

Zárójelentés

a „szervetlen és szerves humát kötésben lévő mikroelemek (Cr, V, B) hatásának összehasonlító vizsgálata” c. kutatás eredményeiről (OTKA nyilvántartási szám: T 049116)

Tartalomjegyzék

Kísérleteinkből levonható következtetések	3
1. A kutatómunka tudományos háttere, előzményei.....	4
2. Kísérleti kérdések.....	5
3. Anyag és módszer	5
4. A fulvosav és a huminsav hatásának vizsgálata dóziszgörbével.....	8
Eredmények és következtetések.....	8
Legfontosabb termelési mutatók (takarmányfogyasztás, súlygyarapodás, takarmány-értékesülés).....	8
Antioxidáns státusz (FRAP) és májenzimek (AST, ALP).....	8
Pajzsmirigy működés (TSH, T ₃ , T ₄ , T ₄ /T ₃).....	9
Emésztőenzim aktivitás.....	10
Immunválasz	11
Vastagbél-tartalom és egyes szervek mikroelem koncentrációja (máj, vese, csont, szőr).....	12
5. Szervetlen és szerves (fulvát és humát) kötésben lévő króm és bór hatásának vizsgálata.....	17
Eredmények és következtetések.....	17
Legfontosabb termelési mutatók (takarmányfogyasztás, súlygyarapodás, takarmány-értékesülés).....	17
Antioxidáns státusz (FRAP) és májenzimek (AST, ALP).....	18
Immunválasz	18
Vastagbél-tartalom és egyes szervek mikroelem koncentrációja (máj, vese, csont, szőr).....	19
6. Szervetlen és szerves (fulvát és humát) kötésben lévő vanádium hatásának vizsgálata.....	22
Eredmények és következtetések.....	22
Legfontosabb termelési mutatók (takarmányfogyasztás, súlygyarapodás, takarmány-értékesülés).....	22
Szerves és szervetlen kötésben lévő vanádium hatása a csont mikroelem tartalmára.....	23
7. Mikrobiológiai vizsgálatok	23
Bélflóra.....	23
A fulvosav és huminsav bakteriosztatikus/baktericid hatásának in vitro vizsgálata.....	24

Korongdiffúziós módszer	25
Tápleves hígítási módszer.....	24
8. Irodalomjegyzék	25

Kísérleteinkből levonható következtetések

- Kísérleti adatainkból kitűnik, hogy ideális környezetben, megfelelő táplálóanyag és mikroelem ellátás mellett, sem a fulvosavnak sem a huminsavnak nincs szignifikáns hatása a takarmányfelvételre, a súlygyarapodásra és a takarmányhasznosításra.
- A termelési mutatókra kapott eredményeink összhangban vannak a fulvosav illetve huminsav immunstimuláns hatásával, ugyanis ideális körülmények között tartott állatok esetében a -kontrollhoz képest tapasztalt- nagyfokú immunstimuláció valamint a vérben a sokkal hosszabb ideig, nagyobb mennyiségben kimutatható ellenanyagok jelentős mennyiségű táplálóanyagot és energiát vonnak el az izomfehérje szintézistől. Fontos hangsúlyozni ugyanakkor, hogy nagyüzemi viszonyok között az általunk tapasztalt immunstimuláns hatás javíthatja a termelési mutatókat a szubklinikai és klinikai tünetekben megnyilvánuló betegségek előfordulásának mérséklése miatt.
- A fulvosav és huminsav immunstimuláns hatása mely 0,4%-os kiegészítésnél volt a legintenzívebb (fulvosav esetében $P < 0,05$) előnyösen befolyásolhatja a különböző haszonállatok vakcinázásokra adott immunválaszát, ezért úgy gondoljuk, hogy a jövőben egy vakcinázási programba illeszthető piacképes termék fejleszhető ki a fulvosav immunstimuláns hatására építve.
- Kísérleti eredményeink tükrében kijelenthetjük, hogy a huminanyagok közül a fulvosav frakció felelős az irodalomban is említett hypothyreoid hatásért (Huang et al. 1994) és ez a hatás dóziszfüggő ($r=0,954$). Ugyanakkor fontos hangsúlyozni, hogy megfelelő jódellátás mellett ez a hatás enyhe, viszont jódhányos diéta hatását a fulvosav dóziséval emelkedő mértékben növelheti. Várakozásainkkal ellentétben a fel nem szívódó huminsav frakció nem befolyásolta a pajzsmirigyműködést.
- Nem tudtuk alátámasztani a huminanyagoknak tulajdonított antioxidáns hatást a vérplazma összantioxidáns kapacitásának (FRAP) meghatározásával.
- Kimutattuk, hogy sem a fulvosav sem a huminsav nincs káros hatással a máj működésére.
- A fulvosav és a huminsav a szervezet mikroelem (Cu, Fe, Mn, Zn) forgalmát befolyásoló hatása is különböző, némely esetben teljesen ellentétes, ugyanakkor a szervetlen és fulvát illetve humát kötésben lévő mikroelemek (Cr, B, V) hatása között nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a vizsgált paraméterek tekintetében.

Kísérleteink konklúziójaként elmondhatjuk, hogy a huminanyagok két különböző, esetenként teljesen ellenkező biológiai hatással rendelkező frakcióból állnak, melyek viszont standard kidolgozott eljárásokkal tiszta formában kivonhatók a forrásból. A fulvosav és a huminsav, mint a huminanyagok két legfontosabb összetevője teljesen más hatást fejt ki néhány vizsgált paraméterre (pl. pajzsmirigy hormonok vérben mérhető koncentrációja, ásványi anyag forgalom), így megállapítást nyert az a feltételezésünk, hogy az irodalomban fellelhető ellentmondásoknak feltehetően a vizsgált huminanyagok különböző fulvosav- illetve huminsavtartalma lehet az oka. Fontos, hogy az egyes biológiai paraméterek alakulásának elemzésekor elkülönítve vizsgáljuk a fulvosav, illetve huminsav hatását.

1. A kutatómunka tudományos háttere, előzményei

Az iparszerű takarmányozásban a hozamfokozó antibiotikumok betiltása miatt új környezetbarát, természetes hozamnövelő anyagokra van szükség. Ilyen célból számos anyag hatását vizsgálták már, de a probléma megoldása szempontjából új megközelítést jelenthetnek a nagy biológiai aktivitással rendelkező, a természetben szinte mindenütt előforduló humuszanyagok.

A humuszanyagok összetett anyagok, belőlük humin- és fulvosavakat különíthetünk el.

Huminsavaknak nevezzük a vízben és savakban nem, de lúgos közegben jól oldódó, sötétbarna anyagot. Ezzel szemben a **fulvosavak** vízben minden pH-tartományban oldhatók, világossárgától sárgásbarna árnyalatú színben fordulnak elő. Elsősorban a növénytermesztésben van nagy jelentőségük.

A huminsavak nem, vagy csak nagyon kis mértékben szívódnak fel, a fulvosav viszont gyorsan felszívódik az emésztőcsatornából, majd néhány órán belül eltávozik a szervezetből.

A huminanyagok (fulvát és humát együtt) az állatok egészsége és a hozamnövelés szempontjából előnyösnek tartott hatását a szakirodalom alapján a következőkben foglalhatjuk össze: nem toxikusak¹, nincs magzatkárosító hatásuk², baktericidek, viricidek, gyulladáscsökkentők, toxinkötők, adszorptívok, antioxidánsok, immunstimulánsok, javítják a mikroelemek felszívódását, továbbá csökkentik a nehézfémek toxicitását.

A felsoroltak bizonyítására vonatkozóan azonban sajnos csak nagyon kevés objektív vizsgálat áll rendelkezésre, sőt a szakirodalom a humátok pozitív hatásai mellett negatívokat is említ.

A **mikroelem**-ellátás tanulmányozása során *Fuch és mtsai*³ megállapították, hogy huminsavak alkalmazásakor nem változott a plazma vastartalma, a réz és a cink koncentrációja azonban igen. Ugyancsak *Fuch és mtsai*⁴ kimutatták, hogy a huminsavas vaskomplex kitűnő vaskiegészítő az újszülött malacok számára és egyben jó hatású a naposkori hasmenés megelőzése szempontjából is. Az is kiderült, hogy a huminsav csökkentette a jód⁵ és a kadmium⁶ felszívódását, de nem volt hatással a réz értékesülésére⁷. A huminsav etetése patkányokban nem okozott golyvát, de szignifikánsan potenciálta az alacsony jódtartalmú diéta pajzsmirigy működésre⁸ kifejtett negatív hatását.

A további hatástani kutatások során *Chodan és Sobieraj*⁹ „in vitro” vizsgálataiban megállapította, hogy míg egyes humátfrakciók **baktericidek**, addig mások serkentik a baktériumok növekedését. Ezen túlmenően a huminsavak **immunstimuláns** (*Lange és mtsai*¹⁰), valamint - baromfiban - **hozamfokozó** hatással is rendelkeznek (*Kocabagli és mtsai*¹¹).

A **humán gyógyászatban** is felhasználnak huminsavas készítményeket. *Yuan és mtsai*¹² szerint a fulvosavas szemcsepp jó hatású a korneafekély és a gyomorfekély kezelésében. Mások azt is kimutatták, hogy az alacsony molekulású huminanyagok aktiválják a granulocitákat¹³.

Az irodalmi adatok ellentmondásának feloldása, illetve magyarázata fontos lenne ahhoz, hogy tudatosan, a várható hatás ismeretében használjuk ezeket a készítményeket. Az ellentmondó hatás oka lehet az, hogy a huminanyagokat leggyakrabban tőzezből, vagy barnaszénből vonják ki. A kinyert huminanyagok igen eltérő arányban tartalmazhatják a kis molekulású, savas közegben is oldódó fulvátokat és a nagy molekulású, csak lúgokban oldódó humátokat. A tőzeg vagy a barnaszén földrajzi helye, keletkezésének kora és nem utolsósorban makro és mikroelem tartalma szerint lényegesen eltérő összetételű huminanyag vonható ki. A mi kutatásunk célja az, hogy standard alapanyagból (leonardit), standard eljárással kivont fulvosav és huminsav hatását vizsgáljuk meg és fényt derítsünk arra, hogy a féltudományos mítoszból mennyi a kísérletesen is bizonyítható valóság. Mennyiben azonos, illetve eltérő a fulvátok biológiai hatása a humátokétól?

2. Kísérleti kérdések

A kutatás során az alábbi kísérleti kérdésekre kerestünk választ:

- Hogyan befolyásolja a humátok két fő alkotórésze a humin- és fulvósav a legfontosabb termelési mutatókat (takarmányfogyasztás, súlygyarapodás, takarmány-értékesülés)?
- Van-e hatása a humin- és fulvosavnak a szervezet antioxidáns státuszára (FRAP)?
- Van-e májkárosító hatása a humin- és fulvosavnak (AST, ALP)?
- Van-e a humin- és fulvosavnak hatása a pajzsmirigy működésére (TSH, T₃, T₄, T₄/T₃)?
- Van-e a humin- és fulvosavnak hatása az emésztőenzimek aktivitására?
- Van-e hatása a humin- és fulvosavnak a szervezet immunválaszkészségére?
- Van-e a humin- és fulvosavnak hatása a szervek mikroelem koncentrációjára (vastagbél tartalom, máj, vese, csont, szőr)?
- Van-e eltérés a szervetlen, illetve szerves (fulvát és humát) kötésben lévő **króm és bór** hatása között a termelési paraméterekre, illetve a máj működésére, a szervek mikroelem koncentrációjára?
- Van-e eltérés a szervetlen, illetve szerves (fulvát és humát) kötésben lévő **vanádium** hatása között a termelési paraméterekre, illetve a máj működésére, a szervek mikroelem koncentrációjára?
- Van-e befolyása a humin- és fulvosavnak a vastagbélflóra összetételére?
- Van-e befolyása a humin- és fulvosavnak az E. coli, illetve a lactobacillusok növekedésére in vitro körülmények között?

