

WPLYW CHRONIONEGO BIAŁKA BOBIKU ORAZ MOCZNIKA W DAWCE POKARMOWEJ NA OBRAZ FRAKCJI AZOTOWYCH W TREŚCI TRAWIENCA JAGNIĄT

Paweł Pisulewski, Anna Antoniewicz, Janusz Zima

Zakład Żywienia Zwierząt Instytutu Zootechniki w Krakowie
Kierownik: prof. dr Rajmund Rys

WSTĘP

Określenie optymalnych warunków wykorzystania mocznika w procesach mikrobiologicznej syntezy białka w żwaczu jest jednym z podstawowych zagadnień w badaniach nad metabolizmem azotowym przeżuwaczy [3].

Uważa się [17], że niski poziom azotu amonowego w płynie żwacza stwarza optymalne warunki dla wykorzystania mocznika dawki pokarmowej. Ostatnio Satter i Roffler [18] oraz Satter i Slyter [19] wykazali, że warunki te istnieją wówczas gdy poziom azotu amonowego w płynie żwacza nie przekracza granicznej wartości 5 mg N-NH₃/100 ml. Wydaje się zatem, że dawki pokarmowe zawierające w swym składzie chronione białko, nie ulegające procesom mikrobiologicznej proteolizy i dezaminacji w żwaczu, będą stwarzały pożądane warunki dla mikrobiologicznej syntezy białka ze związków azotowych niebiałkowych. W licznych badaniach obserwowano obniżenie poziomu azotu amonowego w płynie żwacza związane z obecnością chronionego białka w dawce pokarmowej [7, 9, 22, 23]. Przyjmując za kryterium oceny retencję azotu stwierdzono, że w obecności chronionego białka w dawce wzrasta stopień wykorzystania mocznika [13].

Celem niniejszych badań było poznanie obrazu frakcji azotowych treści trawienca w zależności od rodzaju białka w dawce (białko naturalne, białko chronione) oraz obecności mocznika.

MATERIAŁ I METODY

UKŁAD DOŚWIADCZENIA I ZWIERZĘTA DOŚWIADCZALNE

Doświadczenie zostało przeprowadzone na czterech trykach, posiadających trwale przetoki trawieńca w układzie okresowym obejmującym cztery kolejne 12-dniowe okresy doświadczalne. W doświadczeniu użyte zostały tryki rasy czarnogłówka w wyrównanym wieku 8 miesięcy i przeciętnej wadze żywej 45 kg. Przetoki założono operacyjnie w części dennej trawieńca w pobliżu połączenia denno-odźwiernikowego. Zwierzęta zostały użyte w badaniach po czterech tygodniach rekonwalescencji.

ŻYWIENIE I POBIERANIE PRÓB TREŚCI TRAWIENCA

Skład mieszanek doświadczalnych przedstawiono w tabeli 1. W mieszankach (I, II, III, IV), charakteryzujących się wyrównanych poziomem białka ogólnego i energii, głównym źródłem azotu (50% azotu ogólnego dawki) były odpowiednio: śruta z nasion bobiku, śruta z nasion bobiku poddana działaniu aldehydu mrówkowego, śruta z nasion bobiku + mocznik (25+25%), śruta z nasion bobiku poddana działaniu aldehydu mrówkowego + mocznik (25+25%). Zabieg ochrony chemicznej białka bobiku przeprowadzono przy zachowaniu uprzednio ustalonych parametrów [12].

Mieszanki doświadczalne (I, II, III, IV) podawano zwierzętom kolejno w czterech okresach doświadczalnych w ilości 1 kg/dzień, w dwóch równych częściach o godzinie 7⁰⁰ i 19⁰⁰. Zwierzęta pojono do woli, po upływie pół godziny od momentu podania dawki pokarmowej.

W ostatnich dwóch dniach (11 i 12) każdego okresu doświadczalnego pobierano co dwie godziny (8⁰⁰, 10⁰⁰, 12⁰⁰, 14⁰⁰, 16⁰⁰, 18⁰⁰) próbki treści trawieńca, odmierzano równe objętości z poszczególnych wpływów (20 ml), łączono je w próbę zbiorczą i całość zamrażano (—20°C). Podane wartości (tab. 2) są średnimi arytmetycznymi z oznaczeń w próbach zbiorczych z dwóch kolejnych dni.

