

BADANIA NAD PROTEOLIZĄ I DEZAMINACJĄ BIAŁEK NIEKTÓRYCH PASZ TREŚCIWYCH STOSOWANYCH W ŻYWIENIU PRZEŻUWACZY

TERESA ZEBROWSKA

Katedra Żywienia Zwierząt WSR w Olsztynie
Kierownik: prof. dr J. Dubiski

Z bogatej literatury dotyczącej metabolizmu białka u przeżuwaczy wiadomo, że białko podane zwierzętom ulega w żwaczu daleko idącej hydrolizie do związków azotowych niebiałkowych, a mianowicie peptydów, aminokwasów i amoniaku (1, 2, 15, 17, 18).

Tempo hydrolizy i ilość powstających związków azotowych niebiałkowych zależy, między innymi, od rodzaju podanego białka i jego rozpuszczalności w płynnej treści żwacza. I tak np. Mc Donald i Hall (18) wykazali, że około 90% łatwo rozpuszczalnego białka kazeiny w krótkim czasie jest rozkładane w żwaczu do amoniaku. Również mączka arachidowa jest źródłem wysokiego poziomu amoniaku w żwaczu (2), natomiast mączka śledziowa i zeina tylko w nieznacznym stopniu ulegają procesom proteolizy i dezaminacji, powodując minimalną produkcję amoniaku.

Ocenę stopnia proteolizy i dezaminacji białka w żwaczu przeprowadza się najczęściej na podstawie poziomu amoniaku w treści żwacza, poziomu amoniaku w surowicy krwi i bilansu azotu. Te obserwacje nie dają jednak pełnego obrazu przemian związków azotowych zachodzących w żwaczu. Moore i King (19) zalecają oznaczanie dynamiki przemian azotu ogólnego, białkowego oraz frakcji azotu niebiałkowego w treści żwacza dla uzyskania pełniejszego obrazu przemian tego składnika.

Annison (1), Blackburn i Hobson (4) oraz Gutowski i wsp. (7, 8, 9, 10) stwierdzili okresowe podnoszenie się poziomu azotu ogólnego, białkowego i niebiałkowego w płynnej treści żwacza po podaniu karmy. Poziom tych frakcji azotu może się wahać w dość szerokich granicach, w zależności od rodzaju podanego białka i czasu po nakarmieniu. Annison (1) wykazał, że w płynnej treści żwacza występują zawsze dające się oznaczyć ilości azotu aminowego i peptydowego, a ich koncentracja zależy od czasu i rodzaju podanego białka. Pomiedzy poszczególnymi frakcjami azotu, znajdującymi się w płynnej treści żwacza

zachodzą pewne zależności. Annison (1) oraz Gutowski i wsp. (7, 8, 9) stwierdzili zbieżność szczytów koncentracji azotu ogólnego, białkowego, aminowego i amoniakalnego. Natomiast Blackburn i Hobson (4) przy zastosowaniu diety z kazeiną jako źródłem białka nie uzyskali zbiegających się szczytów koncentracji azotu niebiałkowego i amoniaku.

Badania Warnera, Lewisa (15, 21) i innych wykazały, że bezpośrednim źródłem amoniaku w zwacu są wolne aminokwasy, powstające dzięki procesom proteolizy. Chalmers i Synge (21) zaobserwowali przejściowe podniesienie się niskiej koncentracji wolnych aminokwasów zawsze znajdujących się w zwacu, wówczas gdy produkcja amoniaku osiągnęła swój punkt szczytowy po pobraniu przez zwierzęta wysokobiałkowej paszy. Lewis (15), analizując płynną treść zwacza owiec na diecie z kazeiną i sianem, stwierdził występowanie 9 wolnych aminokwasów, a mianowicie: seryny, leucyny, proliny, kwasu glutaminowego, glicyny, alaniny, waliny, metioniny i histydyny. Zaobserwował on występowanie większych ilości wolnych aminokwasów u zwierząt po karmieniu niż na czczo. Większe ilości aminokwasów stwierdził on u zwierząt otrzymujących dietę z kazeiną, niż u zwierząt żywionych sianem. Również Annison (1) posługując się chromatografią bibułową oznaczył w płynnej treści zwacza 9 wolnych aminokwasów. Gutowski i wsp. (7, 8, 9, 10), analizując treść zwacza jałówek żywionych mieszanką pasz treściwych, zidentyfikowali 12 wolnych aminokwasów, zaś przy żywieniu lucerną 7 aminokwasów. Nie zaobserwowali oni przy tym stałych zależności koncentracji wolnych aminokwasów od czasu pobrania próbki do badań.

Większość znanych i cytowanych prac dotyczących przemian związków azotowych w zwacu była przeprowadzana przy użyciu takich białek, jak kazeina, zeina lub mączka śledziowa. Mało jest stosunkowo danych dotyczących przemian i wartości pokarmowej białka pasz treściwych powszechnie stosowanych w żywieniu przeżuwaczy. Wydawało się więc celowe przeprowadzenie badań nad proteolizą i dezaminacją białek pasz treściwych najczęściej stosowanych w żywieniu przeżuwaczy w naszych warunkach, a mianowicie makucha lnianego, śrut pokstrakcyjnych lnianej, sojowej i rzepakowej.

BADANIA WŁASNE

Układ doświadczenia

Doświadczenie przeprowadzono na dorosłych skopach rasy — długowłnista owca polska, z założonymi stałymi przetokami do zwacza. Jednocześnie do doświadczenia używano dwóch skopów. Zwierzęta przebywały

w klatkach metabolicznych, dostosowanych do ilościowego zbierania kału i moczu*.

Skopy żywione były dietami składającymi się ze słomy żytniej, skrobi pszennej, cukru, mieszanki mineralnej wg Mc Donald'a (17), witamin A + D oraz badanej paszy treściwej. Ilość poszczególnych komponentów dobierano w ten sposób, aby we wszystkich doświadczeniach zwierzęta otrzymywały podobne ilości składników pokarmowych, pokrywających zapotrzebowanie na białko i jednostki pokarmowe.

