

## ФЕРРОГУМАТСОДЕРЖАЩИЙ ПРЕПАРАТ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ

Н. А. Жмакова<sup>1</sup>, Н. Л. Макарова<sup>1</sup>, М. П. Кучинский<sup>2</sup>, Г. М. Кучинская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт природопользования НАН Беларуси, Минск, Беларусь;

<sup>2</sup>Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского, Минск, Беларусь

**Аннотация.** В животноводстве для лечения и профилактики анемии широко используются неорганические и органические соли железа, а также его комплексные соединения с декстринами и полимерами разного строения. Средства для профилактики и лечения анемии у животных могут быть созданы на основе комплексов железа с гуминовыми веществами.

Предложены технологические режимы окисления торфа, обеспечивающие значительное увеличение количества кислородсодержащих функциональных групп в составе гуминовых кислот. Разработан способ введения в жидкий гуминовый препарат ионов железа. В качестве железосодержащего соединения использован свежеприготовленный гидроксид железа (III), получаемый при взаимодействии хлорида железа (III) с гидроксидом натрия. Предварительная оценка лечебной эффективности феррогуматсодержащего препарата на лабораторных животных против экспериментальной железодефицитной анемии показала, что он содержит усвояемое организмом животных железо, способное связываться с белками крови и включаться в процессы кроветворения. Оральное применение белыми крысами феррогумата в течение 5 дней из расчета 0,7 мг железа на голову в сутки активизирует кроветворную систему животных. Выпаивание белым крысам феррогумата в течение 10 дней (два курса по 5 дней с интервалом 2 сут) в той же дозе увеличивает запасные фонды железа и нивелирует проявление экспериментальной железодефицитной анемии, что подтверждается результатами лабораторного исследования крови.

**Ключевые слова:** торф; гуминовые вещества; функциональные группы; феррогуматсодержащий препарат; соли железа; анемия; лабораторные животные; анализ крови.

**Для цитирования.** Жмакова Н. А., Макарова Н. Л., Кучинский М. П., Кучинская Г. М. Феррогуматсодержащий препарат и перспективы его использования в ветеринарии // Природопользование. – 2024. – № 1. – С. 164–175.

## FERROHUMATE-CONTAINING PREPARATION AND PROSPECTS OF ITS USE IN VETERINARY MEDICINE

N. A. Zhmakova<sup>1</sup>, N. L. Makarova<sup>1</sup>, M. P. Kuchinsky<sup>2</sup>, G. M. Kuchinskaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus;

<sup>2</sup>S. N. Vyshellessky Institute of Experimental Veterinary Science, Minsk, Belarus

**Abstract.** Inorganic and organic salts of iron, as well as its complex compounds with dextrans and various polymers are widely used in animal breeding for the treatment and prevention of anemia. Means for prevention and treatment of anemia in animals can be created on the base of iron complexes with humic substances.

Technological parameters of peat oxidation have been established, in the process of which there is a significant increase in the amount of oxygen-containing functional groups in the composition of humic acids. The method of introduction of iron ions into liquid humic preparation was developed. Freshly prepared iron (III) hydroxide obtained by interaction of iron (III) chloride with sodium hydroxide was used as an iron-containing compound. Preliminary evaluation of the therapeutic efficacy of ferrohimate-containing preparation on laboratory animals against experimental iron deficiency anemia showed that it contains iron assimilable by an animal body, capable of binding to blood proteins and being included in the processes of hematopoiesis. Oral administration of ferrogumate to white rats for 5 days at the rate of 0.7 mg of iron per head per day activates the hematopoietic system of animals. Oral administration of ferrogumate to white rats for 10 days (two courses of 5 days with an interval of 2 days) at the same dose increases iron reserves and levels the manifestation of experimental iron deficiency anemia, which is confirmed by the results of laboratory blood tests.

**Keywords:** peat; humic substances; functional groups; ferrohimate preparation; iron salts; anemia; laboratory animals; blood analysis.

**For citation.** Zhmakova N. A., Makarova N. L., Kuchinsky M. P., Kuchinskaya G. M. Ferrohimate-containing preparation and prospects of its use in veterinary medicine. *Nature Management*, 2024, no. 1, pp. 164–175.

**Введение.** Одной из проблем современного животноводства является заболевание животных, и особенно молодняка, анемией, которая характеризуется уменьшением содержания в крови гемоглобина и эритроцитов. У анемического состояния могут быть многообразные причины, однако одной из наиболее распространенных является недостаточное содержание железа в рационе животных, в результате чего снижается его уровень в сыворотке крови, костном мозге и других депо. При дефиците железа нарушается образование гемоглобина, эритроцитов, возникает гипохромная анемия, состояние гипоксии и развиваются трофические расстройства в тканях, приводящие к нарушению окислительно-восстановительных процессов.

Потребность в железе очень велика у молодых, интенсивно растущих животных, особенно поросят, масса тела которых после рождения удваивается за 6–8 дней и сопровождается увеличением общего количества крови. Для поддержания нормального уровня гемоглобина в крови, а также для восполнения других потребностей (на образование миоглобина, ферментов и т. д.) молодняк должен ежедневно усваивать 6–10 мг железа. При дефиците железа в первые недели жизни у животных развивается физиологическая анемия, которая становится причиной 20–30 % всех потерь молодняка. Профилактический прием железосодержащих препаратов удовлетворяет потребности организма в этом элементе и препятствует возникновению физиологической анемии [1].

Прием таких препаратов должен строго контролироваться, так как безопасный диапазон содержания железа в организме достаточно узок и опасность представляет как дефицит железа, так и его переизбыток. Соединения железа токсичны и могут вызвать отрицательные последствия, вплоть до летального исхода.

В настоящее время в животноводстве для предупреждения и лечения анемии используют различные лекарственные средства. К первому поколению препаратов относятся неорганические формы железа (железо сернокислое, оксиды). Эти препараты являются наиболее токсичными. Ко второму поколению относятся органические соли железа: глюконат, ферронат, лактат (железо молочнокислое закисное), глицерофосфат, диглутамат и др. К третьему поколению принадлежат препараты, содержащие двухвалентное железо, закрепленное на водорастворимых полимерах декстрина, других полимерах, на специальных полимерных губкообразных основах. Эти препараты обеспечивают постепенное освобождение железа, однако обладают недостаточными гемостимулирующими свойствами и малоэффективны как противоанемийные ветеринарные средства. Четвертое поколение представлено органическими комплексами, в которых железо сочетается с синергидными компонентами. В настоящее время такие комплексы разработаны для лечения людей, а создание их для животных является задачей ближайшего будущего [1–3].

