспортировку осуществляли в течение 30 мин, поддерживая температурный режим $+38,5...+39,5$ °С. Рубцовую жидкость до анализа хранили в закрытом сосуде без доступа воздуха. Перед использованием тщательно встряхивали и процеживали через 4 слоя марли и инкубировали в искусственном рубце при постоянной температуре $+39,5$ °С в течение 48 ч. По окончании инкубации образцы промывали и высушивали при $+60$ °С до постоянной массы.

Переваримость сухого вещества корма оценивали по методике В. Лампетера в модификации Г.И. Левахина и А.Г. Мещерякова (32). Коэффициент переваримости сухого вещества *in vitro* вычисляли как разницу масс образца корма с мешочком до и после инкубации по следующей формуле: $K = (A - B)/C \times 100$ %, где K — коэффициент переваримости сухого вещества корма, %; A — исходная масса 1 (образец корма с мешочком), мг; B — масса после двухстадийной инкубации (образец корма с мешочком), мг; C — исходная масса 2 (образец корма без массы мешочка), мг.

Численность простейших в рубцовой жидкости определяли в камере Горяева. Для этого в пробирку отбирали 5 мл профильтрованного содержимого рубца и добавляли 0,1 мл 4 % раствора формалина для фиксации инфузорий. Это позволяло подсчитывать число простейших в течение 20-24 ч после взятия содержимого рубца. Затем добавляли изотонический раствор натрия хлорида, предварительно окрашенный раствором метиленового синего. В камеру Горяева с сеткой под покровное стекло вносили 1 каплю жидкости (первую каплю выдували на вату). Инфузории подсчитывали в 100 больших квадратах. Полученную сумму умножали на 5000, получая число инфузорий в 1 мл рубцового содержимого.

Микробильную массу рассчитывали методом дифференцированного центрифугирования с последующим высушиванием. Рубцовую жидкость центрифугировали при ступенчатом увеличении центробежного ускорения, которое выбиралось так, чтобы на каждом этапе на дно пробирки осаждалась определенная фракция. В конце каждой стадии осадок отделяли от надосадочной жидкости и несколько раз промывали, чтобы в конечном итоге позволило получить чистую осадочную фракцию. Для осаждения бактерий использовали центрифуги Mini («GYROZEN Co., Ltd.», Южная Корея) с фактором разделения около 7 тыс. (9-10 тыс. об/мин). Осаждение простейших проводили на центрифугах Mini («GYROZEN Co., Ltd.», Южная Корея) с малым фактором разделения (1,5-3 тыс. об/мин). После получения

чистой осадочной фракции ее взвешивали (весы лабораторные ВЛА-135М, класс точности I, ООО «НПП «Госметр», Россия) и определяли бактериальную массу.

Элементный состав (Mg, Ca, K, P, Mn, I, Co, Fe, Zn, Cu, Ni, Pb, As, Al, Cd) рубцовой жидкости анализировали атомно-эмиссионным и масс-спектральными методами на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 ICP-MS («Agilent Technologies», США). При исследовании элементного состава рубцовой жидкости были выбраны элементы, содержание которых важно при нормировании рационов для крупного рогатого скота (31). Также были исследованы концентрации элементов, которые по степени токсикологического воздействия относятся к классу высоко-/умеренно опасных и способны оказывать токсическое воздействие даже при очень низких концентрациях (33).

Общий и остаточный азот в рубцовой жидкости определяли методом Кьельдаля по ГОСТ 13496.4-2019 (М., 2019), белковый — по разности общего и остаточного азота, аммиак — микродиффузным методом в чашках Конвея по ГОСТ 26180-84 (М., 1984). Общее количество летучих жирных кислот в рубцовой жидкости оценивали на хроматографе Кристалл ЛЮКС 4000 (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия).

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica 10.0 («StatSoft, Inc.», США). Результаты представлены в виде средних значений и стандартных ошибок среднего ($M \pm SEM$). Статистическую значимость различий оценивали при помощи непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты. Коэффициент переваримости в I, II и III группах повышался в сравнении с контролем на 2,9 ($p \leq 0,05$), 1,6 и 3,2 % ($p \leq 0,05$). Число инфузорий в рубцовой жидкости в I группе было выше на 6,92 %, чем в контроле, во второй — на 10,1 % ($p \leq 0,05$), в третьей — на 13,2 % ($p \leq 0,05$) (табл. 1).

1. Коэффициент переваримости, число инфузорий и бактериальная биомасса в рубцовой жидкости быка казахской белоголовой породы *in vitro* под влиянием совместного использования УДЧ диоксида кремния с сульфатом натрия и аминокислотным комплексом ($n = 5$, $M \pm SEM$, виварий ФНЦ БСТ РАН, г. Оренбург, 2023 год)

Группа	Коэффициент переваримости	Число инфузорий в 1 мл рубцовой жидкости, тыс. шт.	Бактериальная биомасса, мг
Контроль	55,8±0,26	846,8±20,80	4,18±0,21
I	58,7±0,47*	904,6±12,10	4,82±0,16
II	57,4±0,76	931,5±10,30*	5,28±0,17*
III	59,0±0,51*	958,1±13,50*	6,03±0,32*

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

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

Бактериальная биомасса в образцах I, II и III групп также была выше, чем в контроле, соответственно на 15,2; 26,3 и 44,3 % ($p \leq 0,05$).