Dobowo skopy otrzymywały następujące ilości pasz:

Doświadczenie 1. 500 g słomy żytniej
 300 g makucha lnianego
 200 g skrobi pszennej
 120 g cukru
 30 g mieszanki mineralnej

Doświadczenie 2. 500 g słomy żytniej
 260 g śruty lnianej
 200 g skrobi pszennej
 100 g cukru
 30 g mieszanki mineralnej

Doświadczenie 3. 500 g słomy żytniej
 170 g śruty sojowej
 200 g skrobi pszennej
 100 g cukru
 30 g mieszanki mineralnej

Doświadczenie 4. 500 g słomy żytniej
 250 g śruty rzepakowej
 220 g skrobi pszennej
 100 g cukru
 30 g mieszanki mineralnej

Zwierzęta karmione były raz dziennie o godz. 8.00 rano. Pasze podawano w postaci wilgotnej. W tym celu mieszankę treściwą mieszano z 1 litrem wody i tak przygotowaną papką dokładnie zwilżano sieczkę ze słomy żytniej. Pasze zadawane w tej postaci zwierzęta zjadały szybciej. Wodę podawano do woli w godzinach od 17.30—8.00. Ilość pobranej wody była kontrolowana.

Każde doświadczenie trwało 20 dni i składało się z okresu wstępnego (10 dni) i właściwego doświadczenia (pozostałe 10 dni). W okresie właściwym zbierano ilościowo kał oraz mocz.

Próbki treści żwacza pobierano przez przetokę 6, 8 i 10 dnia okresu

* Panu Docentowi dr Tadeuszowi Krzymowskiemu składam serdeczne podziękowanie za wprowadzenie mnie w operacyjną technikę zakładania przetok.

właściwego. Próbki pobierane były przed karmieniem oraz w 2, 4, 6 i 8 godzin po zadaniu paszy. Bezpośrednio po pobraniu próbek treści żwacza oznaczano pH przy pomocy pehametru Moskip-P4. Resztę pobranej próbki w ilości około 150 ml sączono przez dwie warstwy gazy chirurgicznej. W tak otrzymanym płynie oznaczono azot ogólny metodą Kjeldahla, azot białkowy metodą Barnsteina, azot — NH_3 metodą Conwaya, azot aminowy metodą Pope Stevensa oraz wolne aminokwasy metodą elektroforezy wysokonapięciowej.

Próbki do oznaczania azotu aminowego i wolnych aminokwasów były przygotowywane w następujący sposób: 100 ml płynnej treści żwacza zadawano 240 ml absolutnego etanolu i odstawiano na 12 godzin. Wytrącony osad odsączano przez twardą bibułę filtracyjną. Otrzymany klarowny płyn zagęszczano w kolbie Claysena do sucha, rozpuszczano w 30 ml 75% etanolu i pozostawiano przez 24 godziny w temp. -2°C . Wytrącony osad odwirowywano, a płyn odparowywano i rozpuszczano w 2,5 ml 10% izopropanolu. 1 ml tak przygotowanego roztworu odpowiadał 40 ml płynnej treści żwacza.

Jednocześnie z podaniem karmy wkładano przez przetokę do żwacza cztery woreczki z gęstej gazy młyńskiej ze znaną ilością badanej paszy treściwej. Przy pobieraniu próbek treści żwacza woreczki wyjmowano, dokładnie płukano w wodzie, suszono i ważono. W pozostałości oznaczano azot ogólny.

WYNIKI DOŚWIADCZENIA

Skład chemiczny pasz

W badanych paszach zostały oznaczone podstawowe składniki pokarmowe, azot rozpuszczalny w wodzie, w 10% NaCl, w 5% NaOH oraz wolne aminokwasy. Wyniki analiz podane są w tabelach 1, 2 i 3.

Z danych w tabeli 2 widać dość wyraźne różnice w ilości azotu rozpuszczalnego w wodzie. Najniższe wartości otrzymano dla śruty lnianej — 17,7% i makuchu lnianego — 19,2%, wyższe dla śruty sojowej — 25,9% i najwyższe dla śruty rzepakowej — 31,7%.

Tabela 3 podaje zawartość wolnych aminokwasów w wyciągu alkoholowym badanych pasz. Główną pozycję dla wszystkich pasz stanowią kwas asparaginowy i glutaminowy oraz arginina i alanina. Wolnego kwasu asparaginowego w makuchu lnianym oznaczono 56,6 mg, w śrucie rzepakowej 118,18 mg. Kwasu glutaminowego najwięcej znaleziono w mączce sojowej, najmniej w makuchu lnianym. Zawartość wolnej argininy w śrucie sojowej wynosiła 186,58 mg, w śrucie rzepakowej 43,74 mg, w śrucie lnianej 48,83 mg i makuchu lnianym 86,08 mg.

Suma wolnych aminokwasów w makuchu i śrucie lnianej jest zbliżona i wynosi odpowiednio 447,98 i 447,2 mg, w śrucie sojowej 543,97 mg

Tabela 1

Skład chemiczny paszy (w procentach)

Pasza	Sucha masa	Popiół surowy	Białko surowe	Białko wiążące	Tłuszcz surowy	Włókno surowe	Bezazotowe wyciągowe
Słoma żytnia	85,03	3,87	5,59	4,71	1,11	39,28	35,18
Makuch lniany	89,68	12,88	28,62	25,45	8,21	7,78	32,19
Śruta sojowa	88,50	5,42	46,74	41,80	1,26	6,32	28,76
Śruta rzepakowa	88,24	7,60	37,46	30,43	1,57	9,93	31,68
Śruta lniana	90,25	7,30	33,56	31,31	1,34	9,09	38,96

Tabela 2

Zawartość azotu rozpuszczalnego (w procentach N ogólnego)

Pasza	Azot rozpuszczalny		
	w H ₂ O	w 10% NaOH	w 5% NaCl
Śruta lniana	19,2	32,7	44,1
Makuch lniany	17,7	28,3	46,1
Śruta rzepakowa	31,7	28,7	36,8
Śruta sojowa	25,9	26,1	39,1

