



УКРАЇНА

(19) UA (11) 26121 (13) U
(51) МПК (2006)
A01K 67/02 (2007.01)
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ НЕГАТИВНОГО ВПЛИВУ НІТРАТІВ І НІТРИТІВ НА ОРГАНІЗМ МОЛОДНЯКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

1

(21) u200701968

(22) 26.02.2007

(24) 10.09.2007

(46) 10.09.2007, Бюл. № 14, 2007 р.

(72) Харів Іван Іванович, Гутий Богдан Володимирович, Васів Ростислав Орестович, Хомик Роман Іванович

(73) ЛЬВІВСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ІМ. С.З. ГЖИЦЬКОГО

(57) Спосіб оцінки ступеня негативного впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби, який базується на аналізі системи антиоксидантного захисту за активністю ферментів крові, який **відрізняється** тим, що додатково визначають ферментну активність супероксиддисмутази і за комплексною картиною активності ферментів антиоксидантної системи судять про ступінь негативного впливу нітратного навантаження, при цьому:

тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,9-12,3 у.о./хв/мг білка, ак-

2

тивність каталази - в межах 6,28-6,75 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 34,6-38,4 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають клінічно здоровими;

тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,6-8,5 у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 5,8-6,26 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають частково ураженими впливом нітратів та нітритів і піддають корекції системи антиоксидантного захисту організму застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів;

тварин, у яких активність супероксиддисмутази є меншою 8,0 у.о./хв/мг білка, активність каталази - меншою 5,78 одиниць, активність глутатіонпероксидази - меншою 20,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають ураженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема ветеринарної токсикології, а саме до способів оцінки ступеня негативного впливу нітратно-нітритного навантаження на організм молодняку великої рогатої худоби.

Заявлений спосіб може бути використаний у господарствах із різними формами власності, що вирощують молодняк великої рогатої худоби в умовах нітратно-нітритного навантаження, тобто при підвищеному рівні нітратів і нітритів у кормах.

Відомий спосіб оцінки негативного впливу нітратів на окремі органи і системи організму тварин, що базується на оцінці змін у функціонуванні процесів травлення і сечовиділення [Гуфрій Д.Ф. Зміни функції шлунково-кишкового тракту у бугайців під впливом нітратів і нітритів // Матер. доп. Міжнарод. конф. присв. 110 роковинам заснування Львівського зоовет. Ін-ту, Львів, 1991. - С.13-14]. Недоліком даного способу є те, що за допомогою його можна діагностувати негативний вплив нітра-

тів на організм тільки при важкому ступені гострого перебігу нітратно-нітритного токсикозу.

Відомі також гематологічні способи виявлення негативного впливу нітратів на тваринний організм [Клюсова Т., Башкова Л., Девченко О. Влияние на организм нитратов и нитритов при использовании их в пищевой промышленности и применение удобрений. // В кн.: Вопросы гигиены и охраны окружающей среды, М., 1979. - С.45. Дмитров С., Джуров А., Антонов С. Диагностика отравлений животных. - М.: Агропромиздат, 1986. - 282с. Мазуркевич А.И. Обмен нитратов и нитритов в организме животных. // Ветеринария. - 1992. - №1. - С.54-55. Полоз Д.Д., Сидоров Нитраты и их отрицательное действие на организм животных // Тез. докл. науч. конф. «Экологические проблемы фармакологии и токсикологии», Казань, 1990. - С.77-78. Влияние нитратов питьевой воды на содержание метгемоглобина в крови телят. /Н.М. Ливчак, Д.Ф. Гуфрий, Л.Т. Кметь, Л.В. Богославская

(13) U

(11) 26121

(19) UA

//Молодые учёные - продовольственной программе (Львов 1985): Тез. Докл. науч. произ. конф. Львовского зоовет. ин-та, Львов, 1985. - С.24. Хмельницкий Г.А., Мазуркевич А.И. Проблема нитратов в животноводстве //Эколог, пробл. фармакол. итоксикол. Тез. докл. научн.-конф. - Казань, 1990. - С.113. Гутий Б.В. Вплив нітрату натрію на активність ферментів глутатіонової системи антиоксидантного захисту //Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний наук. зб. Харків 2005 №85, Т. 1, С.377-381. Гунчак В.М. Вплив нітратів на дезінтоксикаційну функцію печінки //Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Ґжицького. - Львів, 2002. - Т. 4, №1. - С.5-7.].