ANALIZY CHEMICZNE

Próbki poszczególnych pasz wchodzących w skład mieszanek doświadczalnych poddano standardowej analizie podstawowej.

W próbach zbiorczych treści trawieńca oznaczano azot ogólny oraz azot białkowy — nierozpuszczalny w kwasie trójchlorooctowym [8], metodą Kjeldahla. Jednocześnie w próbkach treści trawieńca oznaczano

MATERIAŁ I METODY

UKŁAD DOŚWIADCZENIA I ZWIERZĘTA DOŚWIADCZALNE

Doświadczenie zostało przeprowadzone na czterech trykach, posiadających trwale przetoki trawieńca w układzie okresowym obejmującym cztery kolejne 12-dniowe okresy doświadczalne. W doświadczeniu użyte zostały tryki rasy czarnogłówka w wyrównanym wieku 8 miesięcy i przeciętnej wadze żywej 45 kg. Przetoki założono operacyjnie w części dennej trawieńca w pobliżu połączenia denno-odźwiernikowego. Zwierzęta zostały użyte w badaniach po czterech tygodniach rekonwalescencji.

ZYWIENIE I POBIERANIE PRÓB TREŚCI TRAWIENCA

Skład mieszanek doświadczalnych przedstawiono w tabeli 1. W mieszankach (I, II, III, IV), charakteryzujących się wyrównanym poziomem białka ogólnego i energii, głównym źródłem azotu (50% azotu ogólnego dawki) były odpowiednio: śruta z nasion bobiku, śruta z nasion bobiku poddana działaniu aldehydu mrówkowego, śruta z nasion bobiku + mocznik (25+25%), śruta z nasion bobiku poddana działaniu aldehydu mrówkowego + mocznik (25+25%). Zabieg ochrony chemicznej białka bobiku przeprowadzono przy zachowaniu uprzednio ustalonych parametrów [12].

Mieszanki doświadczalne (I, II, III, IV) podawano zwierzętom kolejno w czterech okresach doświadczalnych w ilości 1 kg/dzień, w dwóch równych częściach o godzinie 7⁰⁰ i 19⁰⁰. Zwierzęta pojono do woli, po upływie pół godziny od momentu podania dawki pokarmowej.

W ostatnich dwóch dniach (11 i 12) każdego okresu doświadczalnego pobierano co dwie godziny (8⁰⁰, 10⁰⁰, 12⁰⁰, 14⁰⁰, 16⁰⁰, 18⁰⁰) próbki treści trawieńca, odmierzano równe objętości z poszczególnych wpływów (20 ml), łączono je w próbę zbiorczą i całość zamrażano (—20°C). Podane wartości (tab. 2) są średnimi arytmetycznymi z oznaczeń w próbach zbiorczych z dwóch kolejnych dni.

ANALIZY CHEMICZNE

Próbki poszczególnych pasz wchodzących w skład mieszanek doświadczalnych poddano standardowej analizie podstawowej.

W próbach zbiorczych treści trawieńca oznaczano azot ogólny oraz azot białkowy — nierozpuszczalny w kwasie trójchlorooctowym [8], metodą Kjeldahla. Jednocześnie w próbkach treści trawieńca oznaczano

Tabela 1

Skład mieszanek doświadczalnych w %
Composition of experimental diets in %

Składnik — Component	Mieszanka — Diet			
	I	II	III	IV
Jęczmień Barley	50,00	50,00	50,00	50,00
Słoma pszenna mielona Wheat straw ground	25,00	25,00	25,00	25,00
Bobik Field bean	23,00	—	11,50	—
Bobik chroniony Formaldehyde-treated field bean	—	23,00	—	11,50
Mocznik Urea	—	—	1,00	1,00
Susz buraczany Sugar beet slices	—	—	10,50	10,50
Fosforan dwuwapniowy Kreda pastewna (2:1) Dicalcium phosphate Calcium carbonate (2:1)	1,00	1,00	1,00	1,00
NaCl	0,50	0,50	0,50	0,50
Mikrofos Mineral mixture „Mikrofos”	0,25	0,25	0,25	0,25
Polfamix D Vitamin — mineral mixture „Polfamix D”	0,25	0,25	0,25	0,25
N × 6,25 (%e)	12,18	12,70	12,35	12,83