Tabela 3

Zawartość aminokwasów w wyciągu alkoholowym
(μ g aminokwasu przy 16 g N)

Lp.		Makuch lniany	Śruta lniana	Śruta sojowa	Śruta rzepakowa
	Procentowa zawartość N	4,58	5,37	7,49	5,99
1	Kwas asparaginowy	56,64	89,85	98,71	118,18
2	„ glutaminowy	80,80	92,00	105,30	94,78
3	Histydyna	25,18	43,03	49,33	7,70
4	Arginina	86,08	48,83	186,58	43,74
5	Lizyna	25,31	36,00	15,47	25,80
6	Glicyna	17,48	6,17	6,62	8,29
7	Alanina	40,90	48,95	20,23	46,12
8	Treonina	17,83	15,52	2,35	16,49
9	Cystyna	—	—	5,34	—
10	Leucyna	17,48	7,46	9,46	10,02
11	Fenylalanina	23,07	7,70	—	14,97
12	Prolina	31,64	27,01	19,23	72,59
13	Tyrozyna	—	5,37	15,59	—
14	Seryna	13,98	5,97	4,27	12,03
15	Walina	11,60	13,34	5,49	17,11
	S u m a	447,98	447,20	543,97	487,82

i śrucie rzepakowej 487,82 mg. Wszystkie podane wartości odnoszą się do 100 g białka. Skład aminokwasowy pasz będących przedmiotem doświadczenia został podany w poprzednim doniesieniu (22).

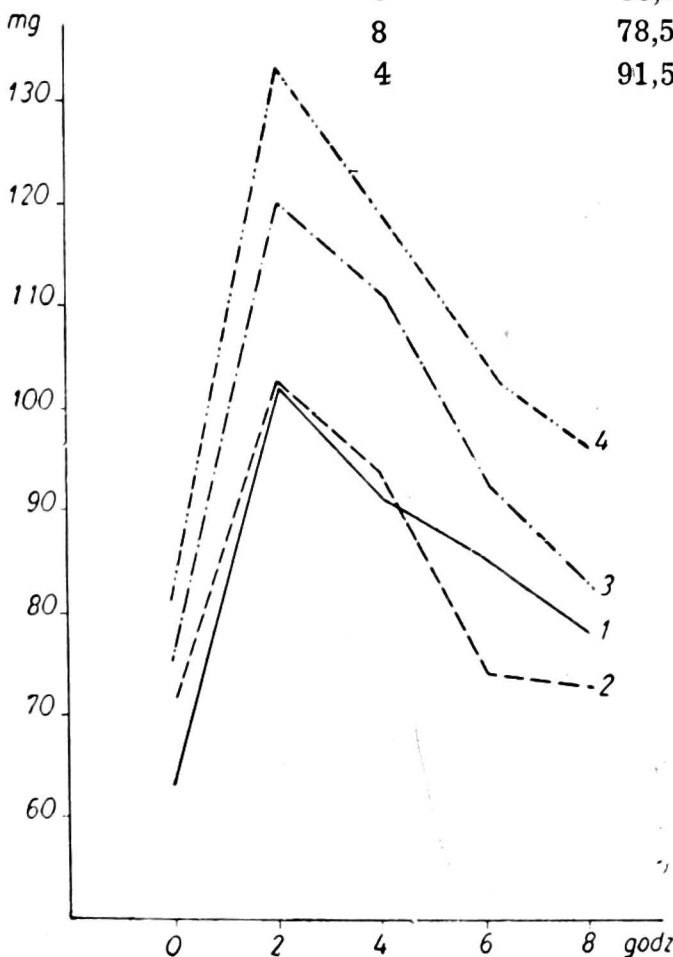
Poziom frakcji azotu w płynnej treści zwacza
w różnym czasie po karmieniu

1. Poziom azotu ogólnego

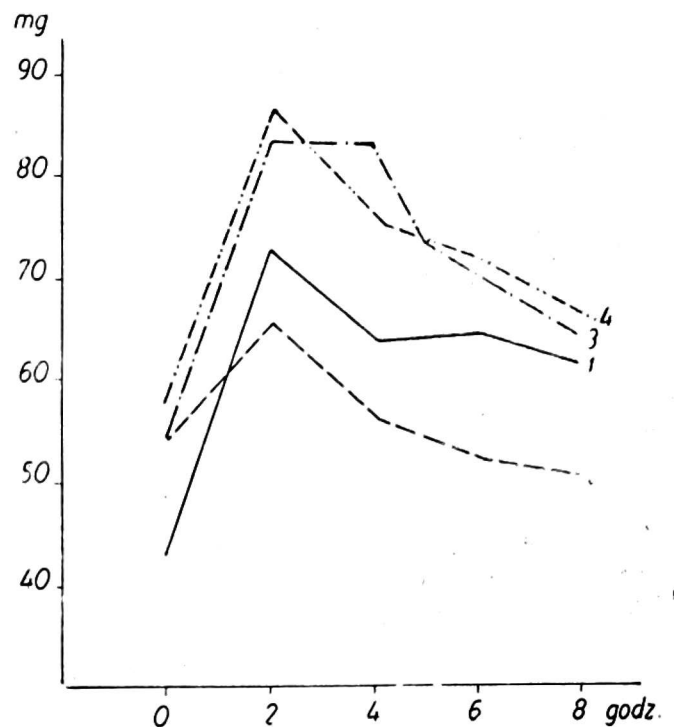
W tabeli 4 i na rys. 1 podana jest zawartość N ogólnego w płynnej treści zwacza w różnym czasie po karmieniu, przy żywieniu zwierząt badanymi dietami. Wyniki podane są w mg N w 100 ml płynnej treści

Tabela 4
Poziom azotu ogólnego w płynnej treści zwacza
(mg/100 ml)

