

ZYG MUNT MADEJSKI, ANDRZEJ LEDWOŻYW, GRAZYNA WAŁKUSKA

Badanie przechodzenia i pozostałości w tkankach kurcząt rzeźnych winylotiooksazolidonu (VTO) – naturalnego składnika toksycznego śrut rzepakowych

Pracownia Toksykologii Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Śruta rzepakowa tzw. poekstrakcyjna jest ubocznym produktem olejarskiego przerobu nasion rzepaku, powszechnie wykorzystywanym w produkcji różnych pasz przemysłowych, przeznaczonych głównie dla bydła, owiec, trzody chlewnej i drobiu (8). Masowe jej stosowanie w celach paszowych stwarza problemy toksykologiczne, wynikłe z faktu występowania w tym produkcie związków toksycznych typu goitrogenów o silnym działaniu wolotwórczym (3, 6). Są to izotiocyjaniiny (ITC) oraz winylotiooksazolidony, spośród których szczególnie znaczenie ma 5-winylo-2-tiooksazolidon (VTO, WTO, syn. goitryna). Prekursorami tych związków są organiczne substancje siarkowe zwane tioglikozydami.

VTO i ITC oraz ich prekursorzy występują w wielu roślinach rodziny Krzyżowych (*Cruciferae*), liczącej ponad 3000 gatunków, do których zaliczany jest również rzepak (7). Znaczna część tych roślin stanowi pospolite kultury pastewne (także warzywne) oraz chwasty zjadane przez zwierzęta w różnych okolicznościach. Powyższe względy inspirowały potrzebę badań nad występowaniem wymienionych goitrogenów w środkach spożywczych zwierzęcego pochodzenia.

Dotychczas stwierdzono, że VTO zawarty w paszy przechodzi z przewodu pokarmowego u krów dojnych do mleka (1, 2, 4, 9, 10), a jak ostatnio wykazano w badaniach własnych również u ptaków do jaj (5). W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych na temat występowania VTO w tkankach i narządach zwierzęcych, mogących stanowić produkty spożywcze lub być surowcami do ich wytwarzania.

Praca niniejsza miała na celu określenie możliwości przechodzenia VTO do wybranych tkanek kurcząt rzeźnych tj. wątroby, nerek, mięśni szkieletowych i krwi oraz kształtowania się ewentualnych jego pozostałości po stosowaniu paszy z dodatkiem śruty rzepakowej nieodgoryczanej, zawierającej ten związek w naturalnej ilości.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 21 brojlerach, krzyżówkach White Rock × Cornish, obojga płci, w wieku około 12 tygodni, o średnim ciężarze ciała 2 kg. Z podanej liczby ptaków wydzielono grupę doświadczalną liczącą 16 sztuk, a pozostałych 5 sztuk potraktowano jako grupę kontrolną. Po odpowiednim okresie adaptacji kurczętom grupy doświadczalnej

podawano przemysłową mieszankę paszową dla drobiu DKA finisz z dodatkiem 50% śruty rzepakowej nieodgoryczanej o stężeniu VTO 12 mg/g, w ilości 0,5 kg dziennie na sztukę. Ptaki kontrolne żywiły się samą tylko mieszanką DKA finisz bez dodatku śruty. Pasza ta w teście sprawdzającym nie wykazywała obecności VTO. Wszystkie kurczęta pożywiono wodą pitną do woli i przetrzymywano w klatkach w warunkach wiatrynych.

W przebiegu badań z grupy doświadczalnej tj. otrzymującej paszę z VTO wybrano losowo: po 5 dniach — 6 kurcząt, po 10 dniach — 4 kurczęta i po 20 dniach — 4 kurczęta, które następnie wykrwawiano i pobierano od nich odpowiednie próbki do analizy zawartości VTO. Pozostałym 2 ptakom w 20 dniu doświadczenia wyeliminowano dodatek śruty do paszy i dopiero po dalszych 2 dniach poddano ubojowi oraz oznaczeniom VTO jak poprzednio. W analogicznych odstępach czasu oznaczano VTO u kurcząt kontrolnych żywionych samą tylko mieszanką DKA finisz.

Przez cały okres doświadczenia kurczęta były poddawane obserwacjom klinicznym.