3. Anyag és módszer

A kísérleti kérdések megválaszolására három *in vivo* kísérletet állítottunk be, kísérletenként 9 kezelési csoporttal, kezelésként 8-8 ismétléssel. Mindhárom kísérletben Wistar, SPF patkányokat használtunk, a tápok tápláló-anyagtartalmát az állat szükségleteinek megfelelően, az AIN-93G (American Institute of Nutrition) formula szerint állítottuk be. A kísérleti etetés 26 napig tartott, mialatt háromnaponként mértük a patkányok tápfogyasztását és súlygyarapodását. A kísérletek 2. napján minden állatot ovalbuminnal immunizáltunk. Az etetési periódus végén az állatokat narkózisban elvégeztettük és összegyűjtöttük a vizsgálati mintákat.

1. kísérlet A fulvát és humát dózistól függő hatásának vizsgálata

A kísérlet célja a kedvező és kedvezőtlen hatások koncentrációfüggésének megállapítása, valamint a további kísérletekben alkalmazandó koncentráció meghatározása volt.

- Kezelések: kontroll; 0,1; 0,2; 0,4; és 0,8% fulváttal, illetve 0,1; 0,2; 0,4; és 0,8% humáttal kiegészített takarmány
- Vizsgált paraméterek:
 - Gazdasági paraméterek (takarmányfogyasztás, testsúly, takarmányhasznosulás)
 - Antioxidáns státusz (FRAP)
 - Májkárosító hatás (AST, ALP)
 - Pajzsmirigy működésre kifejtett hatás (TSH, T₃, T₄, T₄/T₃)
 - Immunválasz (ovalbuminnal szemben termelt ellenanyag titer)
 - Szervek mikroelem (Cu, Fe, Zn, Mn) koncentrációja (vastagbél tartalom, máj, vese, csont, szőr)
 - Emésztőenzimek a vékonybél tartalomban és a pankréaszban (amiláz, lipáz, tripszin)
 - Bélflóra vizsgálat (Coliformok, anaerob rothasztók, tejsavtermelők)

2. kísérlet A króm és a bór hatásának vizsgálata

- A kísérlet célja az volt, hogy megállapítsuk a szerves és szervetlen kötésben lévő króm és bór hatása mennyiben hasonló vagy eltérő
- Kezelések:
 - kontroll táp (K),
 - fulvát táp (K+ fulvát 0,4%),
 - humát táp (K+ humát 0,4%) ,
 - krómos táp (K+CrCl₃; krómtartalom: 0,4 mg/kg)
 - króm fulvát (K+ króm-fulvát; krómtartalom: 0,4 mg/kg; a fulvát-tartalom 0,4%-ra korrigálva),
 - króm humát (K+ króm-humát; krómtartalom: 0,4 mg/kg; a humát-tart. 0,4%-ra korrigálva),
 - szervetlen bór (K+H₃BO₃; bórtartalom: 5 mg/kg)
 - bór-fulvát (K+ bór fulvát; bórtalom: 5 mg/kg; a fulvát-tartalom 0,4%-ra korrigálva)
 - bór-humát (K+ bór humát; bórtalomra 5 mg/kg; a humát-tartalom 0,4%-ra korrigálva)
- Vizsgált paraméterek:
 - Gazdasági paraméterek (takarmányfogyasztás, testsúly, takarmányhasznosulás)
 - Antioxidáns státusz (FRAP)
 - Májkárosító hatás (AST, ALP)
 - Immunválasz (ovalbuminnal szemben termelt ellenanyag titer)
 - A csont hamu-, makro- és mikroelem-tartalma

3. kísérlet A vanádium hatásának vizsgálata

- A kísérletek célja az volt, hogy megállapítsuk a szerves és szervetlen kötésben lévő vanádium hatása mennyiben hasonló vagy eltérő.
- Kezelések:
 - kontroll táp (K),
 - fulvát táp (K+ fulvát 0,4%),
 - humát táp (K+ humát 0,4%) ,
 - Vanádium 5 mg/kg (K+ammónium-vanadát, V-tartalom 5 mg/kg;)
 - Vanádium 25 mg/kg (K+ammónium-vanadát, V-tartalom 25 mg/kg;)
 - Vanádium fulvát-5 (K+ V-fulvát; V-tartalom 5 mg/kg; a fulvát-tartalom 0,4%-ra korrigálva),
 - Vanádium humát-5 (K+ V-humát; V-tartalom 5 mg/kg; a humát-tart.0,4%-ra korrigálva),
 - Vanádium fulvát-25 (K+V-fulvát; V-tart. 25 mg/kg mg/kg; a fulvát-tart. 0,4%-ra korrigálva),
 - Vanádium humát-25 (K+ V-humát; V-tartalom 25 mg/kg; a humát-tart.0,4%-ra korrigálva).
- Vizsgált paraméterek:
 - Gazdasági paraméterek (takarmányfogyasztás, testsúly, takarmányhasznosulás)
 - Vércukorszint változása
 - Immunválasz (ovalbuminnal szemben termelt ellenanyag titer)
 - A csont hamu-, makro- és és mikroelem-tartalma

Alkalmazott módszerek

Antioxidáns rendszer vizsgálata (FRAP)

- A vérplazma antioxidáns kapacitását a plazma vasredukáló képességének spektrofotometriás mérésével (FRAP-módszer, *Benzie és Strain, 1996*) határoztuk meg.

A máj állapotának vizsgálata (AST, ALT):

- A minták AST és ALT aktivitásának meghatározásához a Diagnoszticum Rt. 41001 illetve 41101-es reagenskészletét használtuk.

Pajzsmirigy hormonok vizsgálata (TSH, T₄, T₃)

- A patkányplazma T₄ szintjének meghatározása az Izotóp Intézet által eredetileg humán használatra kifejlesztett, majd patkányra módosított és validált ¹²⁵I-T₄ coted-spec, -RIA kittel míg a T₃ szint meghatározás a ¹²⁵I-3 coted-spec, -RIA kittel történt.

- A vérplazma rTSH szintjét az Izotóp Intézet Kft végezte radioimmunoassay módszerrel.

Emésztőenzimek aktivitásának vizsgálata (amiláz, lipáz, tripszin)

- Az amiláz-, lipáz- és tripszin-aktivitást az intézetünkben kifejlesztett módszerek szerint határoztuk meg (*Szabó és mtsai, 1981*).

Immunválasz

- Az immunológiai paraméterek vizsgálatát az MGSZH Állategészségügyi és Diagnosztikai Igazgatóságának Immunológiai osztályán végeztük ELISA módszerrel.
- Az értékelés Multiskan MS Primary EIA V. 1.8-0 berendezéssel és szoftverrel 450nm-en történt.

Ásványi anyag meghatározás (makro és mikroelemek)

- A minták oldatbavitelét MILESTONE MWD 1200 MLS típusú készüléken mikrohullámú roncsolással végeztük. 2. Makroelem- és mikroelem-koncentráció meghatározása
- Az előkészített mintaoldatok kalcium-, nátrium-, kálium-, magnézium-, réz-, mangán-, vas-, és cinkkoncentrációját, illetve a máj- és veseminták réz-, mangán-, vas-, és cinkkoncentrációját, valamint a vastagbél-tartalom réz-, mangán-, vas-, cink-, nátrium- és káliumkoncentrációját Carl Zeiss Jena AAS3 típusú atomabszorpciós spektrométerrel határoztuk meg.

Bélfóra összetétel (vastagbél-tartalomból)

A béltartalmat aseptikus körülmények között homogenizáltuk, majd az ISO 6887-1:1999. szabványban rögzítettek szerint hígítottuk. A decimális hígítási sorokká alakított bélsárminta szuszpenziókból a tejsavtermelő mikrobák grammonkénti telepkepző számát (colony forming unit, CFU) az MSZ ISO 15214, a szulfitredukáló anaerobokét (clostridiumok) és a coliform baktériumokét az MSZ 6977-87 szabvány szerint határoztuk meg.

A baktericid hatás *in vitro* vizsgálata

A baktericid hatást négyféle indikátor mikrobbal (*Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* és *Bacillus subtilis*); kétféle módon mértük.

- A **tápleves hígítási módszerrel** a megfelelő tápleveseket a fulvosav és huminsav növekvő mennyiségével egészítettük ki, majd beoltottuk az adott baktériummal. A növekedés mértékét 24 órás, 37 °C-on történő inkubáció után a termelt tejsav titrálásával, illetve a zavarosság mérésével értékeltük
- A **korongdiffúziós módszerrel** a még folyékony tápközeghez adtuk a baktérium-szuszenziót és lemezöntést végeztünk. A megszilárdult agarra a tesztanyagok telített oldatával átitatott szűrőpapírt, illetve közvetlenül a szilárd tesztanyagok kis mennyiségét helyeztük. A gátlóhatás mértékét a szűrőpapír-korong, illetve a szilárd anyagrészek körül kialakuló gátlási udvar átmérőjével jellemeztük.

4. A fulvosav és a huminsav hatásának vizsgálata dóziszgörbével. Eredmények és következtetések

Legfontosabb termelési mutatók (takarmányfogyasztás, súlygyarapodás, takarmány-értékesülés)

1. Táblázat

A tápok humin- és fulvosav kiegészítésének hatása a patkányok takarmányfelvételére, súlygyarapodására és takarmány-értékesítésére

	Takarmányfogyasztás (g/100g testsúly/nap)									
	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8	
Átlag	18,15	17,32	17,93	16,63	16,68	17,37	18,09	18,51	18,64	
Szórás	2,49	2,00	1,52	1,21	1,47	1,21	1,87	1,18	2,57	
(%)	100	95,45	98,81	91,62	91,91	95,75	99,72	102,00	102,73	
	Súlygyarapodás (g/100g testsúly/nap)									
	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8	
Átlag	6,07	5,57	6,01	5,53	5,08	5,43	6,14	6,30	6,15	
Szórás	1,30	1,09	0,84	0,80	0,58	0,91	1,09	0,79	1,36	
(%)	100	91,84	99,09	91,14	83,62	89,51	101,08	103,76	101,32	
	Takarmány-hasznosítás (gtakarmány/g súlygyarapodás)									
	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8	
Átlag	3,04	3,16	3,01	3,04	3,31	3,24	3,00	2,96	3,08	
Szórás	0,32	0,38	0,28	0,38	0,31	0,32	0,37	0,25	0,29	

A kísérleti adatokból levonható következtetések:

- Optimális körülmények között tartott állatokban a fulvát, illetve a humát etetése nem idézett elő szignifikáns eltérést a kontroll állatokhoz képest a takarmányfogyasztásban, a súlygyarapodásban és a fajlagos takarmányhasznosításban. Ez azonban nem zárja ki, hogy rossz körülmények között, stresszelt állatokban nincs hozamnövelő hatás. Ennek meghatározása további vizsgálatokat igényel.
- A fulvát dózisa szignifikáns negatív korrelációban volt a takarmányfelvétellel és a súlygyarapodással és pozitív korrelációban a takarmányhasznosítással. Ez éppen ellentétes változás azzal, ami a hozamfokozáshoz kellene.
- Ezzel homlokegyenest ellenkező képet mutatott a humát, ahol a dózis pozitív korrelációban volt a takarmányfogyasztással ($r=0,710$) és nem szignifikáns szinten a súlygyarapodással.
- A kísérlet adatai alapján megállapíthatjuk, hogy a fulvát és a humát ellentétes irányba befolyásolja az állatok étvágyát, súlygyarapodását és takarmányhasznosítását. Optimális körülmények között tartott állatok esetében nem fejt ki hozamnövelő hatást. A fulvát és a humát ellentétes irányú hatása részben magyarázat lehet a huminanyagokkal (nem tiszta készítmények) végzett kísérletek gyakran ellentmondó eredményére.