udział azotu pochodzenia mikrobiologicznego na podstawie sumy azotu kwasów nukleinowych (N-RNA + N-DNA), oznaczanych metodami Antoniewicz [2] przyjmując, że azot kwasów nukleinowych stanowi 19% azotu ogólnego mikroorganizmów żwacza [21]. W badanym materiale oznaczano ponadto zawartość kwasu 2-aminoetylofosfonowego (AEP) metodą Czerkawskiego [4], a ze znanego stosunku azotu AEP do azotu ogólnego pierwotniaków żwacza [1] obliczano udział azotu pierwotniakowego w azocie treści trawieńca.

WYNIKI I DYSKUSJA

Udział poszczególnych frakcji azotowych w treści trawieńca jagniąt, żywionych mieszankami doświadczalnymi, przedstawiono w tabeli 2. W tabeli zwraca uwagę wysoki poziom azotu ogólnego, azotu białkowego,

Tabela 2

Fracje azotowe (mg N/ml) w treści trawieńca jagniąt żywionych mieszankami doświadczalnymi zawierającymi jako główne źródło białka: śrutę z nasion bobiku — I, śrutę z nasion bobiku poddaną działaniu aldehydu mrówkowego — II, śrutę z nasion bobiku + mocznik — III oraz śrutę z nasion bobiku poddaną działaniu aldehydu mrówkowego + mocznik — IV

Abomasal nitrogen (mg N/ml) distribution in lambs fed experimental diets containing as follows: field bean — I, formaldehyde-treated field bean — II, field bean + urea — III and formaldehyde treated field bean + urea — IV

Fracje azotowe Nitrogen fractions	Mieszanka — Diet			
	I	II	III	IV
Azot ogólny Total N	1,99 ± 0,10	2,75 ± 0,18	1,99 ± 0,11	2,68 ± 0,11
Azot białkowy (nierozpuszczalny w kwasie trójchlorooctowym) Protein N (TCA precipitable)	1,26 ± 0,07	1,98 ± 0,18	1,54 ± 0,32	2,01 ± 0,18
Azot bakteryjny Bacterial N	1,29 ± 0,08	1,83 ± 0,12	1,47 ± 0,09	1,86 ± 0,08
Azot pierwotniakowy Protozoal N	0,24 +	0,19 +	0,27 +	0,31 +
Azot białkowy : azot ogólny (%) Protein N : total N (%)	62,8 ± 1,30	72,0 ± 6,02	77,1 ± 1,55	75,1 ± 0,94
Azot bakteryjny : azot ogólny (%) Bacterial N : total N (%)	64,4 ± 1,38	66,5 ± 3,56	73,6 ± 1,33	69,2 ± 0,73
Azot bakteryjny : azot białkowy (%) Bacterial N : protein N (%)	102,6 ± 2,65	92,7 ± 2,54	95,5 ± 0,41	92,2 ± 0,57

+ pojedyncze oznaczenia — single estimation.

a także azotu pochodzenia mikrobiologicznego w treści trawieńca, związany z obecnością chronionego białka w dawce pokarmowej (mieszanki II i IV).

Wartości względne przedstawione w tabeli 2, odnoszące się do jagniąt żywionych mieszankami I i II, wskazują na wzrost udziału azotu białkowego w azocie ogólnym treści trawieńca będący wynikiem zastąpienia naturalnego białka bobiku (mieszanka I) białkiem chronionym (mieszanka II). Wzrost ten związany był ze zwiększonym dopływem białka dawki pokarmowej do trawieńca, czego dowodem jest niższy udział azotu pochodzenia bakteryjnego w azocie białkowym treści u jagniąt żywionych dawką pokarmową zawierającą chronione białko (mieszanka II).

Wartości względne, odnoszące się do zwierząt żywionych mieszanka-

mi doświadczalnymi zawierającymi mocznik (III, IV), pozostawały na zbliżonym poziomie, wykazując nieznaczną tendencję spadkową związaną z obecnością chronionego białka w dawce pokarmowej (mieszanka IV).