Godziny po karmieniu	Pasza			
	makuch lniany	śruta lniana	śruta sojowa	śruta rzepa- kowa
0	63,5	71,5	75,5	81,5
2	102,5	102,5	120,0	133,0
6	85,5	74,5	93,5	104,5
8	78,5	73,0	83,0	96,0
4	91,5	93,5	111,5	119,5



Rys. 1. Poziom azotu ogólnego w płynnej treści zwacza (mg/100 ml):



Rys. 2. Poziom azotu białkowego w płynnej treści zwacza (mg/100 ml):

1 — makuch lniany, 2 — śruta lniana, 3 — śruta sojowa, 4 — śruta rzepakowa

Tabela 5

Poziom azotu białkowego w płynnej treści zważca
(mg/100 ml)

Godziny po karmieniu	Pasza			
	makuch lniany	śruta lniana	śruta sojowa	śruta rzepakowa
0	43,5	54,5	54,5	58,0
2	72,5	66,0	83,5	86,5
4	64,0	56,5	83,5	77,0
6	65,0	52,5	73,5	72,5
8	62,0	50,5	65,0	67,0

zważca. Z podanych wyników widać znaczne różnice w koncentracji N ogólnego, zarówno w zależności od czasu, jak i źródła białka. We wszystkich doświadczeniach przed podaniem karmy poziom azotu ogólnego był niski i wynosił 63,5 mg w doświadczeniu z makuchem lnianym, 71,7 mg w doświadczeniu ze śrutą lnianą, 75,5 mg w doświadczeniu ze śrutą sojową i 81,5 mg w doświadczeniu ze śrutą rzepakową. W dwie godziny po karmieniu zawartość N ogólnego znacznie się powiększyła, zaznaczyły się przy tym wyraźnie różnice dla poszczególnych diet. Najniższa koncentracja N ogólnego wystąpiła na dietach z makuchem lnianym i śrutą lnianą i wynosiła 102,5 mg, na diecie ze śrutą sojową 120 mg i na diecie ze śrutą rzepakową 133 mg, czyli o 30,5 mg N więcej niż w doświadczeniu z makuchem i śrutą lnianą. Podczas następnych dwóch godzin zawartość azotu ogólnego obniżyła się najwyraźniej na dietach z makuchem lnianym i śrutą rzepakową. Po 6 godzinach zawartość N ogólnego wynosiła przy żywieniu makuchem lnianym 85,5, śrutą lnianą 74,5, śrutą sojową 93,5 i śrutą rzepakową 104,5 mg N w 100 ml płynnej treści zważca. A więc poziom N ogólnego na dietach ze śrutą sojową i rzepakową był w dalszym ciągu wyższy niż dla diet z makuchem lnianym i śrutą lnianą. Między godziną 6.00 i 8.00 obniżenie zawartości N ogólnego było nieznaczne, najmniejsze na diecie ze śrutą lnianą.

2. Poziom azotu białkowego

Zawartość azotu białkowego podana jest w tabeli 5 i na rys. 2. Zawartość azotu białkowego w płynnej treści zważca jest znacznie niższa niż azotu ogólnego, a zmiany w zawartości tej frakcji są mniej gwałtowne. Przed podaniem karmy w 100 ml płynnej treści zważca znajdowało się około 54 mg N białkowego. Po dwóch godzinach poziom N białkowego wzrósł do 72,5 mg w doświadczeniu z makuchem lnianym, osiągnął poziom 66 mg w doświadczeniu ze śrutą lnianą, 83,5 mg na diecie ze śrutą sojową i 86,5 mg w doświadczeniu ze śrutą rzepakową. Po 4, 6 i 8 godzi-

nach nastąpiło stopniowe obniżanie się N białkowego w płynnej treści żwacza. Obniżenie koncentracji było nieznaczne na diecie z makuchem lnianym, natomiast wyraźne na pozostałych dietach. Ogólnie zwraca uwagę niski poziom azotu białkowego na diecie ze śrutą lnianą.

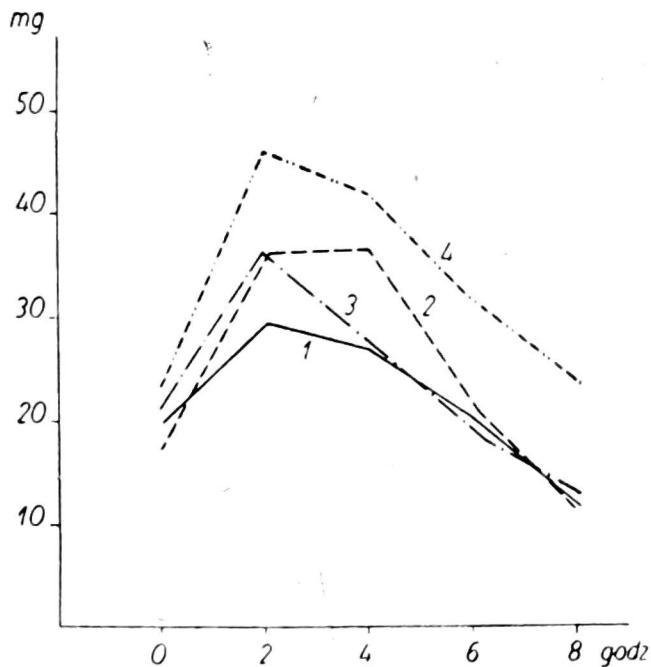
3. Zawartość azotu niebiałkowego

Z różnicy N ogólnego i N białkowego obliczona została zawartość azotu niebiałkowego w płynnej treści żwacza. Otrzymane wyniki podane są w tabeli 6. Ta frakcja azotu obejmuje przede wszystkim N am-

Tabela 6

Poziom azotu niebiałkowego w płynnej treści żwacza
(mg/100 ml)

Godziny po karmieniu	Pasza			
	makuch lniany	sruta lniana	śruta sojowa	śruta rzepakowa
0	20,0	17,0	21,0	23,5
2	30,0	36,5	36,5	46,5
4	27,5	37,0	28,0	42,5
6	20,5	22,0	20,0	32,0
8	17,50	17,0	18,0	29,0