Antioxidáns státusz (FRAP) és a májenzimek (AST, ALP)

A 2. táblázat adataiból kiderül, hogy sem a fulvosav, sem a huminsav nem változtatta meg statisztikailag szignifikáns mértékben a patkányok antioxidáns státuszát. A kapott értékek a klinikailag normális tartományban helyezkedtek el. Nincs szignifikáns korreláció a fulvát, illetve a humát dózisa és a plazma össz-antioxidáns kapacitása között.

2. Táblázat

A tápok humin- és fulvosav kiegészítésének hatása a patkányok antioxidáns státuszára

	FRAP ($\mu\text{mol/l}$)									
	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8	
Átlag	819,25	969,50	914,50	968,13	909,13	757,63	991,25	1050,25	850,00	
Szórás	365,31	482,94	353,75	292,96	435,84	301,12	381,57	360,16	290,45	

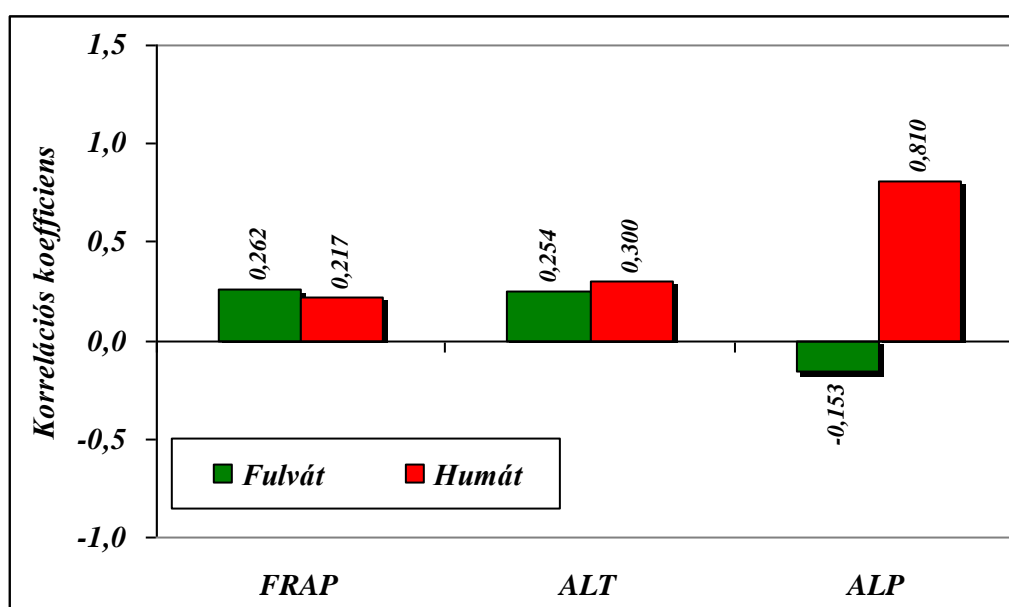
3. Táblázat

A tápok humin- és fulvosav kiegészítésének hatása a plazma AST és ALP aktivitására

	ALT (U/l)									
Átlag	189,00	212,25	210,38	196,50	207,50	179,13	199,88	210,25	191,88	
Szórás	63,20	80,42	65,47	45,96	69,94	45,63	62,67	89,66	73,54	
	ALP (U/l)									
Átlag	1219,88	1406,50	1393,00	1401,50	1258,25	1137,63	1278,50	1509,75	1470,63	
Szórás	332,13	514,29	587,14	353,24	264,38	449,60	173,07	547,82	404,37	

Az adatokból megállapítható hogy a plazma AST és ALP aktivitása

- Nem tér el a kontroll értéktől sem a fulvát, sem a humát hatására.
- Nincs korreláció a fulvát dózisa, az AST és az ALP aktivitása között.
- A humát dózisa és a plazma alkalikus foszfatáz értéke viszont szignifikáns korrelációban (1. ábra) van egymással. Ez az összefüggés bizonyos fokú óvatosságra int nagyobb humátdózisok alkalmazása esetén, annak ellenére, hogy az ALP értéke még a legnagyobb humát dózis esetében sem haladta meg a klinikailag normálisnak tartott értéktartomány határát.



1. ábra

A fulvát és humát dózisának összefüggése az antioxidáns kapacitással és a májenzimek aktivitásával

Következtetés: A fulvátnak és a humátnek az alkalmazott dózisokban nincs májkárosító hatása.

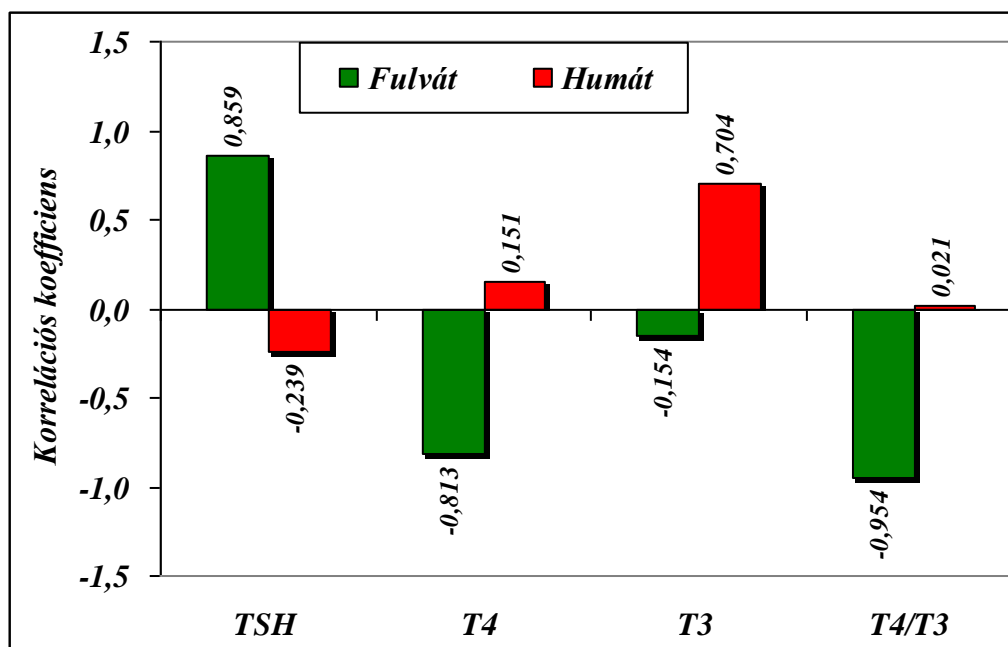
Pajzsmirigy működés (TSH, T₃, T₄, T₄/T₃).

4. Táblázat

A tápok fulvát és humát kiegészítésének hatása a plazma TSH, T₄, T₃ koncentrációjára, valamint a T₄/T₃ hányadosra

	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8	
TSH (ng/ml)										
Átlag	4,09	4,75	5,79	5,50	6,32	5,50	5,19	3,33	4,50	
Szórás	1,24	1,75	2,04	1,05	2,93	2,26	1,44	0,92	2,11	
T ₄ (nmol/l)										
Átlag	80,88	79,68	83,58	68,44	68,72	72,39	92,49	92,06	80,83	
Szórás	15,56	16,36	15,26	14,60	17,49	13,41	18,44	9,36	15,46	

	T3 (nmol/l)									
Átlag	2,18	2,12	2,39	2,05	2,17	2,18	2,36	2,34	2,35	
Szórás	0,27	0,22	0,26	0,25	0,13	0,37	0,53	0,33	0,47	
	T4/T3									
Átlag	37,06	37,53	35,06	33,62	31,65	33,40	39,83	39,75	35,76	
Szórás	5,43	5,40	5,75	7,37	7,94	4,99	6,98	5,82	10,24	



2. ábra

A fulvát és humát dózisának összefüggése a pajzsmirigy hormonok plazmakoncentrációjával

Következtetések

- Egyik vizsgált paraméter (TSH, T₃, T₄) esetében sem okozott a tápok fulvátal, illetve humáttal való kiegészítése statisztikailag szignifikáns eltérést a kontrollcsoporthoz képest, és az adatok a klinikailag normálisnak tartott zónában voltak.
- A fulvát dózisa szoros pozitív korrelációban volt a plazma TSH koncentrációjával ($r=0,859$), negatív korrelációban volt a plazma T₄ koncentrációjával ($r=-0,813$), a legszorosabb negatív korrelációban a T₄/T₃ hányadossal ($r=-0,954$). A humát dózisa nem volt szignifikáns hatással sem a TSH-ra, sem a T₄-re, sem a T₃-ra.
- Az adatok arra utalnak, hogy a humin anyagok hypothyreoid hatásáért a fulvát a felelős.
- A kísérleti adataink alapján megállapíthatjuk, hogy nem jódiányos állatokban az általunk alkalmazott fulvát, illetve humát dózis nem fejtett ki klinikailag kimutatható káros hatást.

Emésztőenzim aktivitás

A huminanyagok esetleges hozamnövelő hatásának egyik magyarázata az lehetne, hogy javítják az emésztőenzimek aktivitását, illetve ezzel éppen ellentétben, érdemes megvizsgálni, hogy nincs-e káros befolyásuk az emésztő folyamatokra. Az emésztőenzimek aktivitását (amiláz, lipáz, tripszin) a pankreász homogenizátumában és a vékonybél tartalomban mértük. Az eredményeket az 5. táblázat ismerteti. A statisztikai analízis eredményét a 3. ábra foglalja össze.

5. Táblázat

A tápok fulvát és humátkiegészítésének hatása az emésztőenzimek aktivitására

	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8
Pankreász homogenizátum amiláz (mE/mg fehérje)									
Átlag	1,76	1,10	1,85	0,93	1,84	1,11	1,11	1,40	1,14
Szórás	1,35	0,33	1,68	0,39	1,17	0,78	0,64	0,92	0,71
Béltartalom amiláz (mE/mg fehérje)									
Átlag	1,46	2,44	3,40	1,64	3,36	2,14	2,59	2,03	5,62
Szórás	1,47	1,79	5,36	1,50	2,97	2,15	2,17	2,99	6,56
Pankreász homogenizátum lipáz (mU/mg fehérje)									
Átlag	59,45	56,05	64,81	63,83	62,02	70,10	60,96	56,24	73,16
Szórás	8,02	14,16	11,10	12,54	15,73	13,88	17,80	8,41	20,24
Béltartalom lipáz aktivitás (mU/mg protein)									
	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8
Átlag	126,83	147,90	117,05	101,09	111,30	120,47	81,59	108,00	83,73
Szórás	54,65	65,24	46,71	36,25	34,95	25,37	10,19	56,74	40,19
Pankreász homogenizátum tripszin aktivitás (mE/mg fehérje)									
Átlag	198,06	219,12	197,34	205,85	235,81	232,35	196,94	196,61	227,79
Szórás	25,25	59,94	49,96	54,09	85,38	82,94	50,35	32,29	91,73
Béltartalom tripszin aktivitás (mE/mg fehérje)									
Átlag	135,63	193,11	192,21	127,61	130,97	139,00	117,42	142,81	121,32
Szórás	51,11	179,08	93,47	56,66	40,71	56,87	57,46	62,60	24,65

Következtetések

- A fulvát és a humát egyik vizsgált dózisa sem okozott statisztikailag szignifikáns eltérést a kontrollértékektől a vizsgált három enzim (amiláz, lipáz, tripszin) esetében sem a béltartalomban, sem a pankreász-homogenizátumban.
- A fulvát dózisa és az enzimaktivitás változás között említésre méltó szintű korrelációt csak a pankreász-homogenizátum tripszinaktivitása esetében láttunk ($r=0,753$). Ennek magyarázata további vizsgálatot igényel, jelen kísérlet adatai nem adnak mélyebb betekintést az összefüggés magyarázatába.
- A humát dózisének változása nagyon szoros pozitív viszonyban ($r=0,908$) volt a vékonybél-tartalom amilázaktivitásával.
- Az amiláz esetében ez a hatás valószínűleg indirekt. Ezt erősíti a korrelációanalízis további tanulmányozása is. A béltartalom amilázaktivitása negatív korrelációban van a béltartalom réz és cink tartalmával. E két nehézfém szintén negatív viszonyban van a humát dózisével, de egymással pozitív korrelációban vannak.