Obserwowane zmiany w obrazie frakcji azotowych treści trawieńca u jagniąt żywionych mieszankami I i II są potwierdzeniem skuteczności zabiegu ochrony chemicznej białka bobiku przed mikrobiologicznym rozkładem w żwaczu [14]. Podobne zmiany zauważono w badaniach na owcach [6, 10], krowach mlecznych [9] oraz bydle [20], wprowadzając do dawek pokarmowych białko modelowe — kazeinę (naturalną lub poddaną działaniu aldehydu mrówkowego). Należy jednak zwrócić uwagę, że ograniczenie podaży azotu pochodzenia mikrobiologicznego do trawieńca nie zawsze jest związane z obecnością chronionego białka w dawce. Wydaje się, że ograniczenie to jest wynikiem niedoboru rozpuszczalnego białka — źródła azotu w procesach mikrobiologicznej syntezy w żwaczu [22].

Brak wyraźnych różnic w obrazie frakcji azotowych treści trawieńca u jagniąt żywionych mieszankami III i IV wyjaśnić można obecnością mocznika w tych mieszankach. Wprowadzenie mocznika poprawiło przede wszystkim warunki mikrobiologicznej syntezy białka na co wskazuje wzrost udziału azotu bakteryjnego w azocie ogólnym treści trawieńca, obserwowany u jagniąt żywionych mieszankami III i IV. Wzrost ten jest prawdopodobnie odbiciem wzmożonej podaży białka mikrobiologicznego do trawieńca, niwelującej jednocześnie różnice w udziale azotu białkowego w azocie ogólnym treści, jakie obserwowano u jagniąt żywionych mieszankami I i II. Na taki mechanizm wskazują badania wykonane na bydle [20], w których obserwowano zbliżony przepływ frakcji azotowych przez trawieniec, kształtujący się niezależnie od rodzaju białka w dawce (śruta rzepakowa, śruta rzepakowa poddana działaniu aldehydu mrówkowego), przy jednoczesnej obecności mocznika.

Wyniki przedstawione w tabeli 2 mają jedynie charakter wskaźników wynikających ze składu chemicznego treści trawieńca. Wyniki te omawiane są zatem jako prawdopodobne odbicie zmian ilościowych — przepływu frakcji azotowych przez trawieniec. Wydaje się jednak, że omawiane dane mogą być miarodajne biorąc pod uwagę zmiany w poziomie wolnych aminokwasów w osoczu krwi jagniąt (tab. 3) obserwowane uprzednio [13] w zbliżonych warunkach żywieniowych. Wzrost poziomu wolnych aminokwasów w osoczu jest wskaźnikiem zwiększonej podaży azotu białkowego ze żwacza, związanej z obecnością chronionego białka w dawce pokarmowej [5]. Wzrost poziomu wolnych aminokwasów w osoczu krwi związany z obecnością chronionego białka w dawce obserwowali także Reis i Tunks [15] oraz Nishimuta i in. [11].

Tabela 3

Poziom wolnych aminokwasów w osoczu krwi jagniąt ($\mu\text{M}/100\text{ ml}$) żywionych mieszankami doświadczalnymi, zawierającymi jako główne źródło białka: łąkę z nasion bobiku — I, łąkę z nasion bobiku poddaną działaniu aldehydu mrówkowego — II, łąkę z nasion bobiku + mocznik — III oraz łąkę z nasion bobiku poddaną działaniu aldehydu mrówkowego + mocznik — IV [13]

Concentration of plasma amino acids ($\mu\text{M}/100\text{ ml}$) in lambs fed experimental diets containing as follows: field bean — I, formaldehyde — treated field bean — II, field bean + urea — III and formaldehyde — treated field bean + urea — IV [13]

Aminokwas Amino acids	Mieszanka — Diet			
	I	II	III	IV
Thr	+	4,5*	4,0	+
Val	15,3	21,6	9,0	13,3
Met	+	+	1,0**	+
Ile	8,3	10,3	6,0	9,3
Leu	8,0	12,0	6,3	10,0
Phe	2,6	3,3	3,0	2,6
Lys	10,0	13,0	9,0*	18,5*
His	3,3	3,3	2,3	3,0
Arg	15,3	13,6	12,6	17,5*
Suma aminokwasów niezbędnych				
Total essential amino acids	62,8	81,6	53,2	74,2
Suma aminokwasów nie niezbędnych				
Asp	—	—	—	—
Ser	6,0	17,6	16,0	9,0
Glu	+	+	+	+
Pro	7,3	8,3	5,3	8,3
Gly	57,3	65,0	48,6	48,6
Ala	18,3	16,6	13,3	13,3
Cys	+	3,6	3,3	5,6
Tyr	3,6	4,6	3,0	3,3
Suma aminokwasów nie niezbędnych				
Total non-essential amino acids	92,5	115,7	89,5	88,10
Suma aminokwasów				
Total amino acids	155,3	197,3	142,7	162,30