Відомі способи включають оцінку реактивності організму при нітритно-нітратному навантаженні шляхом визначення деяких гематологічних та імунологічних показників у крові тварин (кількість гемоглобіну, метгемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, аналіз лейкограм, концентрацію в крові нітратів і нітритів, загальний білок, сечовину, цукор, інсулін, активність ферментів системи антиоксидантного захисту). Ці способи використовують комплексний підхід до оцінки патології різних ступенів важкості, але оскільки нітрити проявляють подвійну дію, а, саме, метгемоглобіноутворюючу дію та утворення вільних радикалів, зазначенні показники гематологічних досліджень не дозволяють оцінити ступінь впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби.

Найбільш близьким по суті до способу, що залягає, є спосіб визначення стану антиоксидантної системи при нітратному навантаженні [Деклараційний патент України на корисну модель №7729 Гутий Б.В., Гуфрій Д.Ф. "Спосіб виявлення і оцінки ступеня негативного впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби"].

Спосіб полягає у визначенні в крові молодняку великої рогатої худоби при нітратно-нітритному навантаженні активності ферментів каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. За рівнем даних ферментів оцінюють стан системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби за нітратно-нітритного токсикозу.

Недоліком даного способу є недостатня його точність, оскільки він не повністю враховує механізм дії нітратів на організм тварин, зокрема на антиоксидантну систему організму, оскільки вище наведені антиоксиданти знешкоджують лише перекис водню, а провідною ланкою в процесі активації вільнорадикальних реакцій, у тому числі і перекисного окиснення ліпідів, що призводить до деструкції мембран клітин, є супероксидний радикал. Він є стартовим радикалом запуску цілого ряду вільнорадикальних реакцій, у результаті яких можуть утворитися гідроксильний радикал, синглетний кисень, пероксид водню, гідропероксидний радикал, пероксирадикали жирних кислот та інші. Тому для більш точної оцінки токсичної дії нітратів на антиоксидантну систему організму молодняку великої рогатої худоби доцільно додатково досліджувати і активність супероксиддисмутази, яка

приймає участь у знешкодженні супероксидного радикалу, таким чином запобігаючи розвитку оксидативного стресу.

Заявлений нами спосіб усуває недоліки прототипу, враховує стан антиоксидантної системи крові тварин і забезпечує об'єктивну оцінку ступеню негативного впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби.

В основу корисної моделі поставлено завдання розробити точний і об'єктивний спосіб оцінки ступеня негативного впливу нітратів на організм молодняку великої рогатої худоби, зручний і доступний у застосуванні, економічно вигідний для господарств, у яких він застосовується.

Технічний результат досягають шляхом оцінки стану системи антиоксидантного захисту за активністю ферментів крові додатково визначаючи ферментну активність супероксиддисмутази і за комплексною картиною активності ферментів антиоксидантної системи судять про ступінь негативного впливу нітратного навантаження, при цьому:

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,9-12,3 у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 6,28-6,75 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 34,6-38,4 нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають клінічно здоровими;

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,6-8,5 у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 5,8-6,26 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0 нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів і піддають корекції системи антиоксидантного захисту організму застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів;

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази є меншою 8,0 у.о./хв/мг білка, активність каталази - меншою 5,78 одиниць, активність глутатіонпероксидази - меншою 20,0 нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Дія нітритів на організм тварин супроводжується утворенням в крові метгемоглобіну, де двохвалентне залізо гемоглобіну окиснюється до трьохвалентного. Процес окиснення гемоглобіну реалізується через взаємодію його оксиформи з нітрит-іоном по ланцюговому шляху. При окисненні гемоглобіну утворюється цілий ряд радикальних метаболітів, які є активними окисниками біологічних субстратів, надають виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси перекисного окиснення ліпідів.

Даному патологічному процесу запобігає багатокomпонентна система антиоксидантного захисту організму. Велику роль відіграє каталаза, глутатіонова система (глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза), супероксиддисмутаза. Каталаза відновлює перекис водню до води, глутатіонпероксидаза - каталізує розклад гідроперекисів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою глутатіону відновленого, а саме каталізує розпад перекису водню і окиснює глутатіон. Глутатіонпероксидаза разом з

іншими антиоксидантами сприяє видаленню первинних продуктів частково редукованого кисню. Глутатіонредуктаза забезпечує відновлення глутатіону за допомогою NADPH-H, NADPH, що виступають донорами водню. При високій інтенсивності утворення перекису водню в організмі тварин знешкодження цієї сполуки полягає на каталазу, а при низьких - на глутатіонову антиоксиданту систему.