Immunválasz

A huminanyagok immunstimulációs hatását általános közhelyként emlegetik, de igazán megbízható kísérletet nem láttunk arra nézve, hogy melyik frakció felelős ezért a hatásért.

6. Táblázat

Fulvát és humát hatása az immunválasz képességre									
	Kontroll	F-0,1	F-0,2	F-0,4	F-0,8	H-0,1	H-0,2	H-0,4	H-0,8
Ovalbumin elleni antitest titer (2-es alapú logaritmus)									
Átlag	12,93	13,52	13,50	15,14*	14,39	14,22	14,14	14,77	13,27
Szórás	1,50	1,13	1,86	1,31	1,16	1,81	1,41	1,36	2,00
Az immuntiter relatív változása a mértani középértékek alapján számítva (%)									
Átlag	100	150	116	464*	276	244	232	358	127

* A kontrollhoz viszonyítva szignifikáns változás $P < 0,05$

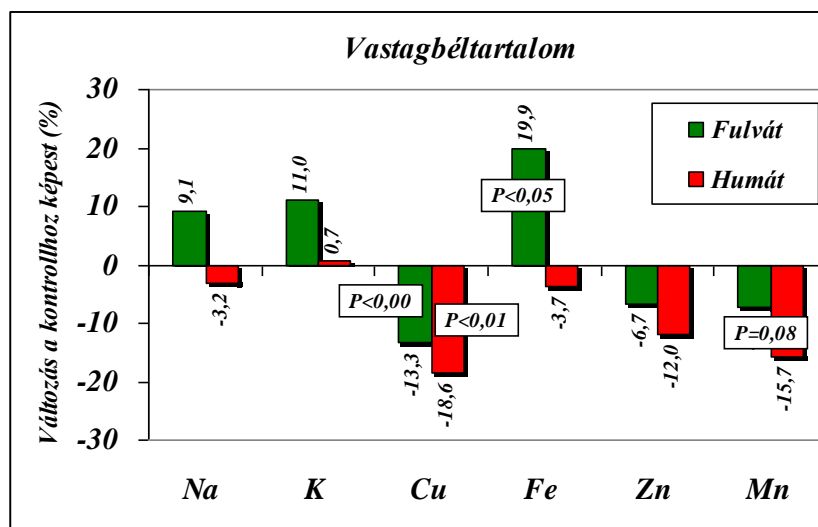
Következtetések:

- Mind a fulvátal, mind a humátal kiegészített tápok serkentették az immunválaszt.
- A 0,4% fulvosavat tartalmazó táp esetében ez az antitest titer emelkedés (464%) statisztikailag szignifikáns volt ($P=0,034$).
- A fulvát dózisa és az antitest-titer között korreláció ($r=0,706$) volt kimutatható.

A hatásmechanizmus felderítése érdekében hisztometriai vizsgálatot végeztünk az állatok vékonybél-nyálkahártyáján, valamint a lép lymphoid-sejtes zónáin. A huminsavval, illetve fulvosavval kiegészített táppal etetett patkányok csipőbelében a metszési sík függvényében is fellelhető limfoid folliculusok (Payer-plaque-ok) hiperpláziája lényegesen nagyobb (800-900 μm) volt, mint a kontrollcsoportban (300-400 μm). A huminsavval és a fulvosavval kezelt patkányok lépében a marginális („B”-dependens) lymphoblastokból felépülő lymphoid sejtzóna átlagos vastagsága megkétszereződött (151-200 μm -re növekedett) a kontroll 100-150 μm -es méretéhez képest. A kontrollokkal ellentétben centrum germinatívumokat lehetett felismerni a kezelt állatokban. A periarteriolaris („T”-dependens), kis lymphocytákból felépülő zóna (100-150 μm közötti vastagságú) azonos volt a kísérleti és a kontroll állatokban. A hisztometriai eredmények alapján megerősíthetjük, hogy a fulvosav és a huminsav kifejezetten immunstimuláns hatású.

Vastagbél-tartalom és egyes szervek mikroelem koncentrációja (máj, vese, csont, szőr)

Mivel a mikroelemek felszívódásának direkt mérése messze meghaladta a pályázatban vállalt feladatok körét, a fulvát és a humát hatását a mikroelemek felszívódására indirekt módon próbáltuk követni. Meghatároztuk a vastagbél-tartalomban és néhány szervben a mikroelemek koncentrációját, a patkányokban. Kiszámoltuk az egyes kezelési csoportok közötti különbségek szignifikanciáját, valamint a fulvát/humát dózisa és a vizsgált elemek koncentrációváltozása közötti korrelációt. A vizsgált mikroelemek szervezetben belüli homeosztázisának szabályozása a felszívódás szintjén történik. Meghatároztuk, a nátrium és a kálium koncentrációját is a bél-tartalomban, melyek szervezetben belüli homeosztázisa nem a felszívódás (bélcsatorna), hanem a kiválasztás (vese) szintjén szabályozott. Így a vastagbél-tartalomban mérhető makro-, illetve mikroelem koncentráció leginkább a vastagbélben folyó felszívó és kiválasztó aktív transzport folyamatok aktuális egyensúlyát tükrözik. Annak eldöntésére, hogy egyáltalán van-e valamilyen hatása a fulvátnak, illetve a humátnek, a különböző koncentrációban fulvátot, illetve humátot tartalmazó táppal etetett patkányok adatait összevontuk, és így a statisztikai analízishez jelentősen nagyobb adatszám állt rendelkezésünkre.

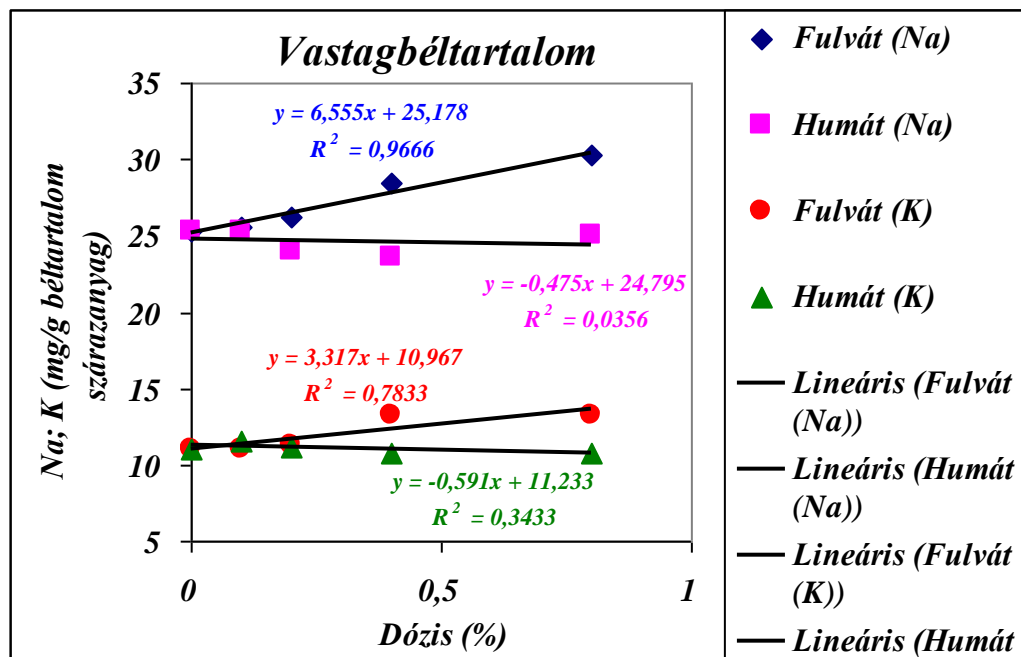


3. ábra

Fulvát és humát hatása a vastagbél-tartalom makro- és mikroelem tartalmára

Következtetések

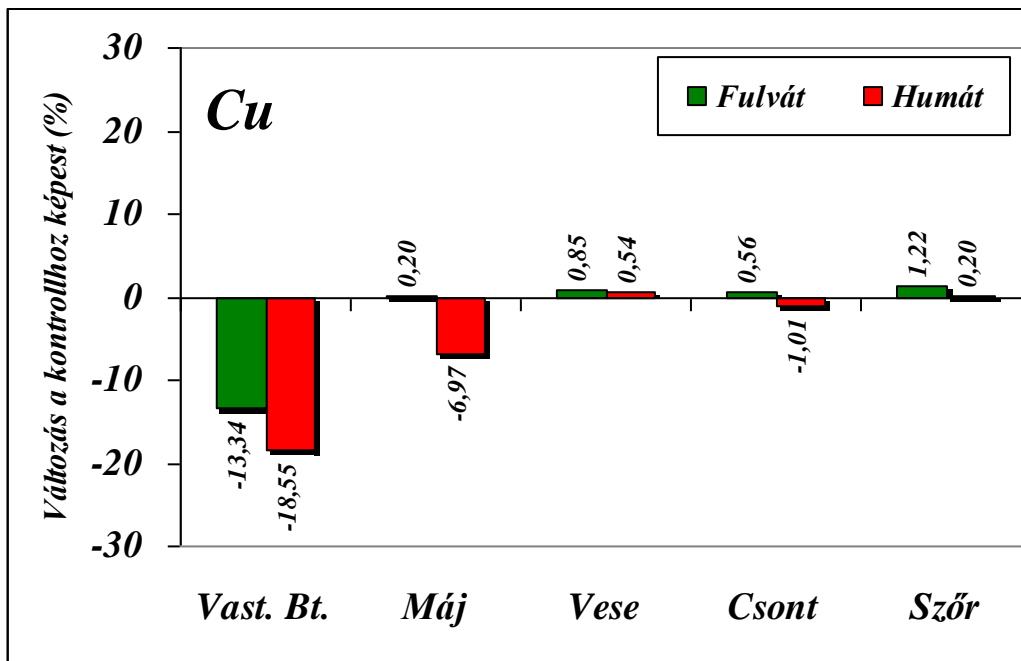
- A makroelemek közül a K koncentráció mutatott pozitív korrelációt a fulvát dóziséval.
- A vastagbélartalom Na és K koncentrációja szignifikánsan, dózistól függő módon nőtt a fulvát hatására. A humát-kiegészítés hatása ezzel ellentétes (4. ábra).
- Megállapítottuk, hogy a fulvát és a humát statisztikailag szignifikáns mértékben csökkentette a vastagbélartalom rézkoncentrációját (3. ábra).
- A fulvát szignifikánsan növelte a vastagbélartalom vaskoncentrációját, a humát nem befolyásolta a bélartalomban a vaskoncentrációt (3. ábra).
- A humát szignifikáns mértékben csökkentette a vastagbélartalom Mn koncentrációját (3. ábra).