Do oznaczeń analitycznych VTO użyto ilościowej metody własnej z zastosowaniem chromatografii cienkowsarstwowej, przeznaczonej dla jaj, którą opisano w poprzedniej pracy (5) z uwzględnieniem szeregu modyfikacji adaptacyjnych dla tkanek.

Przebieg oznaczania VTO. Przedmiotem analizy były próbki tkanek pobierane w następujących ilościach: krew — 50 cm³, wątroba — 50 g, mięśnie szkieletowe (mm. piersiowe) — 50 g oraz nerki — 20 g. Pobrane materiały homogenizowano z niewielką ilością (kilkanaście cm³) 15% roztworu NaOH, a następnie przenoszono ilościowo do cylindra miarowego i uzupełniano tym samym roztworem do 50 cm³. Homogenat z kolei umieszczano w kolbie stożkowej ze szlifowanym korkiem i ekstrahowano go 3-krotnie 100 cm³ eteru etylowego wolnego od nadtlenu, wytrząsając dokładnie każdą porcję przez około 3 minuty. Połączone wyciągi eterowe odparowywano całkowicie w temperaturze poniżej 40°C w laboratoryjnej wyparce próżniowej. Suchą pozostałość rozpuszczano w 5 cm³ octanu etylu nasyconego wodą, dodawano około 1 g węgla aktywowanego, intensywnie wytrząsano i sączono przez miękki sączek bibułowy. Tak otrzymany przesącz poddawano analizie chromatografii cienkowsarstwowej.

Analizę przeprowadzano na płytках z żelem krzemionkowym G, niosząc badane ekstrakty w ilości 10 i 20 mm³ (w zależności od spodziewanego stężenia VTO) oraz podstawowy roztwór wzorcowy zawierający w 1 cm³ octanu etylu 10 µg VTO. Roztwór ten наносzono w ilościach: 5, 10 i 15 mm³, co odpowiadało kolejno — 0,05, 0,10 i 0,15 µg VTO. Po rozwinięciu chromatogramu w układzie: benzen — octan etylu — eter etylowy — etanol — woda (5:1:1:2:4) oraz jego wywołaniu odczynnikami jodoazotkowym sporządzonym wg przepisu podanego w cytowanej pracy (5), porównywano wielkości charakterystycznych plam ekstraktów z plamami wzorca i określano ilości naniesionego z ekstraktami VTO. Ostateczne stężenie VTO w badanej tkance obliczano w µg/g (w przypadku krwi — µg/cm³), uwzględ-

niając odpowiednie rozcieńczenia oraz wielkość próbek. W obliczeniach tych brano pod uwagę średnią z trzech równoległych analiz chromatograficznych każdego ekstraktu.

Wyniki i omówienie

W przebiegu doświadczenia kurczęta grupy badanej, tj. otrzymującej paszę z dodatkiem śruty rzepakowej zawierającej VTO, po początkowo zmniejszonym apetycie na ogół dobrze wyjadały karmę, jednakże ich kondycja i rozwój somatyczny były słabsze niż ptaków kontrolnych, żywionych samą mieszanką DKA finiszera. Należy nadmienić, że w pracy tej do badań użyto śruty rzepakowej nieodgoryczanej, zawierającej VTO w naturalnym stężeniu (12 mg/g), która była dodawana do karmy w stosunkowo dużej ilości (50%). Zwykle w masowej produkcji pasz przemysłowych używa się śrut odgoryczanych tzn. poddawanych odpowiednim procesom technologicznym, pozwalającym na znaczne obniżenie zawartości VTO (do około 1/3 stężenia wyjściowego). Śruty takie są zazwyczaj dodawane do mieszanek paszowych w ilości 3 do 20%. Niekiedy jednak w praktyce żywieniowej są stosowane śruty nieodgoryczane bądź tzw. makuchy nie poddawane wspomnianym zabiegom. Te ostatnie mogą zawierać nawet większe ilości VTO niż śruta nieodgoryczana.