Rys. 3. Poziom azotu niebiałkowego w płynnej treści żwacza (mg/100 ml)
1 — makuch lniany, 2 — śruta lniana, 3 — śruta sojowa, 4 — śruta rzepakowa

niakalny (N—NH₃) oraz azot peptydów i wolnych aminokwasów. Krzywe koncentracji azotu niebiałkowego (rys. 3) przebiegają analogicznie do krzywych dla azotu ogólnego i białkowego; osiągają swój szczyt po dwóch godzinach od czasu pobrania paszy i następnie dość wyraźnie obniżają się. Jedynie na diecie ze śrutą lnianą szczyt koncentracji N nie-

białkowego wystąpił dopiero po 4 godzinach. Najwyższą koncentrację N niebiałkowego stwierdzono na diecie ze śrutą lnianą i rzepakową, nieco niższą na diecie ze śrutą sojową i najniższą dla makucha lnianego.

4. Zawartość N—NH₃

Poziom N—NH₃ w płynnej treści żwacza w różnym czasie po podaniu zwierzętom badanych diet jest podany w tabeli 7 i na rys. 4. Podane wyniki wskazują na znaczne różnice w stopniu dezaminacji białek badanych pasz. Najniższy poziom amoniaku stwierdzono przy skarmianiu makucha lnianego, zbliżone wyniki uzyskano dla śruty lnianej i sojowej,

Tabela 7

Poziom azotu amoniakalnego (N-NH₃) w płynnej treści żwacza (mg/100 ml)

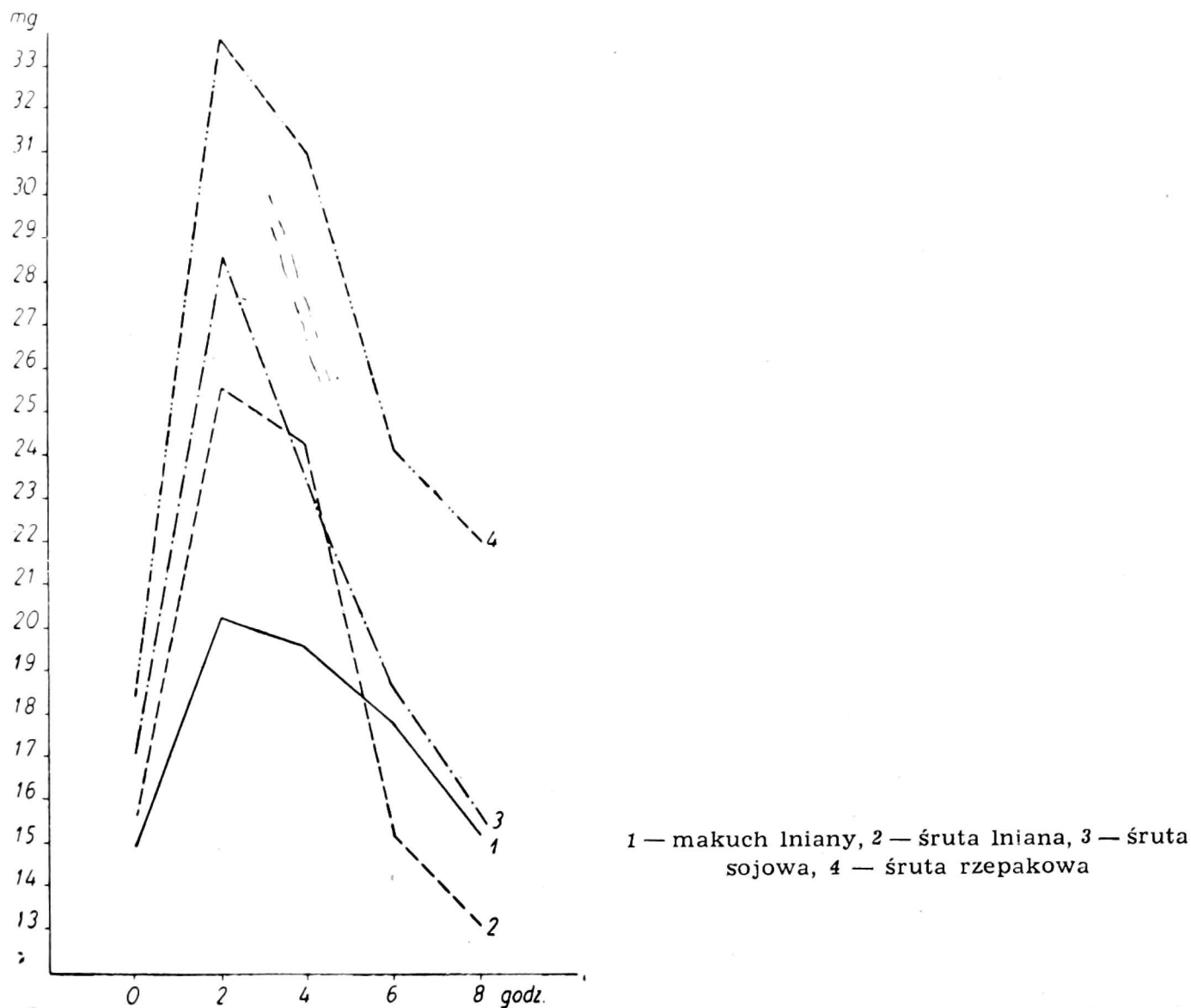
Godziny po karmieniu	Pasza			
	makuch lniany	śruta lniana	śruta sojowa	śruta rzepakowa
0	14,87	15,61	17,09	18,35
2	20,30	25,66	28,61	33,70
4	19,57	24,34	23,97	30,97
6	17,81	15,34	18,56	24,27
8	15,23	13,01	15,73	22,15

natomiast najwyższe na diecie ze śrutą rzepakową. Szczytowa koncentracja amoniaku uzyskana po 2 godzinach wynosiła 20,3 mg dla makucha lnianego, 25,66 mg dla śruty lnianej, 28,61 mg dla śruty sojowej i 33,7 mg N—NH₃ w 100 ml płynnej treści żwacza dla śruty rzepakowej. W doświadczeniu z makuchem lnianym i śrutą sojową koncentracja amoniaku była wyższa od poziomu wyjściowego przez 6 godzin po karmieniu, w doświadczeniu ze śrutą rzepakową po 8 godzinach poziom NH₃ jest jeszcze wyższy od zawartości tego składnika u zwierząt na czczo.