4. ábra

Fulvát és humát hatása a vastagbélartalom Na és K koncentrációjára

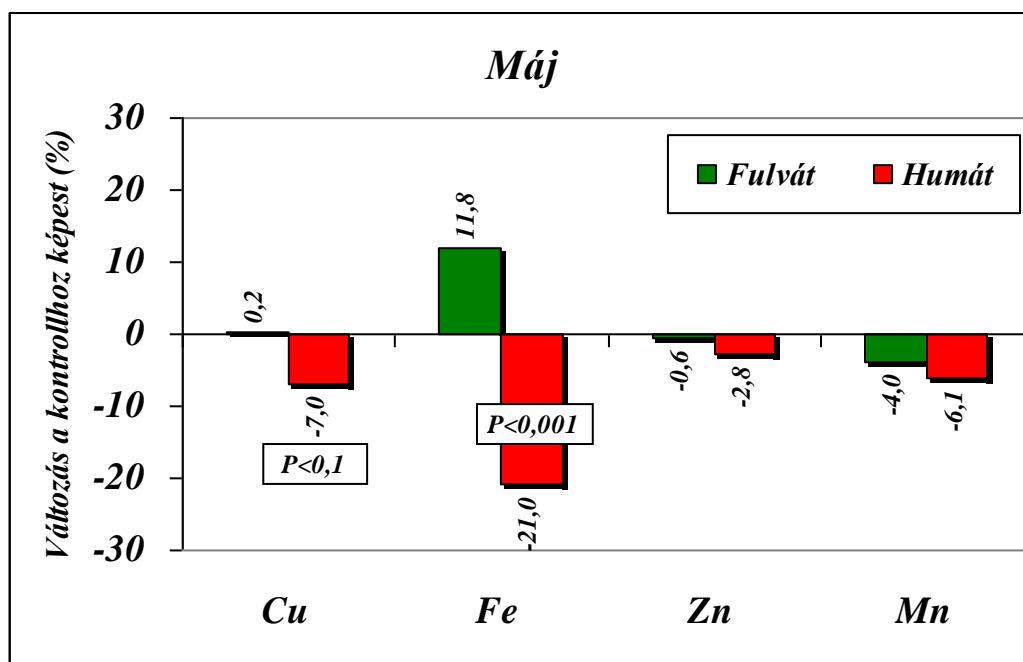
- A tápok fulvátal, illetve humáttal való kiegészítése 15-20%-kal javítja a réz felszívódását (5. ábra).
- A vizsgát szervek réztartalma nem különbözött a kontroll értéktől (5. ábra). Ez arra utal, hogy a felszívódott réz valószínűleg a vérben, az izomzatban van, illetve kiválasztódott a vizelettel.



5. ábra

Fulvát és humát hatása a vastagbél-tartalom, a máj, a vese a combcsont, és a szőr réztartalmára

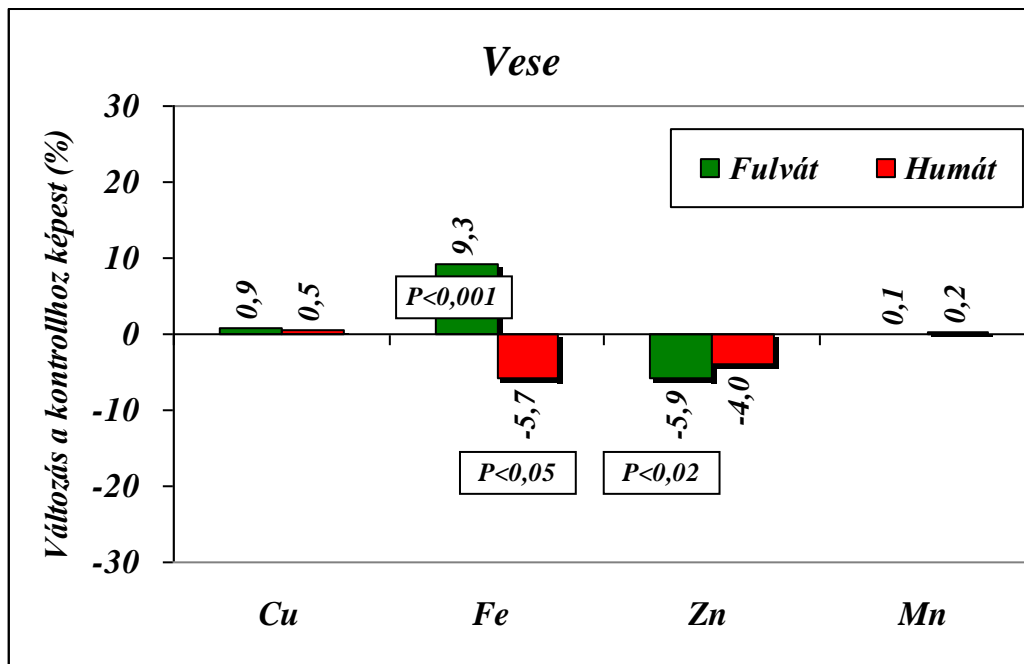
- A fulvát kismértékben, de nem szignifikáns szinten növelte a máj vastartalmát, de a Cu, Zn és Mn szintet a májban nem befolyásolta, a humát szignifikánsan csökkentette a réz- és a vas koncentrációt, de nem befolyásolta a Zn és a vas mennyiségét a májban (6. ábra).



6. ábra

Fulvát és humát hatása a máj mikroelem koncentrációjára

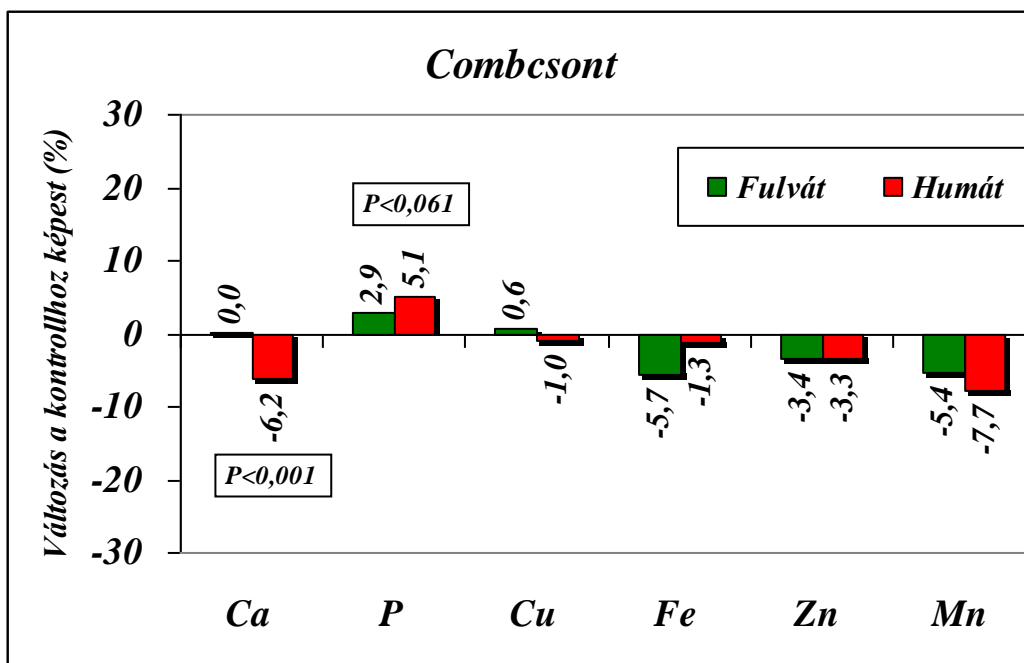
- A fulvát-etetés szignifikánsan növeli a vese vas- és csökkenti a cinktartalmát. A humát ezzel szemben szignifikánsan csökkenti a vese vastartalmát és kis mértékben a Zn-tartalmát (7. ábra).
- A vese Mn-tartalmára nem hatott sem a fulvát, sem a humát etetés (7. ábra)



7. ábra

Fulvát és humát hatása a vesemikroelem koncentrációjára

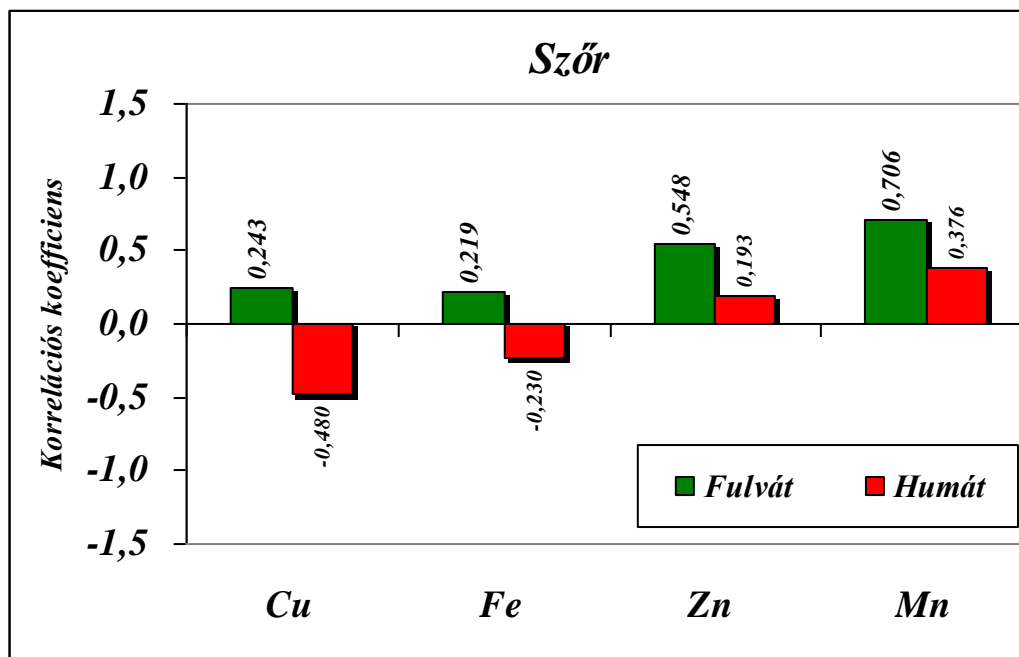
- A combcsont Ca tartalma szignifikánsan csökkent (-6,2%), P tartalma pedig nőtt (+5,1%) humátetetés hatására (8. ábra). A fulvát nem befolyásolta szignifikáns mértékben a combcsont ásványanyag tartalmát.



8. ábra

Fulvát- és humátetetés hatása a combcsont makro- és mikroelem tartalmára

- A korrelációs analízis felhívja a figyelmet arra, hogy bár a mért változás nagyon kicsi, a fulvát dózisa szoros negatív korrelációban van a combesont Zn- és Mn-tartalmával. Ezt a körülményt tartós fulvátfogyasztás esetén számításba kell venni.
- A szőr analízisekor, hogy elegendő mintához jussunk az elemek meghatározásához csoportonként egyesítettük a begyűjtött mintát. Ezért a csoportok közötti különbség megítéléséhez statisztikai analízis nem készült, az ábrán szereplő adatok nyolc állat átlagát reprezentálják.
- Mind a fulvát, mind a humát etetése jelentősen megnövelte a szőr Mn tartalmát. A korrelációs analízis is azt mutatja, hogy a fulvát dózisa és a szőr Mn tartalma között szignifikáns pozitív összefüggés van (9. ábra).



9. ábra
Fulvát- és humátetetés hatása a szőr mikroelem koncentrációjára

Összefoglalva megállapítható, hogy a fulvát és humát jelentősen befolyásolhatja a mikroelemek forgalmát a szervezetben. Hatásuk nem azonos, esetenként egymással ellentétes irányú is lehet.

5. Szervetlen és szerves (fulvát és humát) kötésben lévő króm és bór hatásának vizsgálata

Ebben a kísérletben a fulvát és humátkiegészítés 0,4% volt, mert az előző kísérletben ez a koncentráció bizonyult a leghatékonyabbnak.

A krómkiegészítést 0,4 mg/kg takarmány, a bórkiegészítést pedig 5 mg/kg takarmánykoncentrációban alkalmaztuk. A króm- és bórfulvátot/humátot a Biopol Kft. (Veszprém) állította elő és bocsátotta rendelkezésünkre, a kísérlet céljára.