Оценка содержания летучих жирных кислот в рубцовой жидкости в случае I группы показала изменение содержания уксусной (+10,4 %) и масляной (+13,8 %) кислот (рис. 1).

Совместное использование УДЧ диоксида кремния и комплекса аминокислот, напротив, способствовало увеличению в рубцовой жидкости содержания уксусной, пропионовой, масляной, валерьяновой и капроновой кислот соответственно на 26,4 ($p \leq 0,05$); 26,4 ($p \leq 0,05$); 25 ($p \leq 0,05$); 23,9 ($p \leq 0,05$) и 28,6 % ($p \leq 0,05$) относительно контрольных значений. Содержание уксусной, пропионовой, масляной и валерьяновой кислот в рубцовой жидкости в III группе было выше, чем в контроле, на 15,8 ($p \leq 0,001$), 15,5

($p \leq 0,001$), 43,8 ($p \leq 0,01$) и 50,3 ($p \leq 0,001$) %.

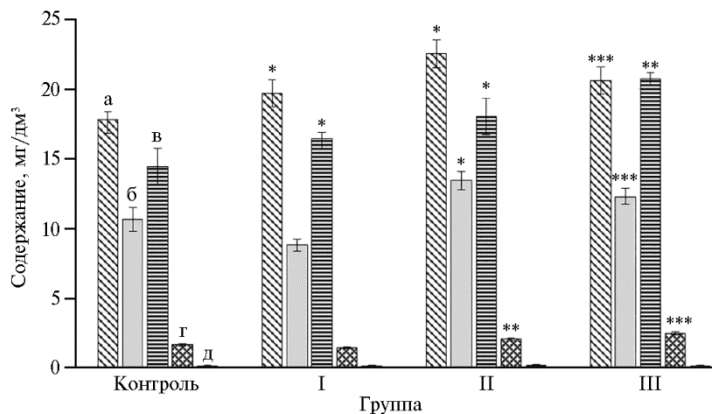


Рис. 1. Содержание летучих жирных кислот в рубцовой жидкости быка казахской белоголовой породы *in vitro* под влиянием совместного использования УДЧ диоксида кремния с сульфатом натрия и аминокислотным комплексом: а — уксусная кислота, б — пропионовая кислота, в — масляная кислота, г — валерьяновая кислота, д — капроновая кислота ($n = 5$, $M \pm SEM$, виварий ФНЦ БСТ РАН, г. Оренбург, 2023 год). Описание групп см. в разделе «Методика». *, ** и *** Различия с контроле статистически значимы соответственно при $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$.

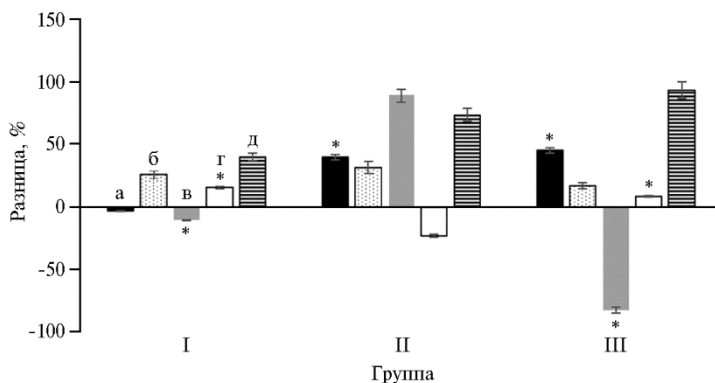


Рис. 2. Разница в содержании азотистых фракций в рубцовой жидкости быка казахской белоголовой породы *in vitro* под влиянием совместного использования УДЧ диоксида кремния с сульфатом натрия и аминокислотным комплексом в сравнении с контролем: а — общий азот, б — небелковый азот, в — аммиачный азот, г — мочевиновый азот, д — белковый азот ($n = 5$, $M \pm SEM$, виварий ФНЦ БСТ РАН, г. Оренбург, 2023 год). Описание групп см. в разделе «Методика». * Различия с контролем статистически значимы при $p \leq 0,05$.

Оценка содержания азотистых компонентов рубцовой жидкости в опытных образцах показала изменения в сравнении с контролем: по количеству общего азота — ниже на 3,5 % в I группе и выше на 39,7 % ($p \leq 0,05$) и 45,3 % ($p \leq 0,05$) во II и III группах, небелкового азота — выше на 25,7; 31,6 % в I и II группах, ниже на 16,8 % в III группе, белкового азота — выше на 40,0; 74,3 и 93,2 % в I, II и III группах (рис. 2).

Содержание мочевинового азота было выше в образцах I и III групп на 15,4 и 8,34 ($p \leq 0,05$) % и ниже во II группе на 23,2 % в сравнении с контрольными значениями. Аммиачный азот был ниже в I и III группах на 10,7 и 82,5 % ($p \leq 0,05$) и выше на 89,3 % во II группе.

По сравнению с контролем в I группе было отмечено снижение концентрации Ni (–16,0 %, $p \leq 0,05$) и Al (–14,6 %, $p \leq 0,05$), а также увеличение количества Zn (+33,5 %, $p \leq 0,01$). Аналогично во II группе наблюдалось снижение концентрации Ni (–16,5 %, $p \leq 0,05$) и Al (–10,6 %, $p \leq 0,05$)

относительно контрольных значений (табл. 2).