Средства для профилактики и лечения анемии у животных могут быть созданы на основе комплексов железа с гуминовыми веществами – сложными природными полиэлектролитами, содержащими различные функциональные группы, которые определяют их ионообменные свойства. Роль ионообменных центров выполняют в основном карбоксильные и гидроксильные группы, подвижный протон которых способен замещаться другими катионами. К ионному обмену способны и другие компоненты торфа – сложные эфиры, лактоны, амиды и другие соединения, которые и составляют обменный комплекс торфа [4]. В связи с этим на основе гуминовых веществ можно создать комплексы с железом для профилактики и лечения анемии у животных, которые будут снижать его токсическое действие за счет постепенного освобождения железа в организме. Важным преимуществом препаратов на основе гуминовых веществ является высокая физиологическая активность этих соединений, а также стимулирующее воздействие на организм животных. Исследования, проведенные в животноводстве, ветеринарии и медицине, убедительно доказывают эффективность и перспективность использования гуминовых препаратов из торфа в качестве биологически активных кормовых добавок, иммуномодуляторов, регуляторов метаболизма, гепатопротекторов, адаптогенов. Эти препараты положительно воздействуют на обменные процессы в организме животных, корректируют последствия недостаточного и несбалансированного кормления, нарушение зооигиенических условий содержания, стрессовых явлений. Под их влиянием улучшаются иммунный статус и общее состояние организма, повышаются энергетический обмен, компенсаторные возможности внутренних органов, тканей и всего организма в целом [4, 5]. В настоящее время гуминовые препараты широко используются в животноводстве и ветеринарии.

Цель работы – создать способ получения феррогуматсодержащего комплекса с массовой долей железа 50–60 мг/мл и провести его первичные испытания в качестве профилактического средства от железодефицитной анемии животных.

**Материалы и методы исследований.** Пробы торфа отобраны на торфопредприятии ОАО «Днепровское» Могилёвской области на месторождениях «Зимник северный» и с участка «Трилесино» Мстиславского района. Всего отобрано три образца торфа: два низинного типа (образцы № 1 и № 2) и один – верховой (образец № 3).

Геоботаническая характеристика проб торфа, включающая определение ботанического состава и вида торфа в соответствии с ботанической классификацией и степени его разложения, выполнена в лаборатории использования и охраны торфяных и сапропелевых месторождений. Ботанический анализ торфа заключался в определении под микроскопом в отмытых от гумуса растительных волокнах процентного содержания остатков различных видов растений-торфообразователей.

Результаты геоботанических исследований приведены в табл. 1.

**Таблица 1. Геоботаническая характеристика образцов торфа**

**Table 1. Geobotanical characterization of peat samples**

Номер образца	Ботанический состав, %	Вид	Тип	Степень разложения, %
1	Осоки – 45; тростник – 35; древесные – 10; сфагновые – 5; гипновые мхи – 5	Тростниково-осоковый	Низинный	25–30
2	Тростник – 45; осоки – 20; древесные – 35; кустарничковые – редко	Древесно-тростниковый	Низинный	35–40
3	Сфагновые мхи – 75; кустарничковые – 10; пушица – 10; травянистые – 5	Сфагновый	Верховой	25–30

Определение массовой доли влаги торфа проводили в соответствии с действующим типовым методом. При определении влаги торфа пробу измельчали путем растирания в яшмовой ступке, просеивали через сито с размером ячеек 0,25 мм. В бюксы отбирали пробы массой 1,5–2,0 г и взвешивали с точностью до 0,0002 г. Подготовленные материалы высушивали в сушильном шкафу при температуре 105–110 °С до постоянной массы и вычисляли в процентах потери массы взятой навески.

Метод определения массовой доли золы заключался в полном сжигании навески образца торфа или мха в муфельной печи при температуре  $800 \pm 25$  °С и прокаливании зольного остатка до постоянной массы при той же температуре. Зольность определяли по процентному соотношению массы остатка, образующегося при прокаливании, к общей массе взятого образца. Массовую долю органического вещества образца определяли как разность сухого вещества и золы.

Сущность метода определения активной кислотности заключалась в приготовлении водной торфяной суспензии и потенциометрическом измерении величины рН.

Для извлечения гуминовых веществ из торфа использовали стандартную методику. Гуминовые кислоты выделяли трехкратной обработкой 0,1 н. раствором гидроксида натрия при соотношении торф : жидкость 1 : 150 и температуре 80–90 °С в течение 1 ч. Фильтраты соединяли, отбирали аликвотную часть в фарфоровые чашки для выпаривания и последующей сушки. Массовую долю извлеченных гуминовых веществ определяли весовым методом. Затем щелочной экстракт подкисляли соляной кислотой до рН 1,0–2,0 для осаждения гуминовых кислот, осадок отделяли, промывали на фильтре дистиллированной водой до исчезновения ионов хлора в промывных водах, сушили до постоянной массы и определяли содержание гуминовых кислот весовым методом. В фильтрате определяли содержание фульвокислот.

Окисление торфа проводили в специальных герметически закрывающихся толстостенных сосудах из нержавеющей стали объемом 500 см<sup>3</sup>. Твердый остаток отделяли центрифугированием, а жидкую фазу (оксидат) использовали в качестве целевого продукта.

Из раствора препарата гуминовые кислоты осаждали путем подкисления 4%-ной соляной кислотой до рН 2,0. Осадок сушили на воздухе, отмывали дистиллированной водой до исчезновения ионов хлора в промывных водах, а затем вновь сушили при температуре 18–20 °С.