5. Wolne aminokwasy

W płynnej treści żwacza owiec żywionych badanymi paszami zidentyfikowano 16 wolnych aminokwasów, z których 12 oznaczono ilościowo. Aminokwasy kwaśne — kwas asparaginowy i glutaminowy — występowały we wszystkich badanych próbkach w ilościach większych niż pozostałe aminokwasy. Z grupy aminokwasów zasadowych znaleziono tylko lizynę. Najliczniejszą grupę oznaczonych aminokwasów stanowiły aminokwasy obojętne, a mianowicie: glicyna, alanina, seryna, treonina, tyrozyna, leucyna, walina, fenyloalanina, cytrulina, kwas α i γ aminomasłowy

oraz prolina. Kwasu α i γ aminomasłowego nie oznaczono ilościowo z powodu braku odpowiedniej ilości roztworów standardowych. Zawartość wolnych aminokwasów podana jest w μg na 100 ml płynnej treści żwacza.



Rys. 4. Poziom azotu amoniakalnego (N-NH₃) w płynnej treści żwacza (mg/100 ml)

Analizując poziom poszczególnych wolnych aminokwasów w różnym czasie po karmieniu, stwierdzono wyraźne różnice w ich występowaniu: przed podaniem karmy zawartość aminokwasów była niska, natomiast po karmieniu ilość wszystkich oznaczonych wolnych aminokwasów znacznie powiększyła się. Szczególnie duże różnice występują w zawartości kwasu asparaginowego i glutaminowego. W doświadczeniu z makuchem lnianym ilość kwasu asparaginowego u zwierząt na czczo wynosiła 116 μg , natomiast po 2 godzinach wzrosła do 534 μg ; odpowiednie wartości dla kwasu glutaminowego wynoszą 142 i 501 μg . Poziom glicyny, alaniny, seryny, treoniny, tyrozyny, leucyny i waliny wzrasta dwu- i trzykrotnie. W doświadczeniu z makuchem lnianym przed karmieniem

Tabela 8

Zawartość wolnych aminokwasów w płynnej treści żwacza na d'ecie z makuchem lnianym ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)

Lp.		Godziny po karmieniu				
		0	2	4	6	8
1	Kwas asparaginowy	116	534	390	269	124
2	Kwas glutaminowy	142	501	424	246	145
3	Lizyna		ś l a d y			
4	Glicyna	125	318	158	79	83
5	Alanina	125	310	236	87	78
6	Seryna	148	283	161	98	66
7	Treonina	146	232	180	131	120
8	Tyrozyna	72	212	134	35	47
9	Leucyna	124	310	238	57	70
10	Walina	108	303	223	85	63
11	Fenylalanina	—	50	31	—	—
12	Cystyna	—	54	33	20	—
13	Cytrulina	—	44	93	—	—
14	Kwas α -aminomasłowy		nie oznaczony ilościowo			
15	Kwas γ -aminomasłowy	”	”	”	”	”
16	Prolina		ś l a d y			
	S u m a	1106	3151	2301	1107	796

Tabela 9

Zawartość wolnych aminokwasów w płynnej treści żwacza na diecie ze śrutą lnianą ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)

Lp.		Godziny po karmieniu				
		0	2	4	6	8
1	Kwas asparaginowy	170	1174	932	307	175
2	Kwas glutaminowy	134	1298	1009	1026	247
3	Lizyna	—	31	ś l a d y		5
4	Glicyna	54	433	159	77	68
5	Alanina	86	349	228	91	30
6	Seryna	83	193	118	97	90
7	Treonina	114	282	152	146	97
8	Tyrozyna	—	165	78	—	—
9	Leucyna	54	124	82	35	45
10	Walina	50	193	120	50	79
11	Fenylalanina		ś l a d y			
12	Cystyna	—	31	—	—	—
13	Cytrulina	25	113	23	46	15
14	Kwas α -aminomasłowy		nie oznaczony ilościowo			
15	Kwas γ -aminomasłowy	”	”	”	”	”
16	Prolina		ś l a d y			
	S u m a	770	4386	2901	1875	851

Tabela 10

Zawartość wolnych aminokwasów w płynnej treści żwacza na diecie ze śrutą sojową ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)

Lp.		Godziny po karmieniu				
		0	2	4	6	8
1	Kwas asparaginowy	147	1145	1068	461	172
2	Kwas glutaminowy	182	1325	1127	596	242
3	Lizyna			ś l a d y		
4	Glicyna	34	277	180	59	77
5	Alanina	62	266	200	102	95
6	Seryna	101	247	134	82	87
7	Treonina	68	305	276	179	107
8	Tyrozyna	6	122	60	—	—
9	Leucyna	76	287	232	129	83
10	Walina	64	240	180	129	55
11	Fenylalanina	6	72	59	15	—
12	Cystyna	9	40	51	12	—
13	Cytrulina	39	92	35	51	21
14	Kwas α -aminomasłowy		nie oznaczony ilościowo			
15	Kwas γ -aminomasłowy		„	„	„	—
16	Prolina	10	42	—	18	—
	S u m a	804	4460	3602	1833	959

Tabela 11

Zawartość wolnych aminokwasów w płynnej treści żwacza na diecie ze śrutą rzepakową ($\mu\text{g} 100 \text{ ml}$)