Eredmények és következtetések

Legfontosabb termelési mutatók (takarmányfogyasztás, súlygyarapodás, takarmányértékesülés)

7. Táblázat

Szervetlen és szerves kötésű króm és bór hatása a gazdaságossági paraméterekre

	Takarmányfogyasztás (g/100g testsúly/nap)		Súlygyarapodás		Takarmányhasznosítás (g tak./g súlygyarapodás)	
	Átlag	Szórás	Átlag	Szórás	Átlag	Szórás
Kontroll	18,04	1,93	6,82	0,81	2,65	0,18
Fulvát	17,83	1,77	6,66	0,48	2,68	0,17
Humát	17,76	0,86	6,66	0,71	2,69	0,28
CrCl ₃	18,49	2,62	6,98	0,78	2,65	0,19
Cr-fulvát	17,71	1,08	7,05	0,70	2,53	0,26
Cr-humát	18,69	3,02	7,35	1,44	2,56	0,15
Bórsav	18,24	1,85	6,96	1,01	2,64	0,25
Bórfulvát	18,35	1,64	7,10	0,65	2,59	0,18
Bórhumát	17,51	1,12	6,46	0,92	2,76	0,41

- A 7. táblázat adatainak statisztikai értékelése alapján megállapíthatjuk, hogy sem a króm, sem a bór nem befolyásolta szignifikáns mértékben a takarmányfelvételt, a súlygyarapodást és a takarmányhasznosulást.
- Bizonyos tendenciaszerű változásokat azonban nem szabad figyelmen kívül hagyni. Fontosnak tartjuk e tendenciák a megállapítását, mert nagyobb állatlétszámmal végzett kísérletekben ezeket a hatásokat statisztikailag is igazolhatónak tartjuk.
 - A szervetlen króm a kontrollhoz képest 2,5%-kal javította a takarmányfelvételt és a súlygyarapodást is, de nem változtatta meg a takarmányhasznosulást. Ez a tendencia teljesen egybeesik az irodalomban a króm hatásáról közölt adatokkal.
 - A fulvát és a humát, amint az általában várható az immunstimuláns hatású anyagoktól, csökkentette mind a takarmányfelvételt (-1,15; -1,57%), mind a súlygyarapodást (-2,330; 2,35%) és kis mértékben rontotta a takarmányhasznosulást (0,84; 1,34%)
 - A Cr-fulvát 1,82%-kal csökkentette a takarmányfogyasztást, 3,6%-kal javította a súlygyarapodást, aminek eredményeként a takarmányhasznosulás is javult 4,6%-kal
 - A Cr-humát javította az étvágyat (3,6%) és a súlygyarapodást (7,83%), aminek eredményeként 3,6%-kal csökkent a fajlagos takarmányfelhasználás
 - A bór szervetlen formában hasonlóan a krómhoz javította az étvágyat (1,13%) és a súlygyarapodást (2,02%), de nem befolyásolta a takarmányértékesítést. Ez egybeesik a bórgliceráttal végzett korábbi kísérleteink során nyert tapasztalatainkkal.
 - A bórfulvát javította az étvágyat (1,7%) és a súlygyarapodást (4,07%), aminek eredményeként a fajlagos takarmányhasznosulás is javult 2,34%-kal
 - A bórhumát rontotta a takarmányfelvételt (-2,93%), a súlygyarapodást (-5,31%) és a 3,95%-kal a fajlagos takarmányhasznosulást is

- Mindezek alapján megállapíthatjuk, hogy a szerves formában lévő króm (Cr-fulvát, Cr-humát) hatékonyabb a szerves krómnál.
- A fulvát kötésben lévő bór is hatékonyabb a szerves bórnál.
- Megállapíthatjuk, hogy bór-humát kifejezetten rontotta a vizsgált paramétereket.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a Cr-fulvát, illetve a Cr-humát jobb hatású az azonos mennyiségben adagolt szerves krómnál. A bórfulvát is jobb eredményt adott a szerves bórnál. Ezek a tendenciák megerősítik az előzetes várakozásunkat. Úgy véljük, hogy gazdasági körülmények között, ahol lényegesen több stressz éri az állatokat, a Cr-fulvát és humát, valamint a bórfulvát hasznos takarmány-kiegészítő lehet.

Antioxidáns státusz (FRAP) és májenzimek (AST, ALP)

8 Táblázat

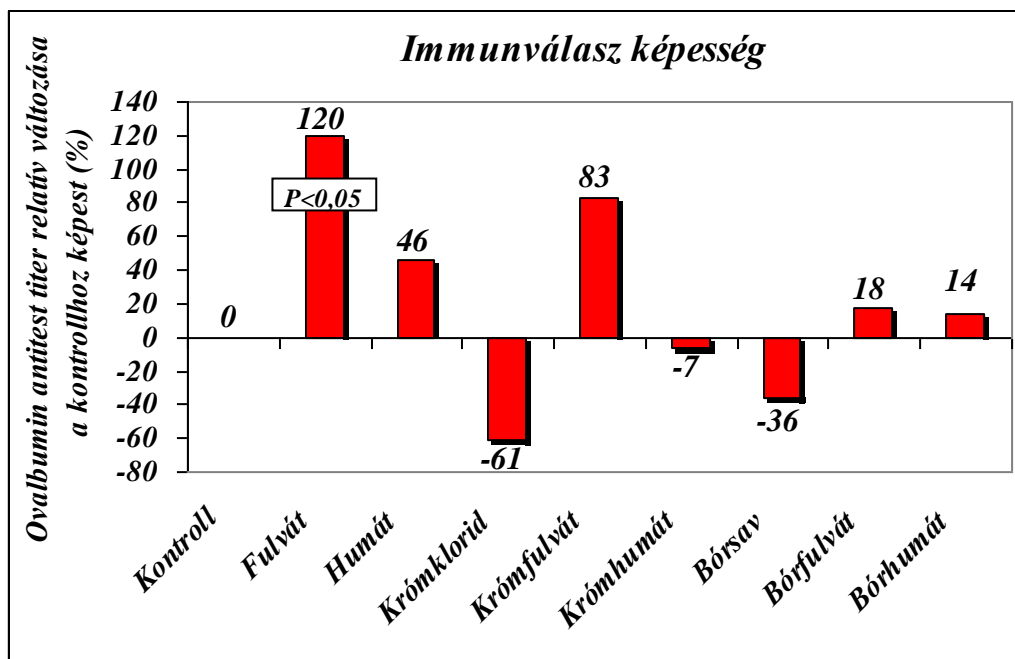
	FRAP ($\mu\text{mol/l}$)		ALP (U/l)		ALT (U/l)	
	Átlag	Szórás	Átlag	Szórás	Átlag	Szórás
Kontroll	1598	631	640,0	862,8	50,8	14,8
Fulvát	1450	408	929,0	273,3	54,4	11,6
Humát	1487	339	814,0	332,4	48,4	10,9
CrCl ₃	1430	597	965,0	450,5	50,8	18,0
Cr-fulvát	1494	442	840,7	278,2	48,0	10,9
Cr-humát	1359	478	831,0	374,7	53,6	10,9
Bórsav	1617	521	846,7	381,9	50,0	11,0
Bórfulvát	1362	387	866,0	207,9	53,2	9,3
Bórhumát	1517	463	696,7	227,2	51,2	15,3

A 8. táblázat adatai alapján megállapíthatjuk, hogy egyik kísérleti anyag sem befolyásolta lényegesen a szervezet antioxidáns kapacitását és nem volt májkárosító hatása sem a szerves, sem a szerves kötésben lévő króm-, illetve bórvegyületnek.

Immunválasz

A 10. ábra adatai alapján megállapíthatjuk, hogy:

- Hasonlóan az első kísérletben kapott eredményhez, a takarmány kiegészítése fulváttal, statisztikailag szignifikáns mértékben javította az ovalbuminnal szembeni immunválaszt
- A fulvát kiegészítés is növelte az immunitert, de ez nem volt statisztikailag szignifikáns
- A takarmány szerves krómmal való kiegészítése (króm-klorid) 40%-kal csökkentette az immunválaszt. Ezzel ellentétben, a Cr-fulvát 83%-kal növelte az ovalbuminnal szemben adott ellenanyag szintet.
- A Cr-humát, a bórsav, a bórfulvát és bórhumát nem befolyásolta az immunválaszt.
- Mindezek alapján megállapíthatjuk, hogy a szerves krómmal ellentétben a Cr-fulvát nemcsak hozamnövelő, de immunstimuláns hatással is rendelkezhet. Ezt az eredményt azonban nagyobb állatlétszámmal végzett kísérletekben még meg kell erősíteni.



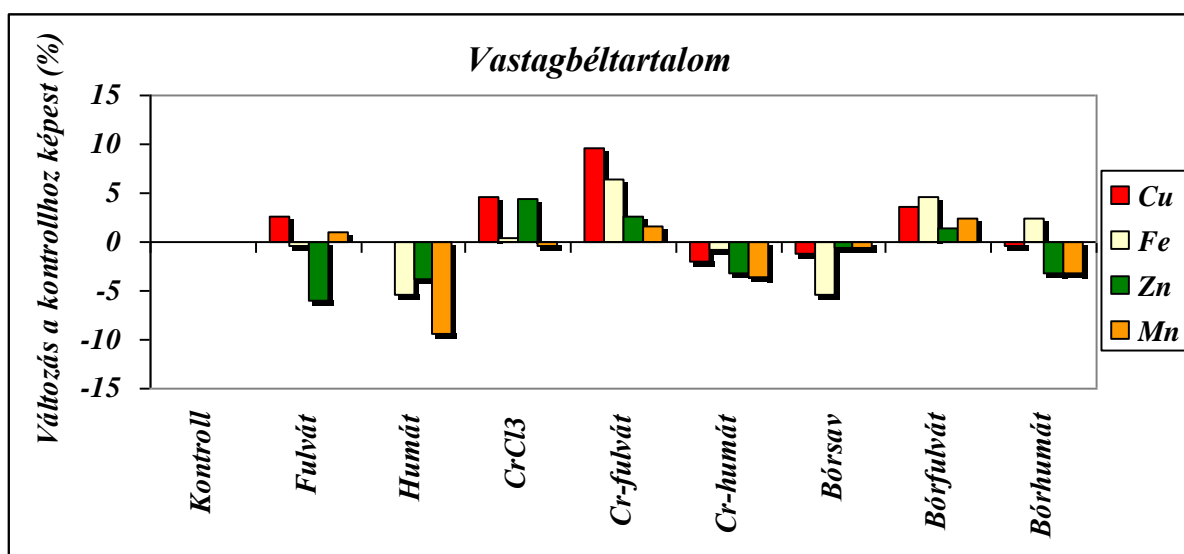
101. ábra

Szerves és szervetlen formában adagolt króm és bór hatása a patkányok immunválasz képességére

Vastagbél-tartalom és egyes szervek mikroelem-koncentrációja (máj, vese, csont, szőr)

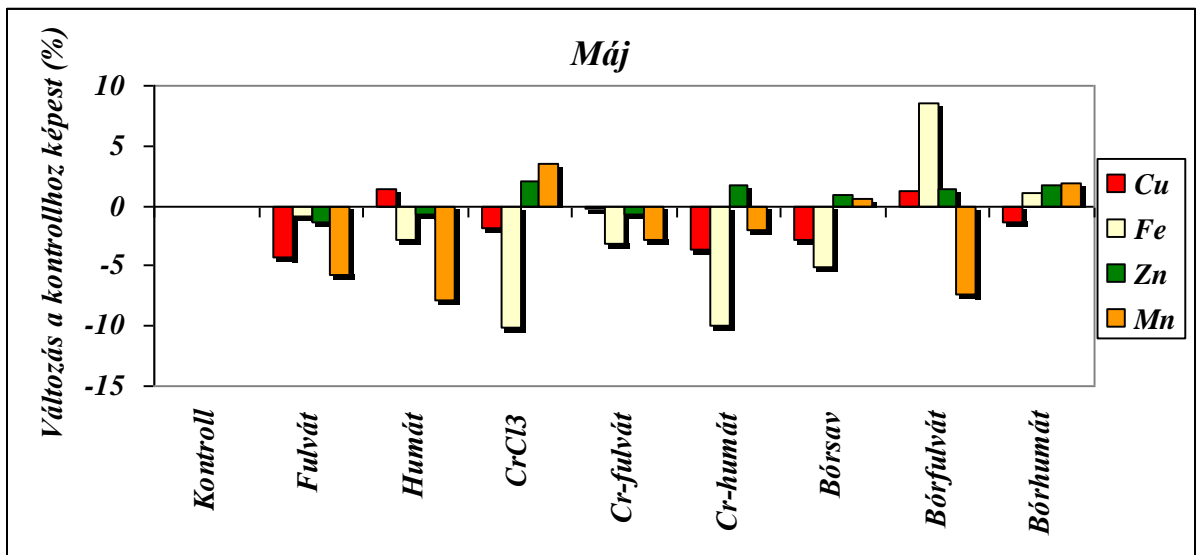
A kísérleti adatokat a 11-16. ábra foglalja össze.