Сорбционную емкость гуминовых кислот оценивали по содержанию функциональных групп: карбоксильных и фенольных гидроксильных. Определение суммарного содержания карбоксильных и гидроксильных групп в гуминовых кислотах торфов и в гуминовом препарате осуществляли по методике, в которой их содержание определяется количеством гидроксида бария, поглощенного 1 г гуминовых кислот. Содержание карбоксильных групп определяли по величине емкости поглощения кальция из его уксуснокислой соли. Массовую долю фенольных гидроксильных групп находили по разности между суммарным содержанием функциональных групп и карбоксильных [6].

Массовую долю железа в препарате определяли в сертифицированной лаборатории ПОО «Бел-интераналит» на атомно-эмиссионном многоканальном спектрометре.

Испытания острой токсичности феррогуматсодержащего препарата проводили на белых беспородных мышах массой 18–21 г в условиях вивария РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского». Исследования выполняли согласно нормативному документу [7]. Феррогумат вводили белым мышам внутрижелудочно с помощью шприца с иглой-зондом 1–6 раз в течение 12 ч с интервалом 1,5–2,0 ч в дозах, начиная с 40 000 мг/кг массы и заканчивая 240 000 мг/кг массы тела. Животным контрольной группы вводили внутрижелудочно по 0,8 мл дистиллированной воды 6 раз с промежутком 1,5 ч. Количество животных в каждой группе – 6. Среднесмертельную дозу (ЛД<sub>50</sub>) препарата рассчитывали по методу Кёрбера [8]. Класс опасности определяли по [9].

Оценку профилактической и лечебной эффективности феррогуматсодержащего препарата при экспериментальной железodefицитной анемии проводили на 20 самках белых крыс живой массой 175–240 г. После индивидуального взвешивания животных разделяли на три группы по 6–7 особей в каждой. В начале опыта от 6 крыс (по 2 из каждой группы) из хвостовой вены отбирали пробы крови для морфологического анализа. Животные 1-й группы ( $n = 6$ ) служили в качестве контроля. Опытным крысам 2-й и 3-й групп ( $n = 7$ ) в течение 5 сут выпаивали с водой испытуемый феррогуматсодержащий препарат из расчета 0,7 мг железа на голову в сутки (0,12 мл препарата на группу), что эквивалентно 2,8 суточной дозы для данного вида животных. Через сутки после последней выпойки препарата от крыс контрольной и опытных групп повторно отбирали пробы крови ( $n = 5$ ) и животным 2-й и 3-й групп для моделирования экспериментальной железodefицитной анемии подкожно вводили 2%-ный водный раствор солянокислого фенилгидразина из расчета 0,2 мл на голову, что соответствует примерно 20 мг фенилгидразина на 1 кг массы. Крысам опытных групп через сутки вводили повторно 2%-ный раствор фенилгидразина в той же дозе. Спустя 24 ч феррогуматсодержащий препарат продолжали выпаивать только опытным крысам 3-й группы из расчета 0,7 мг железа на голову в течение 5 дней. Через сутки после последней выпойки феррогумата от крыс контрольной и опытных групп ( $n = 5$ ) отбирали в две пробирки пробы крови для оценки морфологических и биохимических показателей. Затем животных умертвляли и проводили патологоанатомическое вскрытие с целью макроскопического исследования внутренних органов.

Пробы крови исследовали с помощью гематологического (Orphee mythic 18, Швейцария) и биохимического (DIALAB Autolyser ISE, Италия) анализаторов.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для получения гуминового препарата – основы феррогуматсодержащего комплекса – необходимо было подобрать торфяное сырье и оценить его физико-химические свойства и содержание гуминовых веществ, а в их составе – гуминовых кислот и фульвокислот.

Содержание гуминовых веществ в торфе находится в прямой зависимости от степени его разложения. При получении гуминовых препаратов минеральная составляющая торфа является балластом и снижает выход гуминовых веществ, что необходимо учитывать при отборе проб. В этой связи при подборе торфа, пригодного для получения гуминового препарата, использовали образцы с высоким уровнем гумификации и невысоким содержанием золы.

Отобранные образцы представлены верховым и низинным торфом с высокой степенью разложения и, судя по геоботанической характеристике, они могут быть пригодны для получения гуминовой основы железосодержащего препарата.

Исследованы физико-химические свойства образцов торфа.

Основными физико-химическими показателями, определяющими пригодность торфа для многих направлений использования, являются содержание органических веществ, влажность, зольность, кислотность, от которых зависит его сорбционная способность и другие важные показатели.

В связи с тем, что для получения феррогуматсодержащего комплекса предполагалось использовать гуминовый препарат, необходимо было оценить образцы торфа с точки зрения содержания гуминовых веществ, а в их составе – гуминовых кислот и фульвокислот. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 2.

Установлено, что анализируемые образцы торфа имели показатели влажности, характерные для фрезерного торфа 45,5–54,9 %. Показатели зольности в образцах низинных и верхового торфа сильно отличались. Зольность образца № 1 низинного торфа составляла 9,3 %, образца № 2 – 8,5 %. Образец № 3 верхового сфагнового торфа характеризовался низкой зольностью – 2,2 %, что предпочтительнее для получения гуминового препарата. Определение активной кислотности (рН) исследуемых образцов позволило установить, что пробы низинного торфа (образцы № 1 и № 2) обладали близкими значениями – рН 5,9–6,4, а образец № 3, сложенный преимущественно сфагновыми мхами, имел более низкое значение – рН 4,1.

**Таблица 2. Характеристика образцов торфа****Table 2. Characterization of peat samples**

Номер образца	Массовая доля, %						pH
	в торфе			от органического вещества			
	Влага	Зола	Органическое вещество	Гуминовые вещества	Гуминовые кислоты	Фульво-кислоты	
1	54,9	9,3	35,8	41,6	29,5	12,1	5,9
2	45,5	8,5	46,0	45,4	31,6	13,8	6,4
3	52,6	2,2	45,2	36,2	24,9	11,3	4,1

Исследованные образцы торфа отличаются по содержанию гуминовых веществ и их компонентов. Более высоким содержанием соединений гуминовой природы характеризуются образцы низинного торфа № 1 и № 2, включающие в состав органической массы 41,6 и 45,4 % гуминовых веществ, а их наиболее активная часть – гуминовые кислоты – присутствуют в количестве 29,5–31,6 % в расчете на органическую массу, фульвокислоты – 12,1–13,8 %.