Lp.		Godziny po karmieniu				
		0	2	4	6	8
1	Kwas asparaginowy	315	1660	1469	1404	374
2	Kwas glutaminowy	630	1534	1441	1083	483
3	Lizyna			ś l a d y		
4	Glicyna	50	339	280	216	175
5	Alanina	83	336	258	246	133
6	Seryna	111	227	225	227	160
7	Treonina	62	464	227	210	153
8	Tyrozyna	—	276	95	—	—
9	Leucyna	74	311	182	169	124
10	Walina	67	250	236	124	67
11	Fenylalanina			ś l a d y		
12	Cystyna	—	22	—	—	—
13	Cytrulina	15	50	26	26	30
14	Kwas α -aminomasłowy		nie oznaczony ilościowo			
15	Kwas γ -aminomasłowy		„	„	„	—
16	Prolina			ś l a d y		
	S u m a	1407	5469	4439	3711	1699

nie stwierdzono obecności fenyloalaniny, cystyny, cytruliny, kwasu α i γ aminomasłowego, natomiast po 2 godzinach plamy tych aminokwasów wystąpiły wyraźnie. Po 4 godzinach zawartość wszystkich aminokwasów obniża się, z wyjątkiem cytruliny w doświadczeniu z makuchem lnianym. Koncentracja wolnych aminokwasów po 6 godzinach jest zbliżona do poziomu wyjściowego; zawartość niektórych aminokwasów jest niższa niż w próbkach pobieranych przed karmieniem. W czasie następnych dwóch godzin zawartość wolnych aminokwasów zmienia się nieznacznie.

Porównując zawartość wolnych aminokwasów w żwaczu zwierząt żywionych badanymi paszami stwierdzono, że na diecie z makuchem lnianym poziom wolnych aminokwasów był najniższy. Suma wolnych aminokwasów oznaczonych ilościowo wynosiła przed karmieniem 1,1 mg, po 2 godzinach 3,15 mg, po 4 godzinach 2,3 mg, po 6 godzinach 1,11 mg i po 8 godzinach 0,8 mg w 100 ml płynnej treści żwacza. W doświadczeniu ze śrutą lnianą stwierdzono wyższą zawartość wolnych aminokwasów, co zaznaczyło się przede wszystkim po 2 godzinach. Wyniki uzyskane ze śrutą sojową są zbliżone do wyników otrzymanych ze śruty lnianej, jednakże na tej ostatniej diecie stosunkowo wysoka zawartość wolnych aminokwasów utrzymuje się przez 4 godziny po karmieniu. Najwyższą koncentrację wolnych aminokwasów stwierdzono w doświadczeniu ze śrutą rzepakową, jako źródłem białka. Zaobserwowano szczególnie wysoką zawartość kwasu asparaginowego i glutaminowego. Wysoka koncentracja aminokwasów, poza tyrozyną i cystyną, utrzymuje się przez 6 godzin po pobraniu karmy przez zwierzęta. Suma wolnych aminokwasów, oznaczonych ilościowo w tym doświadczeniu wynosiła przed karmieniem 1,4 mg, po dwóch godzinach 5,45 mg, po 4 godzinach 4,44 mg, po 6 godzinach 3,71 i po 8 godzinach 1,7 mg w 100 ml płynnej treści żwacza. Szczególnie interesujące wydaje się występowanie cytruliny oraz kwasów α i γ aminomasłowego, aminokwasów tych bowiem nie znaleziono w badanych paszach.

Ogólnie należy stwierdzić, że zawartość wolnych aminokwasów w płynnej treści żwacza jest niska, jednak przy odpowiednim przygotowaniu próbek do analizy można je oznaczyć ilościowo. Zaobserwowano przy tym stałe zależności koncentracji wolnych aminokwasów od czasu pobrania próbek.