- Az adatok statisztikai analizisével egyik vizsgált szervben, illetve a vastagbél-tartalomban sem tudtunk a kontrollhoz viszonyítva lényeges eltérést kimutatni.
- A fulvát és a humát esetében bizonyos tendenciák felismerhetők, de megbízható következtetések nem vonhatók le, illetve sokkal jobban látszottak az előző kísérletünkben, ahol a fulvát és humát dózisa és a mikroelem koncentráció változása közötti korreláció alapot adott az értékelésre.

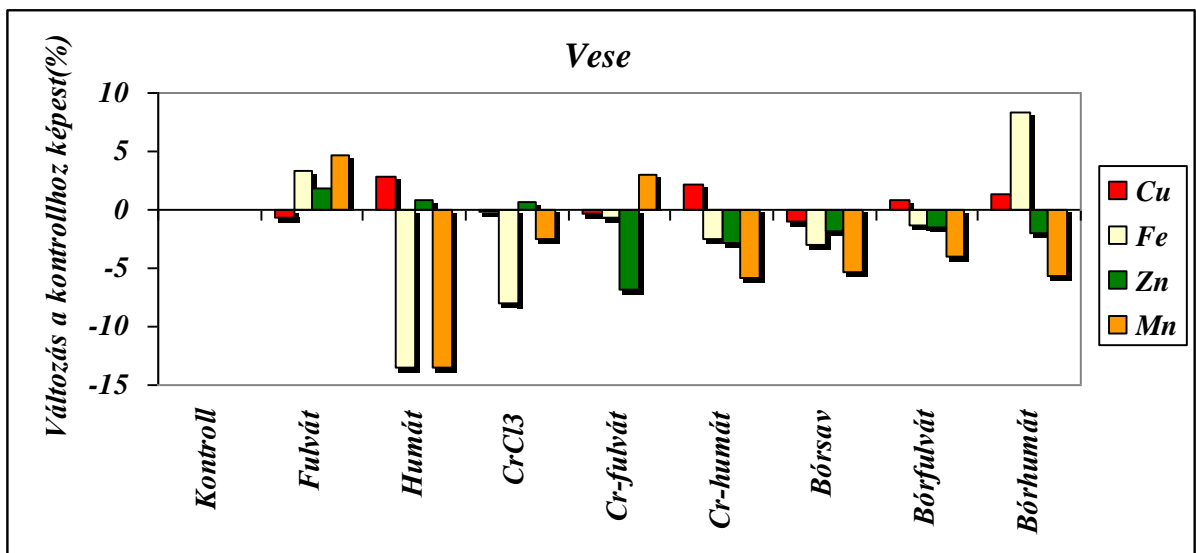


11. ábra

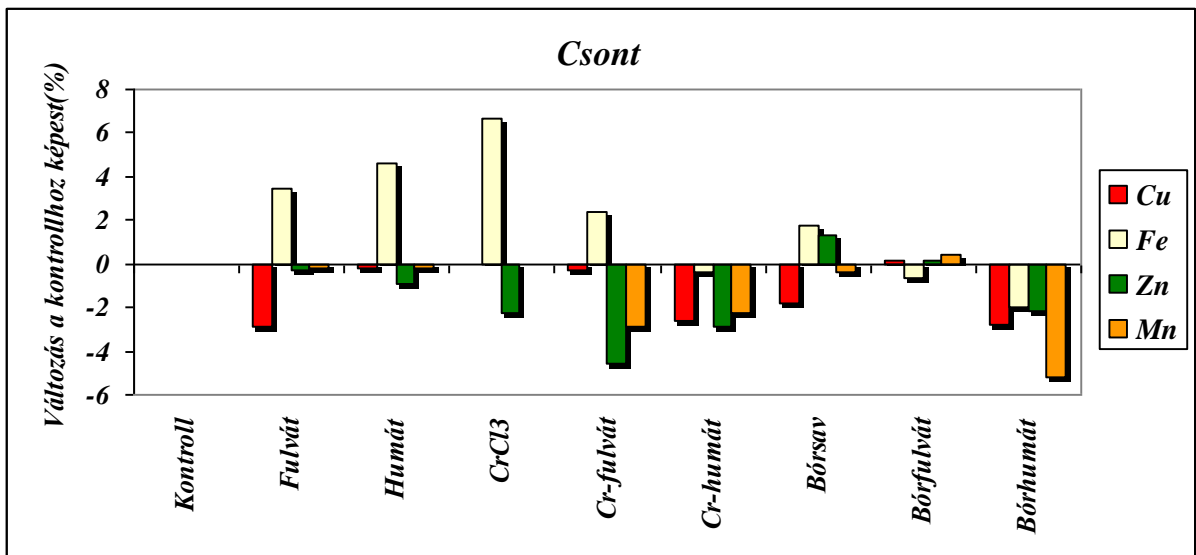
Szerves és szervetlen kötésben lévő króm és bór hatása a vastagbél-tartalom mikroelem tartalmára



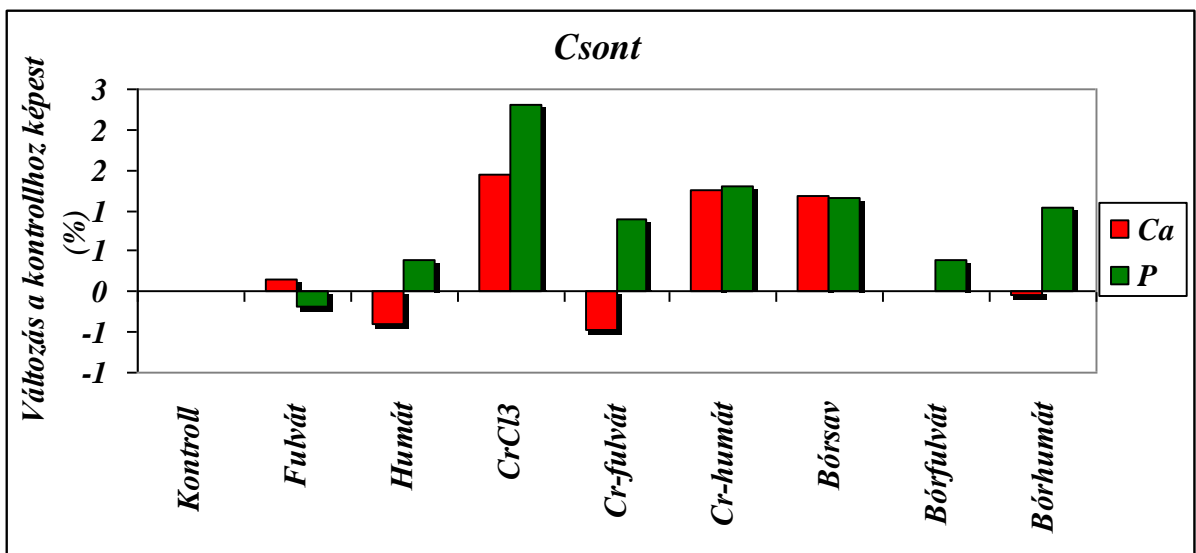
12. ábra
Szerves és szervetlen kötésben lévő króm és bór hatása a máj mikroelem tartalmára



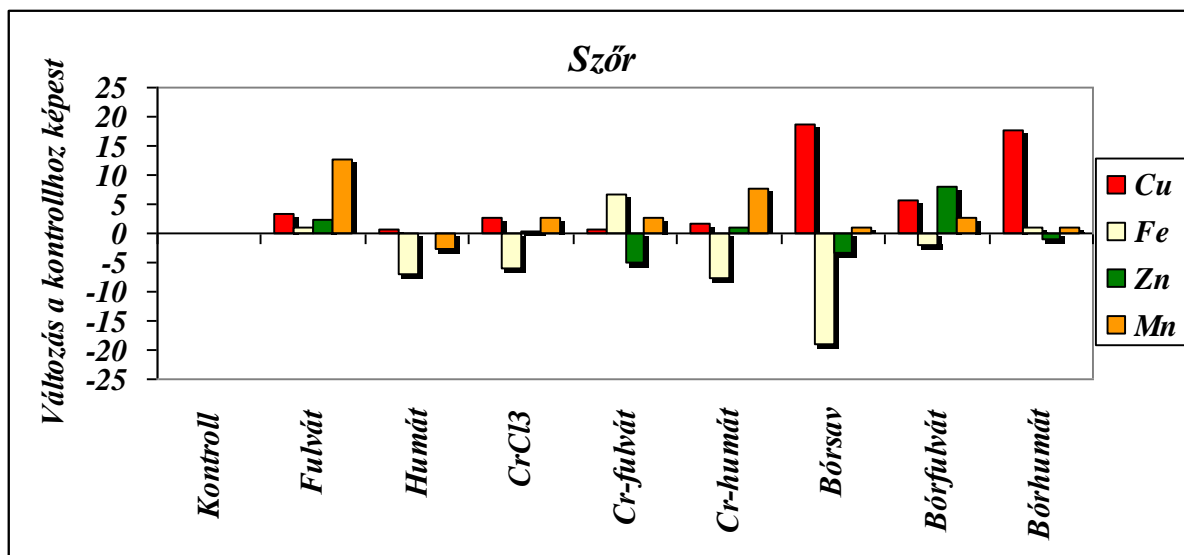
13. ábra
Szerves és szervetlen kötésben lévő króm és bór hatása a vese mikroelem tartalmára



14. ábra
Szerves és szervetlen kötésben lévő króm és bór hatása a csont mikroelem tartalmára



15. ábra
Szerves és szervetlen kötésben lévő króm és bór hatása a csont Ca- és P tartalmára



16. ábra

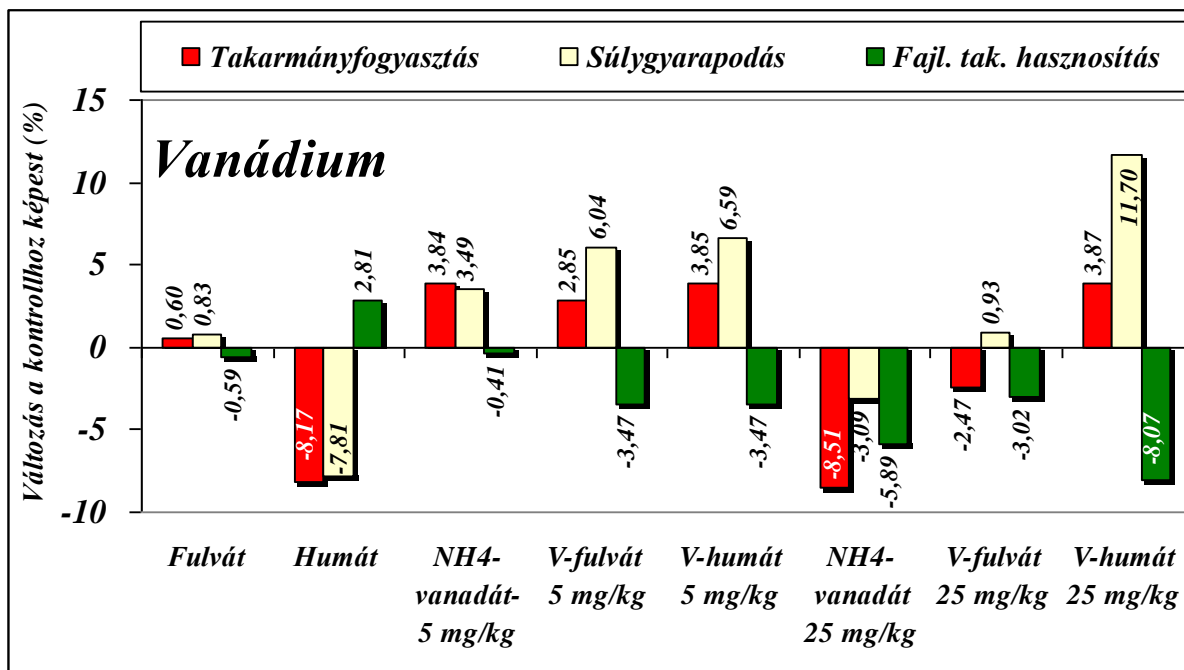
Szerves és szervetlen kötésben lévő króm és bór hatása a szőr mikroelem tartalmára

6. Szervetlen és szerves (fulvát- és humát-) kötésben lévő vanádium hatásának vizsgálata

Szervetlen (ammónium-vanadát) és szerves (V-fulvát és V-humát) kötésben lévő vanádium hatását két koncentrációban (5, illetve 25 mg/kg) vizsgáltuk. Az eredményeinket a 8. táblázat és a 17. ábra ismerteti.