Супероксиддисмутаза є ключовим ферментом антирадикального захисту. Вона дисмутує супероксидрадикал до менш токсичного перекису водню. Залежно від мікроелементу, що знаходиться в активному центрі ферменту, виділяють Fe-, Zn-Cu- та Mn-залежні СОД. Метали виконують каталітичну функцію. Вони послідовно відновлюються і окиснюються в активному центрі ферменту. Fe-залежна СОД у більшій кількості знаходиться в еритроцитах, Zn-Cu-залежна - у цитоплазмі, а Mn-залежна - у мітохондріях. СОД знаходиться головним чином у внутрішньоклітинному просторі (мітохондріальному матриксі та цитозолі) та в цитоплазмі. У меншій кількості СОД знаходиться у лізосомах та мітохондріальному міжмембранному просторі, а також у зовнішньоклітинній рідині. Вказані форми СОД беруть участь в біологічних реакціях, що забезпечують дисмутацію супероксидного аніону, безпосереднього метаболіту кисню, який діє на перекиси. Активність супероксиддисмутази детермінується інтенсивністю радикалоутворення і залежить від рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів у клітині. Доведено, що нагромадження токсичних перекисних продуктів (перекисів жирних кислот і альдегідів) пригнічує активність СОД та інших антиоксидантних ферментів.

Оскільки супероксиддисмутаза утилізує активні форми кисню з утворенням перекису водню, важливим для життєздатності клітини є встановлення балансу між активністю супероксиддисмутази та ферментами, які окиснюють перекис водню (каталаза, глутатіонпероксидаза). Необхідно відзначити, що занадто швидке підвищення в клітині активності супероксиддисмутази, без відповідної активації каталази або пероксидаз, само по собі є цитотоксичним.

Вивчення в крові тварин супероксиддисмутази разом з каталазою і глутатіонпероксидазою при нітратно-нітритному токсикозі дасть можливість краще зрозуміти розвиток даної патології в організмі тварин.

Отже, зазначений нами спосіб забезпечує більш точну оцінку ступеню негативного впливу нітратів на організм молодняку великої рогатої худоби, ніж прототип.

При проведенні патентно-інформаційного пошуку авторами і заявником виявлено технічне рішення [деклараційний патент України на корисну модель №7729 Гутий Б.В., Гуфрій Д.Ф. "Спосіб виявлення і оцінки ступеня негативного впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби"], що містить найбільшу кількість суттєвих ознак, спільних із заявленим способом: спосіб включає аналіз стану системи антиоксидантного захисту за комплексною картиною активності ферментів крові досліджуваних тварин, зокрема

каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Але наявність зазначених, спільних із прототипом, ознак недостатня для одержання технічного результату, який забезпечує заявлений спосіб.

Технічних рішень, які б за сукупністю ознак повністю співпадали із заявленим, не виявлено.

Це дозволяє зробити висновок про відповідність заявленого технічного рішення критерію винаходу "новизна".

В патентній і науково-технічній літературі не знайдено технічних рішень, в яких були б описані відомості про ознаки, що відрізняють заявлений спосіб від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату: оцінку ступеню негативного впливу нітратів на організм молодняку великої рогатої худоби здійснюють, додатково враховуючи фермент антиоксидантної системи супероксиддисмутази і за зміною активності у крові каталази, глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази судять про ступінь негативного впливу нітратного навантаження, при цьому:

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,9-12,3 у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 5,8-6,26 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 34,6-38,4 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають клінічно здоровими;

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,6-8,5 у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 5,8-6,26 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів і піддають корекції системи антиоксидантного захисту організму застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів;

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази є меншою 8,0 у.о./хв/мг білка, активність каталази - меншою 5,78 одиниць, активність глутатіонпероксидази - меншою 20,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Отже, заявлене технічне рішення не випливає явним чином з рівня техніки, що дозволяє зробити висновок про його відповідність критерію винаходу (корисної моделі) - "винахідницький рівень".

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема, ветеринарної токсикології, а саме до способів оцінки ступеню негативного впливу нітратно-нітритного навантаження на організм молодняку великої рогатої худоби. Заявлений спосіб може бути використаний у господарствах із різними формами власності, що вирощують молодняку великої рогатої худоби в умовах нітратно-нітритного навантаження, тобто при підвищенні рівня нітратів і нітритів у кормах, а тому заявлений спосіб відповідає критерію винаходу (корисної моделі) "промислово придатність".