2. Концентрация эссенциальных и токсичных элементов в рубцовой жидкости быка казахской белоголовой породы *in vitro* под влиянием совместного использования УДЧ диоксида кремния с сульфатом натрия и аминокислотным комплексом ($n = 5$, $M \pm SEM$, виварий ФНЦ БСТ РАН, г. Оренбург, 2023 год)

Элемент	Группа			
	контроль	I	II	III
Mg	41,40±1,340	39,58±1,650	38,51±1,380	48,72±1,890*
P	1218,2±59,60	1186,9±62,30	1204,9±52,10	1488,0±48,60*
K	1368,4±175,40	1324,2±195,40	1353,9±157,32	764,4±166,53
Ca	36,92±1,050	36,51±1,540	34,4±1,210	42,0±1,510*
Mn	0,22±0,009	0,20±0,003	0,19±0,008	0,20±0,0060
Co	0,0010±0,00020	0,0011±0,00020	0,0012±0,00030	0,0017±0,00010
I	0,050±0,0010	0,045±0,0030	0,051±0,0040	0,049±0,0010
Fe	5,88±1,290	4,87±1,260	4,98±1,102	10,44±1,050
Zn	1,58±0,050	2,11±0,080**	1,47±0,130	1,78±0,020*
Cu	0,29±0,025	0,24±0,031	0,29±0,014	0,37±0,020*
Ni	0,06±0,003	0,05±0,002*	0,05±0,002*	0,06±0,003
Pb	0,011±0,0010	0,011±0,0010	0,012±0,0010	0,008±0,0004*
Al	3,70±0,120	3,16±0,191	3,33±0,080	4,12±0,141
Cd	0,0010±0,00018	0,0010±0,00020	0,0010±0,00015	0,0002±0,00011*

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

* и ** Различия с контролем статистически значимы соответственно при $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$.

Исследование элементного состава образцов рубцовой жидкости в III группе показало достоверно более высокое содержание Mg, P, Ca, Co, Zn, Fe и Cu в сравнении с контролем соответственно на 17,7 ($p \leq 0,05$), 22,1 ($p \leq 0,05$), 13,8 ($p \leq 0,05$), 67,0 ($p \leq 0,05$), 11,9 ($p \leq 0,05$), 76,0 ($p \leq 0,05$) и 28,8 % ($p \leq 0,05$). В то же время отмечалась меньшая, чем в контроле, концентрация Pb (-27,3 %, $p \leq 0,05$) и Cd (-73,0 %, $p \leq 0,05$).

Удовлетворение потребностей организма животного в химических элементах — одна из задач полноценного кормления (34). Биодоступность макро- и микроэлементов из корма выступает ключевым критерием оценки эффективности биологически активных веществ (35).

В нашем эксперименте использование исследуемых компонентов кормовой добавки приводило к изменениям концентраций ряда макро- и микроэлементов в рубцовой жидкости *in vitro*. Общим эффектом для всех вариантов было снижение концентрации токсичных металлов в рубцовой жидкости. Это могло быть обусловлено свойствами компонентов кормовой добавки.

Известно, что аминокислоты посредством метилирования и транссульфирования способны менять биологическую активность некоторых химических элементов за счет их связывания в комплексы. При этом степень растворимости такого комплекса будет зависеть от прочности связи между элементом и лигандом (36). Отмечается, что химическая природа лиганда во многом влияет на степень сродства иона металла. Например, некоторые токсичные элементы отдают предпочтение сере (37, 38). В исследовании М.В. Colovic с соавт. (24) описан хелатирующий эффект серосодержащих аминокислот в отношении тяжелых металлов за счет сульфгидрильных групп (24). Также отмечается, что кремнийсодержащие соединения способны связывать ионы металлов с образованием слабо растворимых комплексов (39). В исследовании Н. Zhang с соавт. (40) показано, что присутствие в водном растворе сульфида натрия приводит к сульфидированию некоторых тяжелых металлов, тем самым снижая их токсичность для живых организмов, в частности для микробиоты.

Однако наиболее выраженное влияние на концентрацию токсичных металлов в рубцовой жидкости *in vitro* отмечено нами при сочетании

всех трех компонентов в кормовой добавке. Полученные данные, вероятно, обусловлены как повышенным сродством сульфгидрильных групп в первую очередь к тяжелым металлам, так и повышенной конкурентоспособностью соединений кремния при связывании с некоторыми токсичными элементами (41, 42). В то же время сочетание трех компонентов в кормовой добавке также способствовало лучшему высвобождению из корма кальция, фосфора, железа и меди. В литературе отмечается, что присутствие серы в виде неорганических источников в рационах способствует лучшей абсорбции кальция и магния и снижает всасывание марганца (8, 43), и это согласуется с нашими данными. На растениях показано, что повышение доступного фосфора из труднорастворимых форм в почве в результате использования кремнийсодержащих добавок может быть обусловлено конкуренцией между элементами за связывание (44). Учитывая описанные свойства компонентов кормовой добавки, предполагаем, что наблюдалось их синергическое действие в отношении как токсичных, так и эссенциальных элементов, приводящее к более явному изменению их концентраций в рубцовой жидкости.

Таким образом, наблюдались изменения в концентрации элементов, обусловленные сочетанием компонентов кормовой добавки и, вероятно, определяющие интенсивность процессов рубцового метаболизма.