Результаты исследований верхового торфа показали, что содержание гуминовых веществ в нем немного меньше и составляет 36,2 %, при этом на долю гуминовых кислот в его органической массе приходится 24,9 %, фульвокислот – 11,3 %.

Таким образом, все подобранные образцы пригодны для получения гуминового препарата, так как содержат значительные количества гуминовых веществ.

Сорбционную способность гуминовых веществ характеризует количество функциональных групп, в первую очередь карбоксильных и гидроксильных. Содержание функциональных групп в гуминовых кислотах исследуемых торфов представлено в табл. 3.

**Таблица 3. Содержание функциональных групп в гуминовых кислотах исследуемых торфов****Table 3. Content of functional groups in humic acids of the studied peats**

Образец гуминовых кислот	Функциональные группы, мг-экв/г		
	сумма	–COOH	–ОН <sub>фен</sub>
1	5,6	2,6	3,0
2	5,9	2,5	3,4
3	6,0	2,8	3,2

Наиболее высоким суммарным содержанием функциональных групп характеризуется верховой сфагновый торф – 6,0 мг-экв/г. Для низинных торфов этот показатель составляет 5,6–5,9 мг-экв/г. При этом преобладают фенольные гидроксилы, содержание которых в низинных торфах достигает 3,0–3,4 мг-экв/г, а в сфагновом торфе – 3,2 мг-экв/г.

Таким образом, установлено, что для получения феррогумата могут быть использованы все исследованные образцы, но для дальнейшей работы был выбран верховой сфагновый торф, характеризующийся малой зольностью, достаточно высоким содержанием гуминовых веществ и большим количеством функциональных групп.

Для получения гуминового препарата – основы феррогумата – необходимо было не просто экстрагировать гуминовые кислоты из торфа, но и провести их модификацию с целью увеличения сорбционной емкости.

Многочисленными исследованиями показано, что деструкция гуминовых кислот под влиянием физических и химических воздействий приводит к уменьшению их молекулярной массы, разблокировке важнейших функциональных групп, увеличению их количества, значительному повышению реакционной способности и биологической активности этих соединений.

Эффективным методом деструкции гумуссодержащего сырья является окисление в щелочной среде. Поэтому для получения феррогуматсодержащего комплекса было предложено использовать гуминовый препарат, полученный из торфа высокой степени разложения методом окисления торфа в щелочной среде с целью увеличения в составе препарата кислородсодержащих функциональных групп.

Изучена эффективность окисления торфа как способа получения препарата с максимальным выходом гуминовых веществ, а также влияние условий его получения на сорбционную емкость гуминовых кислот.

В качестве щелочного агента для извлечения гуминовых веществ был выбран гидроксид аммония, хотя его применение для этих целей менее эффективно в сравнении с гидроксидами натрия и калия. Однако применение гидроксида аммония позволяет получить препарат с нейтральной реакцией

среды (после удаления аммиака из раствора испарением) и использовать его для выпойки животных либо как добавку к корму. Расход гидроксида аммония во всех опытах составлял 25 % от сухого вещества торфа.

На лабораторной установке отработаны параметры процесса получения гуминового препарата методом окислительной деструкции пероксидом водорода при температуре 100–105 °С, расход окислителя варьировался от 5 до 15 % от органической массы торфа, продолжительность процесса составляла 2, 3 и 4 ч. Гидромодуль во всех опытах был постоянным – 1 : 15. Критерием эффективности процесса служила массовая доля гуминовых веществ в растворе. В табл. 4 показано влияние условий проведения окислительной деструкции торфа на содержание гуминовых веществ в растворе препарата.

**Таблица 4. Влияние условий проведения окислительной деструкции торфа на содержание гуминовых веществ в растворе препарата**

**Table 4. Effect of process conditions on the content of humic substances in the preparation solution**

Расход H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , % на сухое вещество торфа	Продолжительность, ч	Массовая доля гуминовых веществ, % в растворе
5	2	2,1
	3	3,2
	4	3,5
10	2	2,0
	3	3,5
	4	3,8
15	2	2,2
	3	3,7
	4	4,0

Наибольший выход гуминовых веществ получен при продолжительности процесса 3–4 ч и расходе пероксида водорода 10–15 % на сухое вещество торфа.

Для определения оптимальных условий получения основы феррогумата определена сорбционная емкость выделенных гуминовых кислот, полученных в наиболее перспективных вариантах, которую оценивали по содержанию функциональных групп: карбоксильных и фенольных гидроксидов (табл. 5).

**Таблица 5. Содержание функциональных групп в гуминовых кислотах препарата, полученного в разных условиях**

**Table 5. Content of functional groups in humic acids of the preparation obtained under different conditions**

Образец гуминовых кислот		Функциональные группы, мг-экв/г		
Время, ч	Расход H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , %	Сумма	–COOH	–ОН <sub>фен</sub>
3	10	6,7	3,3	3,4
4	10	6,9	3,4	3,5
3	15	7,1	3,6	3,5
4	15	7,2	3,7	3,5

Анализ содержания функциональных групп в исследуемых образцах гуминовых кислот позволил выявить существенное влияние способа получения гуминового препарата на их распределение. В окисленных гуминовых кислотах существенно возросло количество карбоксильных групп и фенольных гидроксидов. Их суммарное содержание составило 6,7–7,2 мг-экв/г, тогда как в гуминовых кислотах исходного торфа этот показатель находился на уровне 6,0 мг-экв/г. При этом с увеличением продолжительности процесса и расхода окислителя возросло количество карбоксильных групп с 3,3 до 3,7 мг-экв/г, а содержание фенольных гидроксидов оставалось практически на одном уровне.

Таким образом, гуминовый препарат может быть получен окислением сфагнового торфа пероксидом водорода с расходом 10–15 % на сухое вещество торфа, в течение 3–4 ч, при температуре 100–105 °С в среде гидроксида аммония с расходом 25 % на сухое вещество торфа.

При этих условиях наработан образец гуминового препарата – основы железосодержащего комплекса. Выполнена его физико-химическая характеристика, которая представлена в табл. 6.