Отже, заявлене технічне рішення є новим, має винахідницький рівень, промислово придатне, тобто відповідає всім умовам патентоспроможності винаходу відповідно до статті 7 розділу II "Закону

України про охорону прав на винаходи і корисні моделі" №1771 - III, 2000.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином:

У тваринницьких господарствах молодняк великої рогатої худоби, яких знаходився в умовах нітратно-нітритного навантаження, одержуючи тривалий час корми з підвищеною кількістю нітратів для виявлення і оцінки ступеню негативного впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби відбирають кров у тварин різних вікових груп. У крові визначають: каталазу (за методом Баха і Зубкової), глутатіонпероксидазу та глутатіонредуктазу (за методом В.В. Лемешко і ін., Н. Siens), супероксиддисмутази (за методом Чвари С і ін.).

Аналіз одержаних результатів здійснюють наступним чином:

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,9-12,3 у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 6,28-6,75 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 34,6-38,4 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають клінічно здоровими;

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,6-8,5 у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 5,8-6,26 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів і піддають корекції системи антиоксидантного захисту організму застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів;

- тварин, у яких активність супероксиддисмутази є меншою 8,0 у.о./хв/мг білка, активність каталази - меншою 5,78 одиниць, активність глутатіонпероксидази - меншою 20,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка, вважають пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Ефективність заявленого способу та його переваги перед прототипом підтверджені прикладом конкретного виконання.

У господарстві СТЗОВ "Дружба" Буського району, Львівської області було відібрано 30 телят шестимісячного віку. Було створено 6 груп по 5 тварин у кожній. Тварини контрольної групи знаходились на господарському раціоні, згідно норм ВІТА.

Тваринам дослідних груп створювали штучно нітратне навантаження, а саме:

Дослідна 1 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,1 г NO_3^- /кг маси тіла один раз на добу протягом місяця;

Дослідна 2 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,2 г NO_3^- /кг маси тіла один раз на добу протягом місяця;

Дослідна 3 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,3 г NO_3^- /кг маси тіла;

Дослідна 4 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,4 г NO_3^- /кг маси тіла;

Дослідна 5 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,5 г NO_3^- /кг маси тіла.

Кров для аналізу брали з яремної вени на 1, 3, 6, 9 годину після згодовування нітрату натрію.

Активність глутатіонпероксидази визначали за методикою В.В. Лемешко і ін., активність каталази - за методикою Баха і Зубкової, активність супероксиддисмутази - за методом Чвари С і ін.

Основні показники активності ферментів як дослідних так і контрольної груп подані у таблиці 1.

При цьому за прототипом у тварин всіх груп визначали активність ферментів антиоксидантної системи захисту організму: каталази, глутатіонпероксидази. Так, у тварин контрольної групи активність каталази була в межах 6,34-6,66 одиниць, глутатіонпероксидази була в межах 34,6-38,4 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка. При згодовуванні нітрату натрію у різних дозах активність ферментів почала знижуватись, а саме при згодовуванні нітрату натрію у дозах 0,1 і 0,2 г NO_3^- /кг маси тіла активність каталази коливалася у межах 5,61-6,49 одиниць, глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка.

При згодовуванні нітрату натрію у дозах 0,3-0,5 г NO_3^- /кг маси тіла активність каталази становила 5,60 одиниць і нижче, глутатіонпероксидази 32,0 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка і нижче.

На підставі даних активності ферментів антиоксидантної системи (каталази, глутатіонпероксидази) важко робити висновок про ступінь негативного впливу нітратів і нітритів на систему антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби.

При додатковому визначенні активності супероксиддисмутази ступінь негативного впливу нітратного навантаження на організм молодняку великої рогатої худоби проявляється більш повно.

Так у тварин контрольної групи активність супероксиддисмутази була у межах 10,9-12,3 у.о./хв/мг білка.

Згідно даних таблиці у дослідних тварин, яким згодовували нітрат натрію у різних дозах, активність супероксиддисмутази у крові молодняку великої рогатої худоби мала певні відхилення. Так, із збільшенням дози нітрату натрію активність ферменту супероксиддисмутази знижувалась.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,1 г NO_3^- /кг маси тіла, показники активності супероксиддисмутази знаходилися у таких межах 10,8±0,5-11,4±0,6 у.о./хв/мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,2 г NO_3^- /кг маси тіла, показники активності супероксиддисмутази знаходилися у таких межах 9,8±0,5-11,1±0,5 у.о./хв/мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,3 г NO_3^- /кг маси тіла, показники активності супероксиддисмутази знаходилися у таких межах 8,0±0,5-10,5±0,5 у.о./хв/мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,4 г NO_3^- /кг маси тіла, показники активності супероксиддисмутази знаходилися у таких межах 7,5±0,4-9,9±0,4 у.о./хв/мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,5 г NO_3^- /кг маси тіла, показники активності супероксиддисмутази знаходилися у таких межах 6,5±0,2-8,9±0,4 у.о./хв/мг білка.