Проведенный нами эксперимент *in vitro* позволил выявить определенные особенности влияния компонентов кормовой добавки на рубцовое пищеварение. Переваримость сухого вещества корма увеличивалась в группах в следующем порядке: УДЧ диоксида кремния + сульфат натрия < УДЧ диоксида кремния + комплекс аминокислот < комплекс аминокислот + УДЧ диоксида кремния + сульфат натрия. Эти результаты хорошо согласовывались с данными по количеству инфузорий в рубцовой жидкости и бактериальной биомассе, в которых отмечалась аналогичная тенденция. Микробиота рубца — ключевой агент, определяющей эффективность усвоения компонентов корма. Изменение микробной активности в рубцовой жидкости могло быть обусловлено рядом факторов. Во-первых, степень доступности макро- и микроэлементов для микробиоты рубцовой жидкости — важная составляющая, влияющая на показатели переваримости (45). Поэтому изменение концентраций химических элементов в рубцовой жидкости могло стать причиной сдвигов в переваримости сухого вещества в сравнении с контролем. Во-вторых, использование в метаболизме аминокислот осуществляется более широкой группой микроорганизмов в сравнении с сульфатом натрия (46). Это также могло привести к увеличению показателей переваримости сухого вещества и более активному высвобождению ряда макро- и микроэлементов из корма при использовании аминокислот по сравнению с сульфатом натрия. В свою очередь, утилизация неорганической серы в метаболизме осуществляется более ограниченной группой бактерий (47).

В качестве субстрата мы использовали пшеничные отруби, которые, как известно, богаты фитатами, обладающими способностью формировать нерастворимые комплексы с химическими элементами (48). В связи с этим предполагаем, что аминокислотный комплекс способствовал более эффективному размножению микроорганизмов, расщепляющих фитаты. Другими авторами отмечается способность сульфата натрия эффективно индуцировать синтез микробного белка, что было отмечено и нами по изменению микробной биомассы (49).

Ярко выраженные изменения коэффициента переваримости сухого вещества корма, вероятно, были связаны с синергизмом во взаимодействии между компонентами. Описана эффективность применения в

животноводстве неорганической серы совместно с метионином для выведения тяжелых металлов из организма (50). Кроме того, несмотря на биологическую инертность кремния, отмечается его способность усиливать биоактивность других веществ (51). Это тоже могло косвенно влиять на показатели переваримости.

Данные по изменению бактериальной биомассы согласовывались с изменениями количества летучих жирных кислот (ЛЖК) в рубцовой жидкости. Аналогичные результаты по влиянию сульфата натрия и аминокислот на ЛЖК представлены в работах других авторов (29, 52). Еще одним показателем, характеризующим рубцовое пищеварение, выступает количественное соотношение азотистых компонентов рубцовой жидкости. Мы отмечаем закономерное изменение количества общего азота и белкового азота в зависимости от содержания сырого белка в корме. Однако полученные данные по содержанию аммиачного и мочевинового азота в рубцовой жидкости неоднозначны. Сообщалось о прямой взаимосвязи количества аммиачной и мочевиновой форм азота с содержанием расщепляемого в рубце белка (53). Увеличение содержания аммиачного азота в рубцовой жидкости могло быть обусловлено как концентрацией сырого протеина в корме, так и недостатком энергии для микробиологических процессов (54). В свою очередь, снижение количества аммиачного азота в рубцовой жидкости свидетельствовало об эффективности рубцового пищеварения и активном использовании аммиака рубцовой микробиотой (55, 56).

Итак, в эксперименте *in vitro* показано положительное влияние совместного использования УДЧ диоксида кремния с аминокислотным комплексом и сульфатом натрия для стимуляции процессов рубцового пищеварения. Это выразилось в увеличении показателей переваримости сухого вещества, численности инфузорий и величины бактериальной биомассы, а также в повышении содержания таких короткоцепочечных жирных кислот, как пропионовая и уксусная, и количества азотистых метаболитов (общий азот, белковый азот, мочевиновый азот). Выявлено повышение биодоступности ряда эссенциальных элементов (Zn, Mg, P, Ca, Co, Fe, Cu) и снижение концентрации некоторых опасных тяжелых металлов (Pb, Cd) в рубцовой жидкости, что критически важно при нормировании рационов и нивелировании токсической нагрузки на организм. Анализируемые кормовые добавки перспективны для применения в качестве биологически активных веществ с целью улучшения показателей продуктивности и коррекции поступления элементов с кормом. Полученные результаты дают ценную информацию об УДЧ как многообещающем инструменте для оптимизации эффективности корма и экологической устойчивости животноводства на основе применения нанотехнологий.

¹ФГБНУ ФНЦ биологических систем
и агротехнологий РАН,
460000 Россия, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29,
e-mail: sizova.178@yandex.ru, vasilena56@mail.ru ✉,
ayna.makaeva@mail.ru, daniilshoshin@mail.ru, reger94@bk.ru,
k.nechit@mail.ru;

²ФГБОУ ВО Оренбургский государственный
университет,
460018 Россия, г. Оренбург, просп. Победы, 13

Поступила в редакцию
2 декабря 2024 года
Принята к публикации
7 апреля 2025 года

Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2025, V. 60, № 6, pp. 1113-1125

INFLUENCE OF COMBINED USE OF ULTRADISPERSED SILICON DIOXIDE PARTICLES AND SULFUR-CONTAINING ORGANIC AND

INORGANIC COMPOUNDS ON RUMINAL DIGESTION *in vitro*

E.A. Sizova^{1, 2}, *E.V. Yausheva*¹ , *A.M. Kamirova*¹, *D.E. Shoshin*^{1, 2}, *K.V. Ryazantseva*¹,
K.S. Nechitailo^{1, 2}