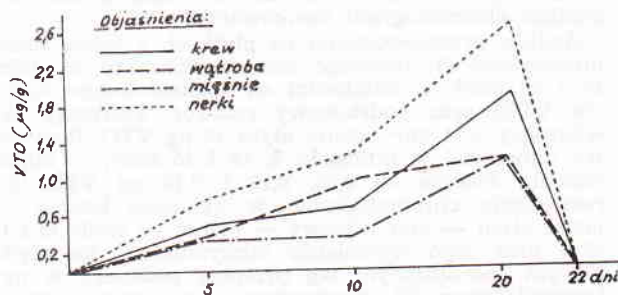
Wyniki oznaczeń VTO w tkankach podano w tab. 1 oraz na ryc. 1. Ponadto na ryc. 2 przedstawiono przykładowo jeden z chromatogramów dotyczących analizy VTO w mięśniach.

Z przedstawionych danych wynika (tab. 1, ryc. 1), że VTO u kurcząt doświadczalnych występował we wszystkich badanych tkankach

Tab. 1. Stężenia VTO ($\bar{x} \pm S$) w tkankach kurcząt otrzymujących paszę z dodatkiem śruty rzepakowej w poszczególnych dniach doświadczenia. W nawiasach podano liczbę badanych ptaków

Tkanka	Dzień doświadczenia			
	5	10	20	22*
Nerki, $\mu\text{g/g}$	0,80 \pm 0,04 (6)	1,31 \pm 0,07 (4)	2,50 \pm 0,00 (4)	0 (2)
Krew, $\mu\text{g/ml}$	0,53 \pm 0,09 (6)	0,61 \pm 0,03 (4)	1,58 \pm 0,09 (4)	0 (2)
Wątroba, $\mu\text{g/g}$	0,42 \pm 0,03 (6)	0,86 \pm 0,03 (4)	1,10 \pm 0,06 (4)	0 (2)
Mięśnie, $\mu\text{g/g}$	0,41 \pm 0,03 (6)	0,36 \pm 0,02 (4)	1,10 \pm 0,10 (4)	0 (2)

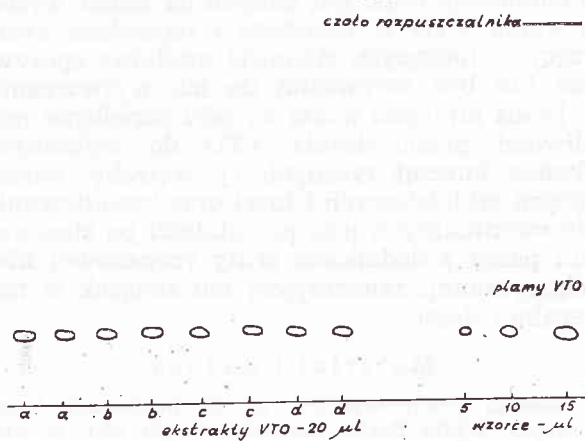
Objaśnienie: *) — po dwóch dniach od zaprzestania podawania śruty rzepakowej.



Ryc. 1. Dynamika gromadzenia się i znikania z tkanek VTO u kurcząt brojlerów żywionych paszą z dodatkiem śruty rzepakowej w przebiegu doświadczenia

tj. wątrobie, nerkach, mięśniach szkieletowych i krwi już po 5 dniach stosowania paszy ze śrutą. Stężenia jego narastały w miarę upływu czasu stosowania śruty, osiągając maksymalne wartości po 20 dniach. Kształtowały się one różnie w poszczególnych tkankach. Stosunkowo duże ilości VTO (w całym okresie badań) notowano w nerkach — 0,80 do 2,5 $\mu\text{g/g}$, mniejsze we krwi — 0,53 do 1,88 $\mu\text{g/g}$, a najmniejsze w wątrobie — 0,42 do 1,10 $\mu\text{g/g}$ i mięśniach — 0,36 do 1,10 $\mu\text{g/g}$. Po 2 dniach od wyeliminowania śruty z paszy, w żadnej z badanych tkanek nie stwierdzano już obecności tego związku. VTO nie występował w całym przebiegu doświadczenia u kurcząt kontrolnych żywionych samą mieszanką DKA finiszera bez dodatku śruty.