Таким чином за активністю супероксиддисмутази при одночасному врахуванні активності фер-

ментів крові: каталази та глутатіонпероксидази, можна вважати, що тварини, які одержували з кормом нітрат натрію у дозах 0,1-0,2гNO₃/кг маси тіла це тварини, у яких активність супероксиддисмутази знаходиться у межах 10,6-8,5у.о./хв/мг білка, активність каталази - в межах 5,8-6,26 одиниць, активність глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів і які потребують корекції системи антиоксидантного захисту організму застосуванням природних або

синтетичних антиоксидантів, вітамінів. А тварини, які одержували з кормом нітрат натрію у дозах 0,3-0,5гNO₃/кг маси тіла, це тварини, у яких активність супероксиддисмутази є меншою 8,0у.о./хв/мг білка, активність каталази - меншою 5,78 одиниць, активність глутатіонпероксидази - меншою 20,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, тобто яких можна вважати пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Таблиця 1

Активність ферментів системи антиоксидантного захисту
молодняку великої рогатої худоби за нітратного навантаження, при n=5

Групи тварин	Доза г NO ₃ /кг	Ферменти	Одиниці виміру	Після введення препарату через (годин)			
				1	3	6	9
Контрольна	-	Супероксиддисмутаза Глутатіонпероксидаза (П) Каталаза	у.о./хв/мг білка нмоль NADPH/хв. на 1мг білка одиниці	11,6±0,5 37,1±1,3 6,56±0,10	11,9±0,6 37,1±1,1 6,49±0,12	11,4±0,6 36,9±1,3 6,53±0,14	12,01±0,5 37,2±1,2 6,48±0,11
1	0,1	Супероксиддисмутаза Глутатіонпероксидаза (П) Каталаза	у.о./хв/мг білка нмоль NADPH/хв. на 1мг білка одиниці	11,4±0,6 27,1±0,9 6,39±0,10	11,0±0,5 42,8±1,6 6,28±0,09	10,8±0,5 34,9±1,3 6,05±0,11	11,2±0,6 37,0±1,4 6,45±0,08
2	0,2	Супероксиддисмутаза Глутатіонпероксидаза (П) Каталаза	у.о./хв/мг білка нмоль NADPH/хв. на 1мг білка одиниці	11,1±0,5 24,3±0,8 6,31±0,09	11,0±0,6 40,5±1,5 6,28±0,06	10,4±0,5 31,2±1,2 5,81±0,10	10,9±0,6 36,7±1,4 6,38±0,11
3	0,3	Супероксиддисмутаза Глутатіонпероксидаза (П) Каталаза	у.о./хв/мг білка нмоль NADPH/хв. на 1мг білка одиниці	10,5±0,5 20,6±0,7 5,74±0,10	9,5±0,5 38,8±1,5 5,43±0,12	8,0±0,5 27,9±1,1 4,92±0,10	10,4±0,5 36,0±1,3 5,58±0,10
4	0,4	Супероксиддисмутаза Глутатіонпероксидаза (П) Каталаза	у.о./хв/мг білка нмоль NADPH/хв. на 1мг білка одиниці	9,9±0,4 17,6±0,5 4,92±0,10	8,7±0,4 35,7±1,2 4,67±0,11	7,5±0,4 24,4±0,9 3,98±0,12	9,1±0,4 35,8±1,2 4,62±0,12
5	0,5	Супероксиддисмутаза Глутатіонпероксидаза (П) Каталаза	у.о./хв/мг білка нмоль NADPH/хв. на 1мг білка одиниці	8,9±0,4 16,2±0,5 4,82±0,12	7,2±0,3 34,9±1,2 4,59±0,11	6,5±0,2 20,8±0,6 3,81±0,13	7,5±0,3 35,3±1,2 4,43±0,13

Отже, заявлений спосіб є точним, повністю відображає дію нітратів на обмін речовин і дозволяє виявити ступінь негативного впливу нітратного

навантаження на організм молодняку великої рогатої худоби більш об'єктивно, ніж у прототипі.