¹*Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies RAS*, 29, ul. 9 Yanvarya, Orenburg, 460000 Russia, e-mail sizova.178@yandex.ru, vasilena56@mail.ru (✉ corresponding author), ayna.makaeva@mail.ru, daniilshoshin@mail.ru, reger94@bk.ru, k.nechit@mail.ru;

²*Orenburg State University*, 13, prosp. Pobedy, Orenburg, 460018 Russia

ORCID:

Sizova E.A. orcid.org/0000-0002-5125-5981

Yausheva E.V. orcid.org/0000-0002-1589-2211

Kamirova A.M. orcid.org/0000-0003-1474-8223

Shoshin D.E. orcid.org/0000-0003-3086-681X

Ryazantseva K.V. orcid.org/0000-0001-5134-0396

Nechitailo K.S. orcid.org/0000-0002-8755-414X

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Carried out with the financial support of the Russian Science Foundation, project No. 20-16-0078-P.

Final revision received December 02, 2024

doi: 10.15389/agrobiologi.2025.6.1113eng

Accepted April 07, 2025

Abstract

Improving productivity remains a pressing issue in livestock production and is associated with meeting the nutritional needs of farm animals, including macro- and microelements. Ultrafine particles (UFP) of silicon dioxide hold promise as digestive stimulants. However, a preliminary assessment of the interaction of UFP with other feed components is necessary to identify potential synergistic and antagonistic effects and justify the formulation of the feed additive. This study, for the first time, identified rumen digestion parameters and the elemental profile of rumen fluid when combining UFP silicon dioxide with organic and inorganic sulfur sources in a feed additive. A stimulating effect of the three-component additive (UFP silicon dioxide, amino acid complex, and sodium sulfate) on nitrogen metabolism, short-chain fatty acid metabolism, and the bioavailability of essential elements from the feed was demonstrated. The aim of the research was studying the combined effect of ultrafine silicon dioxide particles and sulfur-containing compounds on the concentration of chemical elements in rumen fluid and the characteristics of rumen metabolism, assessing digestibility, bacterial biomass, the content of volatile fatty acids, and nitrogen species. The studies were conducted at the Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies RAS, the Center for Nanotechnology in Agriculture, and the Biological Systems and Agrotechnology RAS Shared Use Center in 2023. The *in vitro* experiment design was as follows: control – no additives; group I – ultrafine silicon dioxide particles + sodium sulfate; group II – ultrafine silicon dioxide particles + amino acids (lysine, methionine, tryptophan); group III – ultrafine silicon dioxide particles + sodium sulfate + amino acids (lysine, methionine, tryptophan). The studies were conducted on an artificial rumen model using an ANKOM Daisy II incubator (ANKOM Technology Corporation, USA). The biosubstrate (wheat bran) for digestion and the test complexes were placed in sealed polyester bags ($n = 5$) and incubated in the setup with rumen fluid at 39.5 °C. Each test complex with rumen fluid was incubated in a separate vessel, which was constantly rotating. Rumen fluid was collected in 3 h after feeding through a chronic rumen fistula (ANKOM Technology Corporation, USA) from a Kazakh White-Headed bull (250 kg, 10 months), whose main diet included 30 % concentrates and 70 % roughage. The dry matter digestibility coefficient *in vitro* was calculated as the difference in the weight of the feed sample with the bag before and after incubation. The number of protozoa in the rumen fluid was determined in a Goryaev chamber. The microbial mass was calculated by differential centrifugation with following drying. The elemental composition (Mg, Ca, K, P, Mn, I, Co, Fe, Zn, Cu, Ni, Pb, As, Al, Cd) of the rumen fluid was determined by atomic emission and mass spectral methods (an Agilent 7900 ICP-MS inductively coupled plasma mass spectrometer, Agilent Technologies, USA). Total and residual nitrogen in the rumen fluid was determined by the Kjeldahl method according to GOST 13496.4-2019 (Moscow, 2019), protein by the difference between total and residual nitrogen, ammonia – by the microdiffusion method in Conway dishes according to GOST 26180-84 (Moscow, 1984). The total amount of volatile fatty acids in the rumen fluid was estimated using a Crystal LUX 4000 chromatograph (Chromatec, Russia). The experiments showed an increase in the digestibility coefficient in groups I and III by 2.9 and 3.2 % ($p \leq 0.05$) vs control. A decrease in the concentration of Ni and Al was observed in the rumen fluid in groups I (by 16 and 14.6 %, $p \leq 0.05$) and II (by 16.5 and 10.6 %, $p \leq 0.05$) vs the control values was shown. In group III, there was an increase in the concentration of Mg, P, Ca and Fe by 17.7, 22.1, 13.8 and 76 % ($p \leq 0.05$), as well as a decrease in the content of Pb (–27.3%, $p \leq 0.05$) and Cd (–73.0 %, $p \leq 0.05$). The concentration of acetic acid in the rumen fluid in groups I, II and III was 10.4, 26.4 and 15.8 % higher than in the control, butyric acid in the same groups by 13.8, 25 and 43.8 % higher. Changes in the amount of total nitrogen occurred as compared to the control: in group I the indicator was 3.5 % lower, in groups II and III it was higher by 39.7 ($p \leq 0.05$) and 45.3 % ($p \leq 0.05$), respectively. Thus, the combined use of ultrafine silicon dioxide with an amino acid complex and sodium sulfate was found to have a positive effect on stimulating rumen digestion. The potential

was demonstrated for using the combination of ultrafine silicon dioxide with amino acids and sodium sulfate to increase the bioavailability of essential elements from feed and reduce the concentration of toxic elements in rumen fluid.