**Таблица 6. Физико-химическая характеристика гуминового препарата****Table 6. Physico-chemical characterization of humic preparation**

Массовая доля веществ, %				Плотность, г/см <sup>3</sup>	рН	Содержание функциональных групп, мг-экв/г		
сухих	органических	минеральных	гуминовых			сумма	–COOH	–ОН <sub>фен</sub>
3,90	3,75	0,15	3,00	1,025	10,2	7,1	3,6	3,5

Лабораторный образец гуминового препарата – это жидкость темно-коричневого цвета с запахом аммиака, плотностью раствора 1,025 г/см<sup>3</sup> и щелочной реакцией среды – рН 10,2. Массовая доля сухих веществ в растворе составляет 39 г/л, при этом более чем на 96 % они представлены органическими веществами, минеральная часть незначительна (0,15 %) в связи с малой зольностью торфа. Органические вещества препарата, в свою очередь, на 80 % состоят из гуминовых веществ. Гуминовый препарат отличается высоким содержанием функциональных групп, суммарное содержание которых составляет 7,1 мг-экв/г.

На основе жидкого оксидата получен железосодержащий комплексный гуминовый препарат. Предварительно, перед введением соединений железа, из гуминового препарата удаляли аммиак методом испарения. При этом его объем уменьшился вдвое, а концентрация органических и гуминовых веществ возросла также в 2 раза.

В качестве железосодержащего соединения использовали свежеприготовленный гидроксид железа (III), полученный при взаимодействии хлорида железа (III) с гидроксидом натрия. В результате реакции выпадал красно-коричневый осадок гидроксида железа, а в растворе оставался хлорид натрия. Осадок отделяли центрифугированием и использовали для введения в гуминовый препарат. Гидроксид железа получали в количестве, необходимом для создания концентрации железа в гуминовом препарате 50–60 мг/мл.

Для получения феррогумата в гуминовый препарат вводили гидроксид железа (III), перемешивали в течение 1 ч и оставляли на 2 сут.

Изучены физико-химические свойства комплексного препарата, в том числе содержание в нем железа, табл. 7.

**Таблица 7. Физико-химическая характеристика феррогуматсодержащего препарата****Table 7. Physico-chemical characterization of ferrohumate-containing preparation**

Цвет	Массовая доля веществ, %				Массовая доля железа, мг/мл	Плотность, г/см <sup>3</sup>	рН
	сухих	органических	минеральных	гуминовых			
Красно-коричневый	13,83	7,52	6,31	6,00	60,25	1,24	7,55

Препарат представлял собой жидкость красно-коричневого цвета с массовой долей сухих веществ 13,83 % и органических веществ 7,52 %. Доля минеральных веществ в комплексном препарате увеличилась до 6,31 % в связи с введением соединений железа. Плотность препарата составила 1,24 г/см<sup>3</sup>, рН – 7,55. Массовая доля железа в растворе – 60,25 мг/мл. Препарат хорошо растворим в воде в любых соотношениях и не образует осадка при разбавлении.

Первичные испытания феррогумата выполнены в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского» на лабораторных животных.

Предварительно в условиях вивария на белых беспородных мышах массой 18–21 г проведены токсикологические исследования феррогумата – определение острой токсичности и класса опасности. Установлено, что среднесмертельная доза (ЛД<sub>50</sub>) препарата при внутрижелудочном введении белым мышам составляет 146 666,7 мг/кг массы тела животного. В соответствии с этим показателем, согласно ГОСТ 12.1.007–76 (ССВТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности), феррогумат относится к IV классу опасности (вещества малоопасные).

Оценка профилактической и лечебной эффективности феррогуматсодержащего препарата при экспериментальной железodefицитной анемии проведена на 20 самках белых крыс живой массой 175–240 г. Для моделирования экспериментальной железodefицитной анемии животным 2-й и 3-й групп подкожно вводили 2%-ный водный раствор солянокислого фенилгидразина, животные 1-й группы служили контролем. Результаты морфологического исследования крови контрольных и опытных крыс приведены в табл. 8.

Таблица 8. Результаты морфологического исследования крови контрольных и опытных крыс через 6 дней и в конце опыта

Table 8. Results of morphological study of blood of control and experimental rats after 6 days and at the end of the experiment

Показатель	Фон	Группа					
		1-я		2-я		3-я	
		через 6 дней	в конце опыта	через 6 дней	в конце опыта	через 6 дней	в конце опыта
Содержание лейкоцитов (WBC), $\cdot 10^9/\text{л}$	5,57 $\pm$ 0,57	5,40 $\pm$ 0,43	7,05 $\pm$ 2,24	5,38 $\pm$ 0,62	7,86 $\pm$ 3,07	5,34 $\pm$ 0,59	5,70 $\pm$ 1,70
Содержание эритроцитов (RBC), $\cdot 10^{12}/\text{л}$	6,60 $\pm$ 0,42	6,90 $\pm$ 0,69	6,71 $\pm$ 0,83	7,70 $\pm$ 0,96	6,89 $\pm$ 1,17	7,92 $\pm$ 0,66	7,74 $\pm$ 0,26
Гемоглобин (HGB), г/л	162,02 $\pm$ 6,87	160,40 $\pm$ 11,91	167,05 $\pm$ 8,37	170,40 $\pm$ 14,96	142,60 $\pm$ 7,65	175,00 $\pm$ 13,06	155,40 $\pm$ 4,59
Гематокрит (HCT), л/л	0,394 $\pm$ 0,02	0,382 $\pm$ 0,04	0,592 $\pm$ 0,03	0,404 $\pm$ 0,05	0,481 $\pm$ 0,05	0,431 $\pm$ 0,03	0,515 $\pm$ 0,02
Средний объем эритроцита (MCV), фл	51,85 $\pm$ 0,41	52,38 $\pm$ 0,02	50,73 $\pm$ 1,05	52,48 $\pm$ 0,15	62,28 $\pm$ 1,56	52,56 $\pm$ 0,24	58,44 $\pm$ 1,27
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг	15,58 $\pm$ 0,35	15,30 $\pm$ 0,24	15,18 $\pm$ 0,44	15,78 $\pm$ 0,31	14,95 $\pm$ 0,49	15,84 $\pm$ 0,17	15,12 $\pm$ 0,34
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	335,85 $\pm$ 13,08	325,40 $\pm$ 7,86	313,60 $\pm$ 4,19	334,80 $\pm$ 6,20	271,40 $\pm$ 2,49	346,80 $\pm$ 3,45	299,10 $\pm$ 2,28
Ширина распределения эритроцитов (RDW), %	14,48 $\pm$ 0,41	14,60 $\pm$ 0,17	14,65 $\pm$ 0,80	14,46 $\pm$ 0,15	15,43 $\pm$ 0,78	14,32 $\pm$ 0,27	15,06 $\pm$ 0,99
Содержание тромбоцитов (PLT), $\cdot 10^9/\text{л}$	319,67 $\pm$ 20,29	302,40 $\pm$ 30,65	312,00 $\pm$ 15,34	237,80 $\pm$ 35,50	362,40 $\pm$ 25,57	230,40 $\pm$ 38,35	322,20 $\pm$ 16,58
Средний объем тромбоцита (MPV), фл.	6,33 $\pm$ 0,16	6,98 $\pm$ 0,14	6,48 $\pm$ 0,31	6,78 $\pm$ 0,17	5,88 $\pm$ 0,42	6,99 $\pm$ 0,19	6,82 $\pm$ 0,58
Тромбоцит (PCT), %	0,202 $\pm$ 0,03	0,211 $\pm$ 0,04	0,218 $\pm$ 0,04	0,219 $\pm$ 0,07	0,261 $\pm$ 0,03	0,223 $\pm$ 0,05	0,227 $\pm$ 0,04
Ширина распределения тромбоцитов (PDW), %	14,12 $\pm$ 1,11	15,08 $\pm$ 0,70	14,98 $\pm$ 1,11	15,44 $\pm$ 1,25	15,19 $\pm$ 1,30	15,32 $\pm$ 1,33	15,58 $\pm$ 0,77