* — ślady — trace amounts;

* — średnia z dwóch oznaczeń — average of two estimations;

** — pojedyncze oznaczenie — single estimation.

W podsumowaniu niniejszej dyskusji należy stwierdzić, że obecność chronionego białka oraz mocznika w dawce pokarmowej (mieszanka IV) stwarzała optymalne warunki zarówno dla procesu mikrobiologicznej syntezy białka w żwaczu, jak również zapewniała lepsze pokrycie potrzeb białkowych organizmu przeżuwacza. Jest to zgodne z ostatnimi sugestiami Roya i in. [16], wskazującymi na konieczność pokrycia potrzeb azotowych mikroorganizmów żwacza (określających wydajność

mikrobiologicznej syntezy białka) oraz zapotrzebowania białkowego organizmu zwierzęcego w danych warunkach żywieniowych. Ewentualna różnica pomiędzy potencjalnymi rozmiarami mikrobiologicznej syntezy białka a zapotrzebowaniem białkowym produkującego przeżuwacza winna być pokryta odpowiednią ilością białka nie ulegającego rozkładowi w żwaczu.

WNIOSKI

Obecność chronionego białka bobiku w mieszankach doświadczalnych zwiększa udział azotu ogólnego oraz azotu białkowego w treści trawieńca, średnio o 40%.

Wprowadzenie do mieszanek doświadczalnych mocznika w ilości odpowiadającej 50% udziału białka bobiku powoduje zwiększenie syntezy mikrobiologicznej białka zarówno w obecności naturalnego, jak i chronionego białka bobiku.

Optymalne warunki mikrobiologicznej syntezy białka z mocznika, obserwowane w obecności chronionego białka bobiku w dawce pokarmowej, wymagają potwierdzenia w badaniach ilościowych, obejmujących pomiar dobowej podaży białka do trawieńca lub dwunastnicy.

LITERATURA

1. Abou-Akkada A. R., Messmer D. A., Fina L. R., Bartley E. E.: *J. Dairy Sci.*, 51, 78, 1968.
2. Antonowicz A.: *Acta Agr. Silv.*, 14, 4, 1971.
3. Chalupa W.: *Proc. Nutr. Soc.*, 32, 99, 1973.
4. Czerkowski J. W.: *Sci. Fd Agric.*, 25, 45, 1974.
5. Faichney G. J.: *Aust. J. Agric. Res.*, 25, 583, 1974.
6. Faichney G. J.: *Aust. J. Agric. Res.*, 25, 599, 1974.
7. Ferguson K. A., Hemsley J. A., Reis P. J.: *Aust. J. Sci.*, 30, 215, 1967.
8. Geissler C., Hoffmann M.: *Arch. Tierernährg*, 26, 483, 1976.
9. Hagemeister H., Pfeffer E.: *Z. Tierphysiol., Tierernährg u. Futtermittelkde*, 31, 275, 1973.
10. MacRae J. C., Ulyatt M. J., Pearce P. D., Hendtlass J.: *Br. J. Nutr.*, 27, 39, 1972.
11. Nishimuta J. F., Ely D. G., Boling J. A.: *J. Nutr.*, 103, 49, 1973.
12. Pisulewski P.: *Zesz. probl. Post. Nauk rol.*, 173, 233, 1975.
13. Pisulewski P., Antoniewicz A.: *Zesz. probl. Post. Nauk rol.*, 192, 23, 1977.
14. Pisulewski P., Ryś R.: *Tracer Studies on Non-Protein Nitrogen for Ruminants II*. s. 195, I.A.E.A., Wiedeń 1975.
15. Reis P. J., Tunks D. A.: *Aust. J. Biol. Sci.*, 36, 199, 1976.
16. Roy J. H. B., Balch C. C., Miller E. L., Ørskov E. R., Smith R. H.: *2nd International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition*. Flevohof., 1977 (materiały w druku).