Keywords: amino acids, sodium sulfate, bioavailability, ultrafine particles of silicon dioxide, rumen digestion.

REFERENCES

1. Hurlbert J.L., Baumgaertner F., Menezes A.C.B., Bochantin K.A., Diniz W.J.S., Underdahl, S.R., Dorsam S.T., Kirsch J.D., Sedivec K.K., Dahlen C.R. Supplementing vitamins and minerals to beef heifers during gestation: impacts on mineral status in the dam and offspring, and growth and physiological responses of female offspring from birth to puberty. *Journal of Animal Science*, 2024, 102: skae002 (doi: 10.1093/jas/skae002).
2. Jin X., Meng L., Zhang R., Tong M., Qi Z., Mi L. Effects of essential mineral elements deficiency and supplementation on serum mineral elements concentration and biochemical parameters in grazing Mongolian sheep. *Frontiers in Veterinary Science*, 2023, 10: 1214346 (doi: 10.3389/fvets.2023.1214346).
3. Staufenbiel R., Schmitt R., Müller A.E., Staufenbiel L. Analyzes of the relationship between the concentrations of essential trace elements in total mixed ration and faeces samples from Holstein Friesian dairy cows and the estimation of faeces reference values. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 2022, 164: 709-719 (doi: 10.17236/sat00370).
4. Sampath V., Sureshkumar S., Seok W.J., Kim I.H. Role and functions of micro and macro-minerals in swine nutrition: a short review. *J. Anim. Sci. Technol.*, 2023, 65(3): 479-489 (doi: 10.5187/jast.2023.e9).
5. Alagawany M., Elnesr S.S., Farag M.R., Tiwari R., Yatoo M.I., Karthik K., Michalak I., Dhama K. Nutritional significance of amino acids, vitamins and minerals as nutraceuticals in poultry production and health — a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 2020, 41(1): 1-29 (doi: 10.1080/01652176.2020.1857887).
6. Aliarabi H., Fadayifar A., Alimohamady R., Dezfoulian A.H. The effect of maternal supplementation of zinc, selenium, and cobalt as slow-release ruminal bolus in late pregnancy on some blood metabolites and performance of ewes and their lambs. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2019, 187(2): 403-410 (doi: 10.1007/s12011-018-1409-8).
7. García-Vaquero M., Benedito J. L., López-Alonso M., Miranda M. Histochemistry evaluation of the oxidative stress and the antioxidant status in Cu-supplemented cattle. *Animal*, 2012, 6(9): 1435-1443 (doi: 10.1017/S1751731112000535).
8. Hartman S.J., Genther-Schroeder O.N., Hansen S.L. Comparison of trace mineral repletion strategies in feedlot steers to overcome diets containing high concentrations of sulfur and molybdenum. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(6): 2504-2515 (doi: 10.1093/jas/sky088).
9. Bampidis V., Azimonti G., Bastos M.L., Christensen H., Dusemund B., Kouba M., Kos Durjava M., López-Alonso M., López Puente S., Marcon F., Mayo B., Pechová A., Petkova M., Sanz Y., Villa R.E., Woutersen R., Cubadda F., Flachowsky G., Mantovani A., López-Gálvez G., Ramos F. Safety and efficacy of sodium selenate as feed additive for ruminants. *EFSA J.*, 2019, 17(7): e05788 (doi: 10.2903/j.efsa.2022.6984).
10. Lutkovskaya Ya.V., Sizova E.A., Kamirova A.M. *Agrarniy nauchnyy zhurnal*, 2024, 5: 96-104 (doi: 10.28983/asj.y2024i5pp96-104) (in Russ.).
11. Dudek Ł., Kochman W., Dziedzic E. Silicon in prevention of atherosclerosis and other age-related diseases. *Front. Cardiovasc. Med.*, 2024, 11: 1370536 (doi: 10.3389/fcvm.2024.1370536).
12. Sizova, E.A., Makaeva A.M. *Kormlenie sel'skokhozyaystvennikh zhivotnykh i kormoproizvodstvo*, 2020, 185(12): 22-33 (doi: 10.33920/sel-05-2012-03) (in Russ.).
13. Kamirova A.M., Sizova E.A., Ivanishcheva A.P., Shoshin D.E., Yausheva E.V. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2024, 107(2): 13-26 (in Russ.).
14. Shoshin D.E., Sizova E.A., Kamirova A.M., Ivanishcheva A.P. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2024, 107(1): 8-21 (in Russ.).
15. Miroshnikov S.A., Mustafina A.S., Gubaydullina I.Z. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2020, 103(1): 20-32 (doi: 10.33284/2658-3135-103-1-20) (in Russ.).
16. Lifanova S.P. *Veterinarniy vrach*, 2010, 5: 22-24 (in Russ.).
17. Melekh A.A., Kholodilina T.N. *Materialy II Vserossiyskoy molodezhnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Nauka budushchego — nauka molodikh»* [Proc. II All-Russian Youth Conf. «The science of the future is the science of the young»]. Orenburg, 2023: 5-7 (in Russ.).
18. Mustafin R.Z., Gerasimenko V.V., Mustafina A.S. *Materialy natsional'noy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnim uchastiem «Sovremennoe sostoyanie i perspektivi proizvodstva i pererabotki sel'skokhozyaystvennoy produktii i produktov pitaniya»* [Proc. National scientific and practical conference with international participation «Current state and prospects for the production and processing of agricultural products and food products»]. Orenburg, 2024: 177-180 (in Russ.).
19. Musabaeva L.L., Sizova E.A., Nechitaylo K.S. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2024, 107(1): 118-127 (doi: 10.33284/2658-3135-107-1-118) (in Russ.).