Przeprowadzone badania wykazały zatem niewątpliwie, że VTO przechodzi z przewodu pokarmowego u ptaków do krwi i narządów wewnętrznych, gdzie stwierdza się go w formie pozostałości, narastających zależnie od podaży w paszy. Przerwa w podaży powoduje stosunkowo szybkie jego znikanie z tkanek, co przemawiałoby za brakiem właściwości kumulacyjnych tego związku. Spostrzeżenie, że VTO nie kumuluje się w ustroju ptaka, znajduje potwierdzenie w wynikach poprzednich badań własnych (5). W pracy tej stwierdzono, że VTO jednak występuje w tkankach w okresie karmienia zwierząt śrutą rzepakową, co może mieć znaczenie dla toksykologii środków spożywczych zwierzęcego pochodzenia. Wymagane są w tym kierunku badania o szerszym zakresie. Interesujące byłoby zwłaszcza badania nad występowaniem i trwałością VTO w tuszach mięsnych oraz tzw. podrobach pochodzących od różnych gatunków zwierząt rzeźnych, ubijanych w trakcie normalnego karmienia mieszankami przemysłowymi, zawierającymi śrutę rzepakową lub żywionych roślinami pastewnymi z rodziny krzyżowych.



Ryc. 2. Chromatogram wzorców i ekstraktów VTO z mięśni szkieletowych (a, b, c, d) kurcząt, po 10 dniach stosowania paszy z dodatkiem śruty rzepakowej

Zastosowana w tej pracy metoda analityczna (przeznaczona dla jaj) w opisanej modyfikacji nadaje się w zupełności do oznaczeń VTO w tkankach zwierzęcych i narządach. Metoda ta nie jest doskonała i wymaga dalszych ulepszeń, niemniej jednak już w takiej formie może być wykorzystana do niektórych badań nad dynamiką gromadzenia się i wydalania VTO z ustroju oraz jego pozostałościami, w tym także w analityce pozostałości w środkach spożywczych zwierzęcego pochodzenia.

Wnioski

1. Zawarty w paszy VTO (5-winylo-2-tiooksazolidon) przechodzi z przewodu pokarmowego u kurcząt do krwi, mięśni szkieletowych, wątroby i nerek, występując w nich w formie pozostałości narastających z upływem czasu stosowania śruty w karmie; pozostałości te mogą być znaczące dla toksykologii środków spożywczych zwierzęcego pochodzenia.

2. Występowanie i gromadzenie się VTO w tkankach tylko w okresie stosowania śruty rzepakowej oraz stosunkowo szybkie znikanie jego z tkanek świadczą o braku właściwości kumulacyjnych tego związku.

3. Stosunkowo wysokie stężenia VTO w nerkach sugerują, że związek ten w formie nie zmienionej wydala się z organizmu głównie poprzez te narządy.

4. Zastosowana metoda analityczna w pełni nadaje się do ilościowego oznaczania VTO w tkankach i narządach zwierzęcych. Może być ona szczególnie przydatna do celów rutynowego badania pozostałości VTO w różnych produktach spożywczych zwierzęcego pochodzenia.

Piśmiennictwo

1. Arstila A., Krusius E. E., Peltola P.: *Endocrinology* 60, 712, 1969.
2. Leod H. A., Bens C., Levis D., Lawrence J. F.: *J. Chromat.* 157, 285, 1978.
3. Madejski Z.: *Medycyna Wet.* 28, 209, 1972.
4. Madejski Z.: *Bromat. Chem. Toksykol.* 6, 329, 1973.
5. Madejski Z.: *Medycyna Wet.* 30, 360, 1974.
6. Madejski Z.: *Annales UMCS (Lublin)*, sectio DD 32/33, 95, 1977/1978.
7. Prończuk J.: *Świat roślin*, PWN, 1977, s. 366.
8. *Receptury mieszanek i koncentratów paszowych*. Zjedn. Przem. Pasz. „Bacutti”. Wyd. Normalizacyjne, 1980.
9. Virtanen A. J., Kreula M., Kiesvaara M.: *Acta chem. scand.* 13, 1043, 1959.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Madejski, ul. Sowiańskiego 8/14, 20-040 Lublin

Мадейский З., Ледвожив А., Валкуская Г. — Исследования перемещения и остатков в тканях убойных цыплят винилтиооксазолидона (VTO) — натурального токсического компонента рапсового шрота