Установлено, что на 6-й день опыта в крови крыс 2-й и 3-й групп, по сравнению с контрольными животными, повысилось содержание эритроцитов (RBC) на 11,6 и 14,8 % соответственно, а уровень гемоглобина (HGB) – на 6,2 и 9,1 %, что свидетельствует об активизации кроветворной системы за счет дополнительного поступления железа с феррогуматсодержащим препаратом. На это указывают также уровень гематокрита (HCT), эритроцитарные индексы (MCV, MCH, MCHC, RDW), а также количество тромбоцитов (PLT) и их индексы (MPV, PCT, PDW). Существенных межгрупповых различий в содержании лейкоцитов в этот период опыта не выявлено.

К концу опыта у крыс всех групп количество эритроцитов снизилось по сравнению с предыдущим периодом, при этом наиболее значимые изменения (на 11,5 %) отмечены у животных 2-й группы. Тем не менее значение данного показателя ( $6,89 \pm 1,17 \cdot 10^{12}/л$ ) было даже несколько выше (на 2,7 %), чем у крыс контрольной группы. На фоне 10-дневного применения феррогуматсодержащего препарата у животных 3-й группы содержание эритроцитов практически не отличалось от предыдущего периода исследования и было выше, чем у крыс 1-й и 2-й групп на 15,3 и 12,3 % соответственно. Уровень гемоглобина у животных 2-й и 3-й опытных групп снизился более существенно по сравнению с крысами контрольной группы (на 14,6 и 7,0 %) и 6-м днем опыта (на 16,3 и 11,2 % соответственно). Менее значимое снижение содержания эритроцитов по сравнению с гемоглобином в периферической крови крыс опытных групп с экспериментальной железодефицитной анемией, по-видимому, связано с увеличением доли менее зрелых клеток. В пользу такого предположения указывают показатель среднего объема эритроцитов (MCV) и ширина их распределения (RDW). Известно, что для железодефицитной анемии характерен микроцитоз, но в данном случае этот эритроцитарный индекс в большей степени изменился под влиянием фенилгидразина.

Параметры MCH, MCHC и RDW также указывают на анемичные состояния опытных крыс и нарушение в их организме процессов образования эритроцитов и гемоглобина.

Самое высокое количество тромбоцитов и низкий уровень гемоглобина у крыс 2-й группы может также указывать на железодефицитную анемию. У животных, которым феррогуматсодержащий препарат выпаивали в течение 10 дней (3-я группа), такой дисбаланс выражен менее, что указывает на лучшее обеспечение железом и усиление процесса кроветворения.

Данные биохимического исследования крови контрольных и опытных крыс приведены в табл. 9.

**Таблица 9. Биохимические показатели крови крыс в конце опыта**

**Table 9. Biochemical parameters of blood of rats at the end of the experiment**

Показатель	Группа		
	1-я	2-я	3-я
Общий белок, г/л	77,52 ± 1,98	75,38 ± 2,38	77,78 ± 2,05
Альбумин, г/л	46,92 ± 0,88	45,60 ± 2,41	48,16 ± 1,13
АлТ, ЕД/л	52,18 ± 4,61	52,34 ± 4,23	49,36 ± 5,01
АсТ, ЕД/л	146,80 ± 14,42	181,40 ± 15,94	144,20 ± 4,56
ЩФ, ЕД/л	227,60 ± 19,24	222,60 ± 25,13	199,60 ± 19,04
ГГТП, ЕД/л	1,72 ± 0,46	2,49 ± 0,41	2,43 ± 0,80
Амилаза, ЕД/л	903,00 ± 51,27	830,00 ± 62,51	825,40 ± 59,23
Общий билирубин, мкмоль/л	11,35 ± 2,23	13,66 ± 1,83	11,78 ± 2,26
Прямой билирубин, мкмоль/л	2,78 ± 0,47	3,30 ± 1,39	2,79 ± 0,37
Холестерин, ммоль/л	2,20 ± 0,22	1,79 ± 0,19	2,02 ± 0,15
Триглицериды, ммоль/л	1,15 ± 0,14	1,26 ± 0,20	1,39 ± 0,44
Глюкоза, ммоль/л	10,94 ± 0,79	7,91 ± 0,32	11,14 ± 0,65
Мочевина, ммоль/л	7,90 ± 0,65	8,69 ± 0,39	6,75 ± 0,26
Креатинин, мкмоль/л	66,16 ± 4,14	55,68 ± 4,38	58,28 ± 3,53
Мочевая кислота, мкмоль/л	154,86 ± 26,93	161,00 ± 27,30	166,40 ± 23,97
Кальций, ммоль/л	2,59 ± 0,05	2,50 ± 0,02	2,50 ± 0,03
Фосфор, ммоль/л	2,29 ± 0,13	2,33 ± 0,12	2,30 ± 0,09
Магний, ммоль/л	1,23 ± 0,05	1,26 ± 0,14	1,16 ± 0,10
Хлор, ммоль/л	108,20 ± 1,24	107,40 ± 0,76	106,00 ± 1,87
Калий, ммоль/л	5,53 ± 0,22	5,82 ± 0,20	5,60 ± 0,21
Натрий, ммоль/л	157,00 ± 1,37	156,00 ± 0,87	157,60 ± 0,91
Медь, мкг/дл	191,00 ± 22,89	185,60 ± 20,65	173,20 ± 13,67
Железо, мкмоль/л	69,24 ± 5,37	61,17 ± 6,12	76,06 ± 9,12
Цинк, мкг/дл	168,00 ± 6,07	175,20 ± 9,98	171,20 ± 11,67