20. Huang B., Khan M.Z., Kou X., Chen Y., Liang H., Ullah Q., Khan N., Khan A., Chai W., Wang C. Enhancing metabolism and milk production performance in periparturient dairy cattle through rumen-protected methionine and choline supplementation. *Metabolites*, 2023, 13(10): 1080 (doi: 10.3390/metabo13101080).
21. Egbujor M.C., Petrosino M., Zuhra K., Saso L. The role of organosulfur compounds as Nrf2 activators and their antioxidant effects. *Antioxidants*, 2022, 11(7): 1255 (doi: 10.3390/antiox11071255).
22. Supapong C., Cherdthong A., Wanapat M., Chanjula P., Uriyapongson S. Effects of sulfur levels in fermented total mixed ration containing fresh cassava root on feed utilization, rumen characteristics, microbial protein synthesis, and blood metabolites in Thai native beef cattle. *Animals*, 2019, 9(5): 261 (doi: 10.3390/ani9050261).
23. Attia Y.A., Al-Harathi M.A., Shafi M.E., Abdulsalam N.M., Nagadi S.A., Wang J., Kim W.K. Amino acids supplementation affects sustainability of productive and meat quality, survivability and nitrogen pollution of broiler chickens during the early life. *Life*, 2022, 12(12): 2100 (doi: 10.3390/life12122100).
24. Colovic M.B., Vasic V.M., Djuric D.M., Krstic D.Z. Sulphur-containing amino acids: protective role against free radicals and heavy metals. *Current Medicinal Chemistry*, 2018, 25(3): 324-335 (doi: 10.2174/0929867324666170609075434).
25. Liaqat R., Fatima S., Komal W., Minahal Q., Hussain A.S. Dietary supplementation of methionine, lysine, and tryptophan as possible modulators of growth, immune response, and disease resistance in striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*). *PLoS ONE*, 2024, 19(4): e0301205 (doi: 10.1371/journal.pone.0301205).
26. Zou S., Ji S., Xu H., Wang M., Li B., Shen Y., Li Y., Gao Y., Li J., Cao Y., Li Q. Rumen-protected lysine and methionine supplementation reduced protein requirement of holstein bulls by altering nitrogen metabolism in liver. *Animals*, 2023, 13(5): 843 (doi: 10.3390/ani13050843).
27. Shin H., Jin X., Gim M., Kim Y. Inclusion of dietary nontoxic sulfur on growth performance, immune response, sulfur amino acid content and meat characteristics in growing-finishing pigs. *Animal Bioscience*, 2023, 36(5): 776-784 (doi: 10.5713/ab.22.0418).
28. Sekhin A.A., Surmach V.N., Nozhinskaya Z.I., Presnyak A.R. V sbornike: *Sel'skoe khozyaystvo — problemi i perspektivi* [In: Agriculture — problems and prospects]. Grodno, 2023: 238-243 (in Russ.).
29. Zhao Y., Xie B., Gao J., Zhao G. Dietary supplementation with sodium sulfate improves rumen fermentation, fiber digestibility, and the plasma metabolome through modulation of rumen bacterial communities in steers. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(22): e01412-20 (doi: 10.1128/AEM.01412-20).
30. Kosyan D.B., Makaeva A.M. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2018, 4: 8-15 (in Russ.).
31. *Normi i ratsioni kormleniya sel'skokhozyaystvennikh zhivotnikh. Spravochnoe posobie* /Pod redaktsiey A.P. Kalashnikova, I.V. Fisnina, V.V. Shcheglova, N.I. Kleymenova [Norms and rations for feeding farm animals. Reference Guide. A.P. Kalashnikov, I.V. Fisnin, V.V. Shcheglov, N.I. Kleymenov (eds.)]. Moscow, 2003 (in Russ.).
32. Levakhin G.I., Meshcheryakov A.G. *Dokladi Rossiyskoy akademii sel'skokhozyaystvennikh nauk*, 2003, 3: 12-13 (in Russ.).
33. Yan M., Niu C., Li X., Wang F., Jiang S., Li K., Yao Z. Heavy metal levels in milk and dairy products and health risk assessment: a systematic review of studies in China. *Science of The Total Environment*, 2022, 851(Pt 1): 158161 (doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.158161).
34. Wagner J.J., Edwards-Callaway L.N., Engle T.E. Vitamins and trace minerals in ruminants: confinement feedlot. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2023, 39(3): 505-516 (doi: 10.1016/j.cvfa.2023.06.005).
35. Gralak M., Lasocka I., Leontowicz M., Kruszewska H., Latocha P., Gorinstein Sh. Bioavailability of macro- and microelements in rats fed hypercholesterolemic diets containing *Actinidia arguta* fruits. *Foods*, 2022, 11(11): 1633 (doi: 10.3390/foods11111633).
36. Kadirova R.G., Kabirov G.F., Mullakhmetov R.R. *Biologicheskie svoystva i sintez kompleksnikh soley α -aminokislot biogennikh metallov. Monografiya* [Biological properties and synthesis of complex salts of α -amino acids of biogenic metals. Monograph]. Kazan', 2014 (in Russ.).
37. Krishna Deepak R.N.V., Chandrakar B., Sankaramakrishnan R. Comparison of metal-binding strength between methionine and cysteine residues: implications for the design of metal-binding motifs in proteins. *Biophysical Chemistry*, 2017, 224: 32-39 (doi: 10.1016/j.bpc.2017.02.007).
38. Seregin I.V., Kozhevnikova A.D. Phytochelatins: sulfur-containing metal(loid)-chelating ligands in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(3): 2430 (doi: 10.3390/ijms24032430).
39. Laushkina M.V., Biktashev R.U., Khuzin D.A., Nigmatulin G.N. *Uchenie zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsini imeni N.E. Baumana*, 2021, 247(III): 113-119 (doi: 10.31588/2413-4201-1883-247-3-113-119) (in Russ.).
40. Zhang H., Miao C., Huo Z., Luo T. Effects of zinc oxide nanoparticles transformation in sulfur-containing water on its toxicity to microalgae: Physicochemical analysis, photosynthetic efficiency