Eredmények és következtetések

Legfontosabb termelési mutatók (takarmányfogyasztás, súlygyarapodás, takarmány-értékesülés)



17. ábra

Szervetlen és szerves kötésű vanádium hatása a gazdaságossági paraméterekre

Következtetések

- Alacsony koncentrációban (5 mg/kg) adagolt szervesen vanádium tendenciaszerűen javította az étvágyat és a súlygyarapodást, de a hatás nem volt statisztikailag szignifikáns.
- Teljesen hasonló hatást fejtett ki az 5 mg/takarmány kg dózisban etetett vanádium-fulvát és vanádium-humát is, azzal a különbséggel, hogy ebben a két csoportban kismértékben a takarmányértékesítés is javult (17. ábra).
- Nagy dózisban (25mg/takarmány kg) a vanádium éppen ellenkező hatást váltott ki a patkányok étvágyára és súlygyarapodására, a takarmányhasznosulás azonban ezekben a csoportokban is javult, ha a vanádium NH₄-, vagy fulvát-kötésben volt (17. ábra).
- A magas koncentrációban (25 mg/kg takarmány) adagolt vanádiumhumát javította a patkányok takarmány-fogyasztását (+3,87%-kal), súlygyarapodását (11,7%-kal) és a fajlagos takarmányhasznosulást (8,07%-kal) (17. ábra).

Szerves és szervesen kötésben lévő vanádium hatása a csont mikroelem tartalmára

- A vanádium kiegészítés nem volt jelentős befolyással a csont mikroelem tartalmára.

9. Táblázat

Szerves és szervesen kötésben lévő vanádium hatása a csont mikroelem tartalmára

	Zn (mg/kg)									
Átlag	468,38	458,88	437,13	453,50	473,25	467,00	476,38	480,50	468,50	
szórás	26,81	25,33	41,61	20,74	27,57	24,10	27,44	36,51	43,86	
	Fe (mg/kg)									
Átlag	116,13	116,00	117,50	118,38	109,50	121,13	106,75	111,13	111,88	
szórás	13,81	12,12	14,54	12,76	13,22	13,48	14,90	11,54	7,77	
	Cu (mg/kg)									
Átlag	9,14	9,79	10,73	10,16	9,76	9,83	8,93	9,74	9,65	
szórás	2,43	1,29	2,00	1,48	1,37	1,27	0,88	1,47	1,21	
	Mn (mg/kg)									
Átlag	4,04	4,16	4,08	3,91	4,06	4,13	4,10	3,98	3,98	
szórás	0,36	0,40	0,38	0,42	0,41	0,34	0,50	0,28	0,35	

7. Mikrobiológiai vizsgálatok

Bélflóra

A bélflóra vizsgálatokkal csak tendenciaszerű változást tudtunk megállapítani. A kísérletből nyert adatokat a 10. táblázat és a 18. ábra ismerteti.

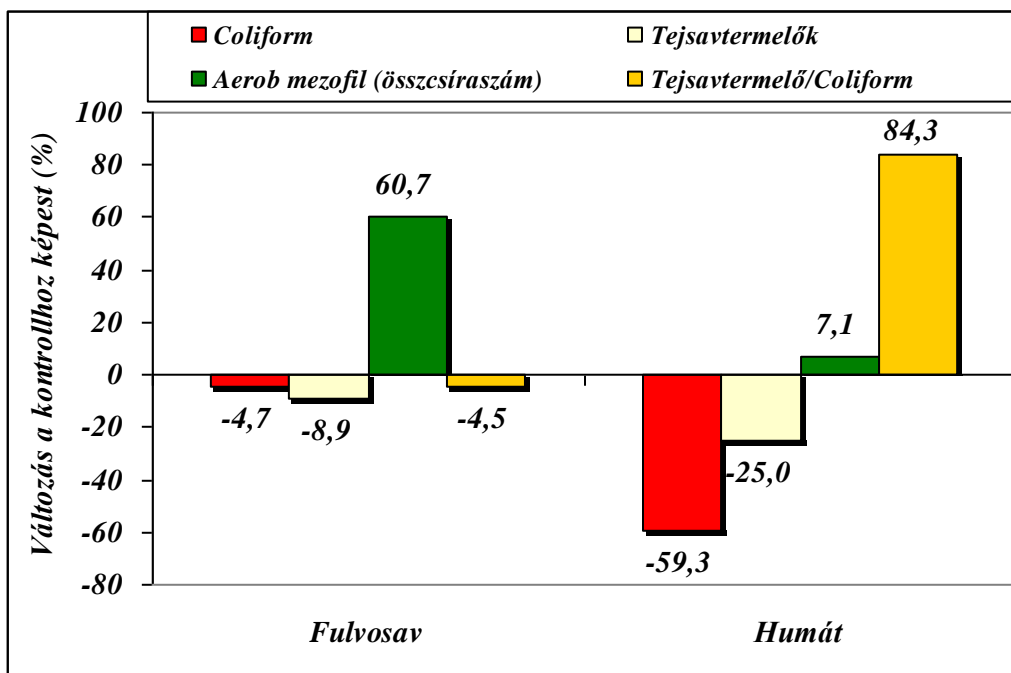
Következtetések

- Sem az in vivo, sem az in vitro vizsgálatokkal nem sikerült bakteriosztatikus hatást bizonyítani, sőt a fulvát inkább serkentette a tejsavtermelő baktériumok növekedését.
- A tejsavtermelő / coliform arány a fulvátos csoportok esetében szoros összhangban változott a dózissal ($R^2=0.992$), ilyen összefüggést a humát esetében nem találtunk.
- A második kísérletben hasonlóan az elsőhöz, a fulvát mintegy 60%-kal növelte az összcsíraszámot, nem vagy alig hatott a coliformokra és a laktobacillusokra (18. ábra).
- A humát 60%-kal csökkentette a coliformok számát, amit a tejsavtermelő - coliform hányados 85%-os növekedése is igazolt (18. ábra).

10. Táblázat

A vastagbélflóra alakulása különböző koncentrációban fulvátot, illetve humátot tartalmazó táppal etetett patkányokban.

	Coliform	Tejsavtermelő	Anaerob rothasztó
Kontroll	$3,06 \times 10^7$	$3,60 \times 10^8$	$2,7 \times 10^4$
Fulvát 0,1%	$6,98 \times 10^7$	$4,12 \times 10^8$	$< 10^2$
Fulvát 0,2%	$4,38 \times 10^7$	Nem értékelhető	$< 10^2$
Fulvát 0,4%	$8,16 \times 10^7$	$5,64 \times 10^8$	$< 10^2$
Fulvát 0,8%	$2,10 \times 10^7$	$6,17 \times 10^8$	$< 10^2$
Humát 0,1%	$2,92 \times 10^7$	$4,80 \times 10^8$	$< 10^2$
Humát 0,2%	$2,32 \times 10^7$	$4,16 \times 10^8$	$< 10^2$
Humát 0,4%	$1,54 \times 10^7$	$1,68 \times 10^8$	$< 10^2$
Humát 0,8%	$8,84 \times 10^7$	$9,02 \times 10^8$	$< 10^2$



20. ábra
Fulvát és humát (0,4%) hatása a patkányok bélflórájára.

A fulvosav és huminsav bakteriosztatikus/baktericid hatásának in vitro vizsgálata

Korongdiffúziós módszer

A tesztanyagok körül feltisztulási gyűrű (gátlási udvar) nem látható, ebből az következik, hogy sem a fulvosav sem a huminsav esetében nem állapítható meg bakteriosztatikus hatás.

Tápleves hígítási módszer

11. Táblázat

Baktérium-szaporodás mértéke a kiegészítés nélküli kontroll %-ában

	Tesztanyag					
	Fulvosav, %			K-humát, %		
	0,4	1	4	0,4	1	4
<i>Lactobacillus plantarum</i>	120	160	135	120	120	n.é.
<i>Streptococcus faecalis</i>	100	95	100	100	100	n.é.
<i>Escherichia coli</i>	130	150	150	110	130	n.é.
<i>Bacillus subtilis</i>	115	100	100	110	110	n.é.

n.é.: nem értékelhető (a tesztanyag intenzív színe miatt)

8. Irodalomjegyzék

1. Kühnert, M., V. Fuchs und S. Golbs (1987): Pharmakologisch-toxikologische Eigenschaften von Huminsäuren und ihre Wirkungsprofile für eine veterinärmedizinische Therapie. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 96: 3-10.
2. Golbs, S., V. Fuchs, M. Kühnert und C. Polo (1982): Pränatal-toxikologische Testung von Huminsäuren an Laboratoriumsratten. Arch. Exper. Vet. Med., Leipzig 36:179-185.
3. Fuchs, V. S. Golbs, M. Kühnert, W. Schopek und B. Stier (1982): Untersuchungen zum Einfluß von Huminsäuren auf ausgewählte Spurenelemente bei Laboratoriumsratten. Arch. Exper. Vet. Med., Leipzig 36:187-191.
4. Fuchs, V. M. Kühnert, S. Golbs und W. Dedek (1990): Untersuchungen zur Resorption von Eisen (II) aus Huminsäure-Eisen-Komplex beim Saugferkel mit Hilferadiomarkierten Eisens (⁵⁹Fe). Dtsch. Tierärztl. Wschr. 97:208-209.
5. Herzig I., B. PIsarikova, J. Kurša, P. Suchy (2000): Utilisation of iodine from different sources in pigs. Arch. Tierernähr. 59:179-189.
6. Glynn, A.W. (1995): Fulvic and humic acids decrease the absorption of cadmium in rat intestine. Arch. Toxicol. 70:28-33.
7. Lind, Y., A.W. Glynn (1999): Intestinal absorption of copper from drinking water containing fulvic acids and an infant formula mixture studied in suckling rat modell. Biometals 12: 181-187.
8. Huang, T.S., F.J. Lu, C.W. Tsai, I.J. Chopra (1994): Effect of humic acids on thyroidal function. J. Endocrinol. Invest. 17:787-791.
9. Chodan, J., W. Sobieraj (1996): The effect of various humic fractions of peat on *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. Acta Microbiologica Polonica 15:267-272.
10. Lange, N., S. Golbs und M. Kühnert (1987): Grundlagenuntersuchungen zu immunologischen Reaktionen and der Laboratoriumsratte unter dem Einfluß von Huminsäuren. Arch. Exper. Vet. Med., Leipzig 41:140-146.
11. Kocabagli, N., M. Alp, N. Acar, R. Kahraman (2002): The effects of dietary humate supplementation on broiler growing and carcass yield. Poultry Sci. 81:227-230.
12. Yuan, Shenyan; Fulvic Acid, 4 1988. in Application of fulvic acid and its derivatives in the fields of agriculture and medicine. First edition: June 1993.
13. Riede, U.N., G. Zeck-Kapp, N. Freudenberg, H.U. Keller, B. Seubert (1991): Humate induced activation of human granulocytes. Wirschows Archive B Cell Pathology 60:27-34.