Наибольший интерес в биохимическом анализе крови вызывают показатели, характеризующие функцию печени (белок и белковые фракции, аминотрансферазы, гаммаглутаминтранспептидаза, щелочная фосфатаза, билирубин) и обмен железа. Как видно из данных табл. 9, в сыворотке крови крыс 2-й опытной группы несколько снижено содержание общего белка за счет альбумина, вырабатываемого клетками печени. Он не является высокочувствительным показателем, но уровень альбумина зависит от функционального состояния печени.

При поражении печени лекарственными препаратами может отмечаться повышение активности щелочной фосфатазы, но у животных опытных групп данный показатель даже несколько ниже, чем у крыс контрольной группы. Об отсутствии серьезного поражения гепатоцитов свидетельствуют значения АлТ и АсТ. При острых процессах печени они могут иногда повышаться в несколько раз, причем в таких случаях чаще повышается АлТ. Достаточно информативным и высокочувствительным показателем, помогающим выявить заболевание печени на начальном этапе, является гаммаглутаминтранспептидаза (ГГТП). Видно, что активность данного фермента выше у крыс опытных групп, что указывает на гепатотоксическое действие фенилгидразина, использованного для моделирования экспериментальной железodefицитной анемии.

Отмечено повышение сывороточного железа у животных 3-й группы (разница относительно крыс 1-й и 2-й групп составляла 9,8 и 24,3 % соответственно).

Определено влияние феррогуматсодержащего препарата на прирост массы тела животных и массы органов – печени и селезенки (табл. 10).

**Таблица 10. Динамика живой массы контрольных и опытных крыс**

**Table 10. Dynamics of live weight of control and experimental rats**

Группа	Масса животных		Прирост массы, %	Прирост массы органа			
	в начале опыта	в конце опыта		селезенка		печень	
				г	%	г	%
1-я	217,43 ± 12,05	239,94 ± 14,57	9,25	1,31 ± 0,23	0,53 ± 0,06	7,64 ± 0,37	3,99 ± 0,23
2-я	209,50 ± 15,10	237,81 ± 17,42	11,74	2,25 ± 0,33	0,97 ± 0,11	10,80 ± 1,14	4,62 ± 0,34
3-я	216,86 ± 7,18	243,94 ± 9,42	11,03	2,29 ± 0,17	0,94 ± 0,05	10,13 ± 0,41	4,19 ± 0,06

Установлено, что за период опыта прирост массы тела у крыс контрольной группы составил 9,25 %. У опытных животных 2-й и 3-й групп данный показатель был выше на 2,49 и 1,78 % соответственно, что, по-видимому, связано с увеличением массы их внутренних органов.

Результаты определения массы печени и селезенки крыс контрольной и опытных групп показали, что на фоне экспериментальной фенилгидразиновой железodefицитной анемии у животных опытных групп отмечено существенное увеличение абсолютной и относительной массы печени, и особенно селезенки. Примечательно, что у крыс 3-й группы (получавших железо более продолжительный период) относительная масса указанных органов была меньше, чем у животных 2-й группы.

#### **Выводы.**

1. Показана возможность создания феррогуматсодержащего препарата для профилактики анемии у сельскохозяйственных животных путем введения ионов железа в состав гуминового препарата в дозе, не превышающей его обменную емкость.

2. Разработан способ получения феррогуматсодержащего комплекса, который заключается в окислении сфагнового торфа пероксидом водорода с расходом 10–15 % на сухое вещество торфа, в течение 3 ч, при температуре 100–105 °С, в среде гидроксида аммония с расходом 25 % на сухое вещество торфа и введением в состав жидкого гуминового препарата свежеприготовленного гидроксида железа в количестве, необходимом для создания концентрации железа 50–60 мг/мл.

3. Препарат представляет собой жидкость красно-коричневого цвета с содержанием сухих веществ 14,0 %, органических веществ – 7,65 %. Доля минеральных веществ составляет 6,35 %. Исследован химический состав основы феррогуматсодержащего препарата оксида торфа и феррогумата.

4. Токсикологические исследования феррогумата показали, что его среднесмертельная доза (ЛД<sub>50</sub>) при внутрижелудочном введении белым мышам составляет 146 666,7 мг/кг массы тела животного и в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 по степени воздействия на организм он относится к IV классу опасности (вещества малоопасные).

5. Первичная оценка лечебной эффективности феррогуматсодержащего препарата при экспериментальной железodefицитной анемии на лабораторных животных показала, что он содержит усвояемое организмом животных железо, которое способно связываться с белками крови и включаться в процессы кроветворения. Оральное введение белым крысам феррогумата в течение 5 дней

из расчета 0,7 мг железа на голову в сутки активизировало кроветворную систему животных. Выпаивание белым крысам феррогумата в течение 10 дней (два курса по 5 дней с интервалом 2 сут) из расчета 0,7 мг железа на голову в сутки увеличивало запасные фонды железа и, судя по результатам лабораторного исследования крови, нивелировало проявление экспериментальной железодефицитной анемии.