- and potential mechanisms. *Water Research*, 2022, 223: 119030 (doi: 10.1016/j.watres.2022.119030).
41. Grigor'eva E.A., Gordova V.S., Sergeeva V.E. *Meditsinskiy vestnik Evrazii*, 2022, 4: 108-120 (doi: 10.47026/2413-4864-2022-4-108-120) (in Russ.).
 42. Baranov A.P., Ladan S.S. *Plodородie*, 2022, 5: 86-90 (doi: 10.25680/S19948603.2022.128.22) (in Russ.).
 43. Pogge D.J., Drewnoski M.E., Hansen S.L. High dietary sulfur decreases the retention of copper, manganese, and zinc in steers. *Journal of Animal Science*, 2014, 92(5): 2182-2191 (doi: 10.2527/jas.2013-7481).
 44. Hu A.Y., Xu S.N., Qin D.N., Li W., Zhao X.Q. Role of silicon in mediating phosphorus imbalance in plants. *Plants*, 2021, 10(1): 51 (doi: 10.3390/plants10010051).
 45. Giro T.M., Il'ina L.A. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevikh proizvodstv*, 2024, 54(4): 848-871 (doi: 10.21603/2074-9414-2024-4-2550) (in Russ.).
 46. Bento C.B.P., de Azevedo A.C., Detmann E., Mantovani H.C. Biochemical and genetic diversity of carbohydrate-fermenting and obligate amino acid-fermenting hyper-ammonia-producing bacteria from Nellore steers fed tropical forages and supplemented with casein. *BMC Microbiol.*, 2015, 15: 28 (doi: 10.1186/s12866-015-0369-9).
 47. Wu H., Li Y., Meng Q., Zhou Z. Effect of high sulfur diet on rumen fermentation, microflora, and epithelial barrier function in steers. *Animals*, 2021, 11(9): 2545 (doi: 10.3390/ani11092545).
 48. Elliott H., Woods P., Green B.D., Nugent A.P. Can sprouting reduce phytate and improve the nutritional composition and nutrient bioaccessibility in cereals and legumes? *Nutrition Bulletin*, 2022, 47(2): 138-156 (doi: 10.1111/nbu.12549).
 49. McSweeney C.S., Denman S.E. Effect of sulfur supplements on cellulolytic rumen micro-organisms and microbial protein synthesis in cattle fed a high fibre diet. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(5): 1757-1765 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03408.x).
 50. Stankevich S.V., Bochkareva I.I., Motovilov K.Ya., Bokova T.I. *Vestnik AGAU*, 2007, 8: 42-43 (in Russ.).
 51. Zhao Q.M., Li X.K., Guo S., Wang N., Liu W.W., Shi L., Guo Z. Osteogenic activity of a titanium surface modified with silicon-doped titanium dioxide. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, 110: 110682 (doi: 10.1016/j.msec.2020.110682).
 52. Kong F., Gao Y., Tang M., Fu T., Diao Q., Bi Y., Tu Y. Effects of dietary rumen-protected Lys levels on rumen fermentation and bacterial community composition in Holstein heifers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2020, 104(15): 6623-6634 (doi: 10.1007/s00253-020-10684-y).
 53. Ryadchikov V.G., Soldatov A.A., Kharitonov E.L., Shlyakhova O.G., Tantavi A., Komarova N.S. *Effektivnoe zhitovnovodstvo*, 2019, 3(151): 42-48 (in Russ.).
 54. Glukhov D. *Zhitovnovodstvo Rossii*, 2020, 12: 49-54 (doi: 10.25701/ZZR.2020.57.97.001) (in Russ.).
 55. Kurepin A.A., Lemeshevskiy V.O., Furs N.L. *Zhitovnovodstvo i veterinarnaya meditsina*, 2017, 4: 26-31 (in Russ.).
 56. Mishurov A.V. *Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta im. P.A. Kosticheva*, 2021, 13(2): 35-41 (doi: 10.36508/RSATU.2021.50.2.005) (in Russ.).