VTO (5-винил-2-тиооксазолидон, син. Гоитрина) является натуральным токсическим компонентом рапсового шрота, применяемого для производства промышленных кормов с сильным забообразовательным действием. Исследовали содержание этого соединения в цельной крови, печени, почках и скелетных мышцах цыплят-бройлеров (Уайтрок х Корниш), кормленных кормом с прибавкой небезгорчиваемого шрота с концентрацией VTO 12 мг/г в течение 20 дней. VTO определяли полуко-

личественным методом тонкослойной хроматографии собственной разработки. Отметим, что это соединение переходит из пищеварительного тракта во все упомянутые ткани, оставляя в них остатки, растущие с истечением времени применения шрота. Не показывает он, однако, кумулятивных свойств. Наибольшие количества VTO за весь период исследований отмечали в почках (0,80—2,50 $\mu\text{g/g}$), меньшие — в крови (0,53—1,88 $\mu\text{g/g}$), а наименьшие — в печени (0,42—1,10 $\mu\text{g/g}$) и мышцах (0,36—1,10 $\mu\text{g/g}$).

Мажейский З., Ледвожыў А., Ваўкуска Г. — Studies on the transfer and residues of 5 vinyl-2 thiooxazolidone (VTO) a natural component of rape seed meals in tissues of slaughter chickens

VTO (5-vinyl-2 thiooxazolidone, Goitrine) is a normal toxic component of rape seed meals of a high goitrogenous action, used for production of mixed feeds. The authors examined the content of this component in whole blood, liver, kidneys and skeletal muscles of chicken broilers (White Rock x Cornish) fed for 20 days the fodder with the addition of raw rape seed meal containing 12 mg of VTO/g. The content of VTO was determined by the own semiquantitative method of thin layer chromatography. It was found that VTO is transferred from the alimentary tract into the all above mentioned tissues, and its residue increases along with the time of rape seed meal application. However, VTO does not exhibit cumulative properties. The highest content of VTO in the whole period of examinations was noted in kidneys (0.80—2.50 $\mu\text{g/g}$), lower in blood (0.53—1.88 $\mu\text{g/g}$) and the lowest one in the liver (0.42—1.10 $\mu\text{g/g}$) and in muscles (0.36—1.10 $\mu\text{g/g}$).

MAULE WALKER F. M.: Laktacja i płodność kóz po indukcji porodu cloprostenolem, analogiem prostaglandyny F2 α . (Lactation and fertility in goats after the induction of parturition with an analogue of prostaglandin F2 alpha, cloprostenol). *Res. vet. Sci.* 34, 280—286, 1983 (3).

U owiec, u których $137 \pm 0,5$ dni ciąży zastosowano cloprostenol w iniekcji w dawce 100 i 50 μg w odstępie 10 godzin, wystąpiły wykoty po 36 ± 1 godzinach. Wydajność mleka między kozami, u których indukowano poród i kozami, które urodziły w terminie — nie różniła się statystycznie. Iniekcje 300 μg cloprostenolu również indukowały porody (200 μg oraz po 10 dniach 100 μg). Wpływały one jednak na wydajność mleka. Kilkakrotna indukcja porodów przyczyniała się do zwiększenia odsetka zatrzymania łożyska.

G.

MATSUDA H., OKUDA K., IMORI T.: Koncentracja eozynofilów w tkankach jajowodów i macicy krów w różnych stadiach cyklu rujowego. (Tissue concentrations of eosinophils in the bovine oviduct and uterus at different stages of the oestrus cycle). *Res. Vet. Sci.* 34, 369—370, 1983 (3).

W lejku i w cieśni jajowodu liczba eozynofilów sięga najwyższą wartość w okresie rui (348 ± 186 ; 333 ± 286) w porównaniu do okresu diestrus. Również wyraźnie wyższe wartości osiąga liczba eozynofilów w okresie rui w rogu macicznym (23 ± 12). W jajowodzie eozynofile gromadzą się między lamina propria, tunica mucosa i tkanką łączną tunica serosa, zaś w macicy umiejscawiają się one głównie pod powierzchnią nabłonka endometrium.

G.