#### Список использованных источников

1. Кучинский, М. П. Биоэлементы – фактор здоровья и продуктивности животных / М. П. Кучинский. – Минск : Бизнесофсет, 2007. – 371 с.
2. Кучинский, М. П. Ферровит – новое средство профилактики железодефицитной анемии поросят / М. П. Кучинский // Современные вопросы патологии сельскохозяйственных животных : материалы Междунар. науч.-практ. конф., 23–24 окт., Минск, 2003. – С. 176–178.
3. Кучинский, М. П. Отработка оптимальной дозы и изучение профилактической эффективности тетраминерала при железодефицитной анемии поросят / М. П. Кучинский // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2007. – № 1. – С. 5–11.
4. Томсон, А. Э. Торф и продукты его переработки / А. Э. Томсон, Г. В. Наумова. – Минск : Беларуская навука, 2009. – 328 с.
5. Биологически активные гуминовые препараты и различные аспекты их физиологического действия / Г. В. Наумова [и др.] // Природопользование. – 1996. – Вып. 1. – С. 99–103.
6. Сысков, К. И. Определение конститутивных групп в гуминовых кислотах / К. И. Сысков, Т. А. Кухаренко // Заводская лаборатория. – 1957. – № 1. – С. 25–27.
7. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии. – Минск, 2007. – 24 с.
8. Беленький, М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький — Л. : Медгиз, 1963. – 168 с.
9. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : ГОСТ 12.1.007–76. – Введ. 01.01.77. – М. : Стандартинформ, 2007. – 6 с.

#### References

1. Kuchinskiy M. P. *Bioelementy – faktor zdorovya i produktivnostiivotnyih: monografiya* [Bioelements – a factor of health and productivity of animals: monograph]. Minsk, Biznesofset Publ., 2007, 371 p. (in Russian)
2. Kuchinskiy M. P. *Ferrovit – novoe sredstvo profilaktiki jelezodefitsitnoy anemii porosyat* [Ferrovit – a new means of prophylaxis of iron deficiency anemia of piglets]. *Materialy Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. "Sovremennyye voprosy patologii sel'skoxozyastvennyh zivotnyh"* [Proc. of the Int. sci. and pract. conf. "Modern issues of pathology of agricultural animals"], October 23–24, 2003, Minsk, pp.176–178. (in Russian)
3. Kuchinskiy M. P. *Otrabotka optimalnoy dozyi i izuchenie profilakticheskoy effektivnosti tetraminerala pri jelezodefitsitnoy anemii porosyat* [Development of the optimal dose and study of the prophylactic effectiveness of tetramineral at iron deficiency anemia of piglets]. *Veterinarnaya medicina Belarusi = Veterinary Medicine of Belarus*, 2007, no. 1, pp. 5–11. (in Russian)
4. Tomson A. E., Naumova G. V. *Torf i produkty ego pererabotki* [Peat and products of its processing]. Minsk, Belaruskaya Navuka Publ., 2009, 328 p. (in Russian)
5. Naumova G. V., Jmakova N. A., Ovchinnikova T. F., Konoplya E. F., Makarova N. L., Ermakova S. S. *Biologicheski aktivnyie guminovyye preparaty i razlichnyie aspekty ih fiziologicheskogo deystviya* [Biologically active humic preparations and various aspects of their physiological action]. *Prirodopol'zovanie = Nature Management*, 1996, issue 1, pp. 99–103. (in Russian)
6. Syiskov K. I., Kuharenko T. A. *Opredelenie konstitutivnyih grupp v guminovyih kislotah* [Determination of constitutive groups in humic acids]. *Zavodskaya laboratoriya = Factory laboratory*, 1957, no. 1, pp. 25–27. (in Russian)
7. *Metodicheskie ukazaniya po toksikologicheskoy otsenke himicheskikh veschestv i farmakologicheskikh preparatov, primenyaemyih v veterinarii* [Methodical instructions on toxicological evaluation of chemical substances and pharmacological preparations used in veterinary medicine]. Minsk, 2007, 24 p. (in Russian)
8. Belenkiy M. L. *Elementy kolichestvennoy otsenki farmakologicheskogo efekta*. [Elements of quantitative assessment of pharmacological effect]. Leningrad, Medgiz Publ., 1963, 168 p. (in Russian)
9. *GOST 12.1.007–76. Vrednyie veschestva. Klassifikatsiya i obschie trebovaniya bezopasnosti* [State Standart 12.1.007–76. Harmful substances. Classification and general safety requirements]. Moscow, Standartinform Publ., 2007, 6 p. (in Russian)

**Информация об авторах**

*Жмакова Надежда Анатольевна* – кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, Институт природопользования НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 10, 220076, г. Минск, Беларусь). E-mail: zhmakova@mail.ru

*Макарова Наталья Леонидовна* – кандидат технических наук, доцент, старший научный сотрудник, Институт природопользования НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 10, 220076, г. Минск, Беларусь). E-mail: nat.makarova05@gmail.com

*Кучинский Михаил Павлович* – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» (ул. Брикета, 28, 220063, г. Минск, Беларусь). E-mail: kmpvet@yandex.ru

*Кучинская Галина Михайловна* – научный сотрудник, и. о. заведующего отделом, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» (ул. Брикета, 28, 220063, г. Минск, Беларусь). E-mail: kmpvet@yandex.ru

**Information about the authors**

*Nadezhda A. Zhmakova* – Ph. D. (Technical), Associate Professor, Leading Researcher, Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus (10, F. Skoriny Str., 220076, Minsk, Belarus). E-mail: zhmakova@mail.ru

*Natalyia L. Makarova* – Ph. D. (Technical), Associate Professor, Senior Researcher, Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus (10, F. Skoriny Str., 220076, Minsk, Belarus). E-mail: nat.makarova05@gmail.com

*Mikhail P. Kuchinsky* – D. Sc. (Veterinary), Professor, Chief Researcher, RUE "S. N. Vyshellessky Institute of Experimental Veterinary Science" (28, Briketa Str., 220063, Minsk, Belarus). E-mail: kmpvet@yandex.ru

*Galina M. Kuchinskaya* – Researcher, Acting Head of the department, RUE "S. N. Vyshellessky Institute of Experimental Veterinary Science", (28, Briketa Str., 220063, Minsk, Belarus). E-mail: kmpvet@yandex.ru