17. Ryś R.: Urea as a Protein Supplement. s. 239, M. H. Briggs, Pergamon Press, Oxford, London, Edinburgh, New York, Toronto, Sydney, Paris, Brunschweig, 1967.
18. Satter L. D., Roffler R. E.: Tracer Studies on Non-Protein Nitrogen for Ruminants III. s. 119, I.A.E.A., Wiedeń 1976.
19. Satter L. D., Slyter L. L.: Br. J. Nutr., 32, 199, 1974.
20. Sharma H. R., Ingalls J. R., Parker R. J.: Can. J. Anim. Sci., 54, 305, 1974.
21. Smith R. H.: J. Dairy Res., 36, 313, 1969.
22. Williams A. P., Smith R. H.: Br. J. Nutr., 36, 199, 1976.
23. Zelter S. Z., Leroy F., Tissier J. P.: Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 10, 111, 1970.

П. Писулевски, А. Антоневиц, Я. Зима

ВЛИЯНИЕ СОХРАНЯЕМОГО ПРОТЕИНА КОНСКИХ БОБОВ И МОЧЕВИНЫ В КОРМОВОМ РАЦИОНЕ НА КАРТИНУ АЗОТНЫХ ФРАКЦИЙ В СОДЕРЖИМОМ СЫЧУГА ЯГНЯТ

Резюме

Исследовали картину азотных фракций содержимого сычуга ягнят кормимых опытными кормосмесями (I, II, III, IV), в которых главным источником азота (50% общего азота рациона) составляли соответственно дерть семян конских бобов, дерть семян конских бобов подвергнутая действию муравьиного альдегида, дерть семян конских бобов + мочевины (25 + 25%) и дерть семян конских бобов подвергнутая действию муравьиного альдегида + мочевины (25 + 25%). Наличие сохраняемого протеина в опытных кормосмесях (II и IV) способствовало повышению содержания общего и протеинового азота и азота микробиологического происхождения в содержимом сычуга. Сравнение показателей относительного участия отдельных азотных фракций в содержимом сычуга ягнят кормимых кормосмесями I и II, свидетельствовало в пользу эффективности химической охраны протеина. У животных кормимых опытными кормосмесями содержащими мочевины (III и IV) усиленная подача микробиологического протеина из рубца нивелировала различия между величинами относительного участия азотных фракций в содержимом сычуга. Наличие сохраняемого протеина и мочевины в кормосмеси IV обеспечивало оптимальные условия для процесса микробиологического синтеза протеина в рубце, а также поступление высоких количеств протеинового азота в сычуг. Полученные результаты, отражающие лишь взаимоотношения азотных фракций проходящих через сычуг, требуют подтверждения в исследованиях охватывающих измерения суточного прохода через сычуг или двенадцатиперстную кишку.

P. Pisulewski, A. Antoniewicz, J. Zima

EFFECT OF FORMALDEHYDE-TREATED FIELD BEAN PROTEIN AND UREA
IN THE DIET ON ABOMASAL NITROGEN DISTRIBUTION

S u m m a r y

The abomasal nitrogen distribution in lambs fed four (I, II, III, IV) experimental diets was investigated. The main nitrogen sources (50% of total N) in diets were as follows: field bean, formaldehyde-treated field bean, field bean + urea (25 + 25%) and formaldehyde-treated field bean + urea (25 + 25%). The diets containing formaldehyde-treated field bean (II and IV) increased the total N, protein N and microbial N contribution to abomasal digesta. Feeding non-protected and protected protein in diets I and II led to changes in proportions of dietary and microbial nitrogen contributions to the abomasal digesta and indicated the effectiveness of formaldehyde treatment. In animals fed urea diets (III and IV) the enhanced microbial protein synthesis had levelling effect on abomasal nitrogen distribution in relative proportions. The diet containing protected protein and urea (IV) provided optimal conditions for microbial protein synthesis and for protein supply to lower parts of digestive tract. The data obtained reflected only the flow of abomasal nitrogen fractions. It appears that these findings have to be confirmed in quantitative estimation of the flow through abomasum or duodenum.