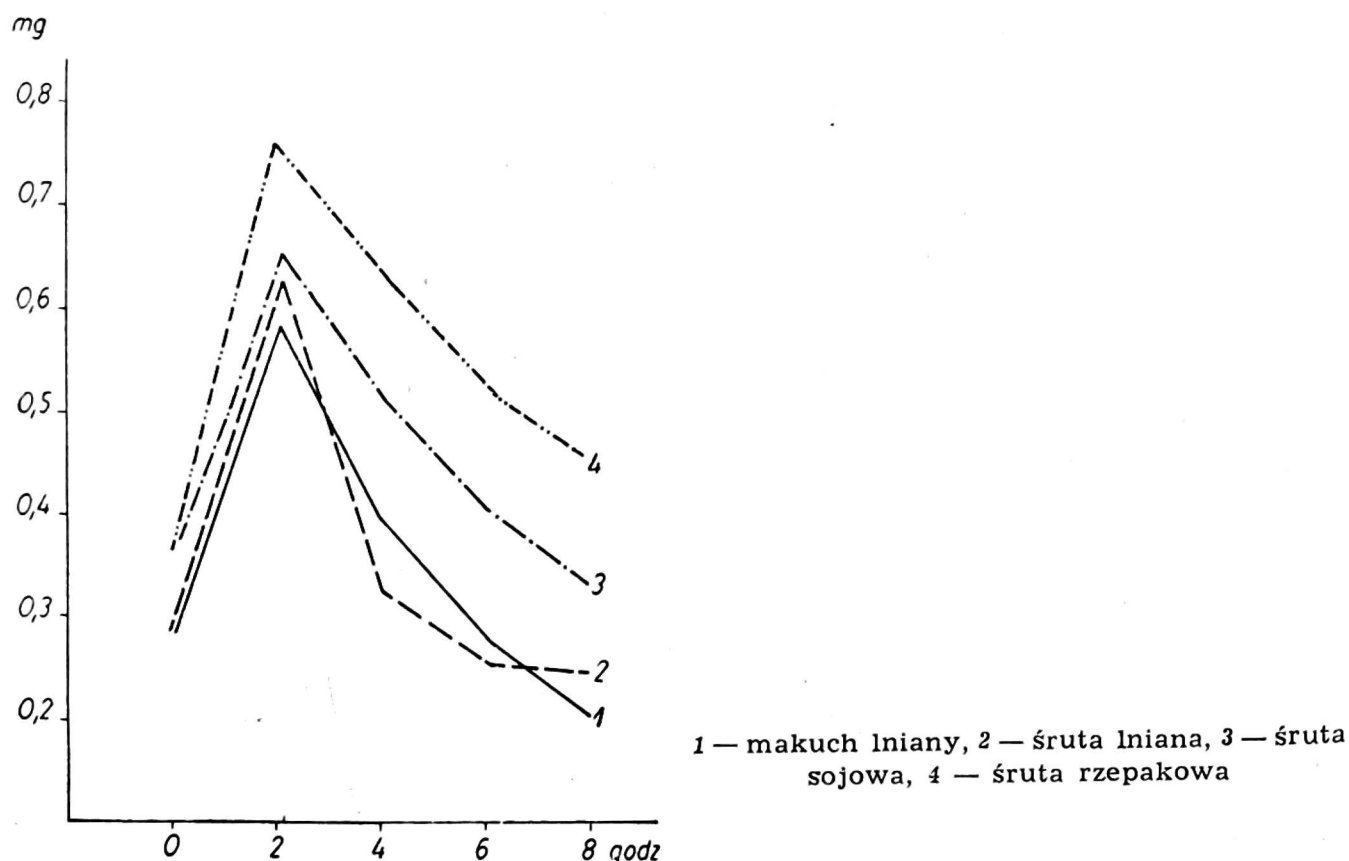
6. Poziom azotu aminowego

Zawartość azotu aminowego ($N-NH_2$) w płynnej treści żwacza podana jest w tabelach 12 i 13 oraz na rys. 5. Analizując wyniki podane w tabeli 12 należy stwierdzić, że zawartość azotu aminowego zmienia się w zależności od czasu pobrania próbki, a mianowicie początkowa niska

koncentracja tej frakcji azotu u zwierząt na czczo w ciągu następnych dwóch godzin po karmieniu znacznie się podnosi, po czym znów obniża w ciągu dalszych godzin po karmieniu. Wystąpiły również różnice między

Tabela 12
Poziom azotu aminowego w płynnej treści żwacza
(mg N/100 ml)

Godziny po karmieniu	Pasza			
	makuch lniany	śruta lniana	śruta sojowa	śruta rzepakowa
0	0,30	0,29	0,38	0,37
2	0,60	0,53	0,66	0,76
4	0,40	0,33	0,52	0,64
6	0,28	0,26	0,41	0,53
8	0,21	0,25	0,33	0,45



Rys. 5. Poziom azotu aminowego w płynnej treści żwacza (mg/100 ml)

dietami: najniższy poziom N aminowego stwierdzono na diecie ze śrutą i makuchem lnianym, najwyższy w doświadczeniu ze śrutą rzepakową.

W tabeli 13 podana jest ilość azotu aminowego obliczona z oznaczonych aminokwasów. Uzyskane wyniki są niższe niż podane w tabeli 12.

Tabela 13

Azot aminowy (N-NH₂) wyliczony z oznaczonych aminokwasów (mg N-NH₂/100 ml)

Godziny po karmieniu	Pasza			
	makuch lniany	śruta lniana	śruta sojowa	śruta rzepakowa
0	0,14	0,10	0,10	0,15
2	0,37	0,52	0,50	0,62
4	0,27	0,32	0,41	0,50
6	0,13	0,16	0,21	0,42
8	0,10	0,11	0,12	0,21

Szczególnie wyraźne różnice wystąpiły w próbkach pobranych przed podaniem karmy, jak również po 6 i 8 godzinach oraz we wszystkich próbkach w doświadczeniu z makuchem lnianym. W momencie szczytu koncentracji azotu aminowego, a więc po 2 i 4 godzinach, różnice w zawartości N aminowego oznaczonego i obliczonego z oznaczonych aminokwasów są niewielkie. Przyczyną występujących różnic może być to, że nie wszystkie zidentyfikowane aminokwasy zostały oznaczone ilościowo, jak również, że w treści żwacza występuje większa liczba aminokwasów, jednak w stężeniach tak małych, że nie można było ich oznaczyć ilościowo przy pomocy stosowanej metody.

7. Tempo hydrolizy białka w żwaczu

Pomocniczym wskaźnikiem określenia tempa hydrolizy białka w żwaczu było oznaczenie ubytku białka z badanych pasz, włożonych do żwacza w woreczkach z gęstej gazy młyńskiej. Woreczki z paszą pozostawały w żwaczu przez 2, 4, 6 i 8 godzin. Uzyskane wyniki podane są w tabeli 14. Z podanych wyników widać, że największy ubytek białka wystąpił w czasie pierwszych dwóch godzin inkubacji woreczka z paszą w żwaczu. Podczas następnych dwóch godzin ubytek białka jest nieznaczny. Po 6 godzinach ubytek białka ze śruty sojowej, lnianej i rzepakowej nieco wzrasta. Porównując ze sobą badane pasze można stwierdzić największy ubytek białka ze śruty sojowej i rzepakowej, znacznie mniejszy ze śruty lnianej i najmniejszy z makuchu lnianego.

8. Bilans azotu

Dobowa retencja azotu przy żywieniu zwierząt badanymi paszami podana jest w tabeli 15. Średnia dobowa retencja N dla owiec żywionych dietą z makuchem lnianym wynosi 4,77 g N, dla owiec żywionych śrutą rzepakową — 2,91 g N, na diecie ze śrutą sojową — 4,55 i ze śrutą lnianą — 4,8 g N. A więc dobowa retencja azotu uzyskana dla diet ze

Tabela 14

Ubytek białka z woreczków z badanymi paszami inkubowanymi w żwaczu (w procentach)

Godziny po karmieniu	Pasza			
	makuch lniany	śruta lniana	śruta sojowa	śruta rzepakowa
2	5,86	10,75	32,49	32,63
4	9,89	15,72	34,84	33,50
6	10,57	25,24	37,79	40,11
8	12,41	29,62	38,83	49,35

Tabela 15

Dobowa retencja azotu (w gramach)

		Makuch lniany		Śruta lniana		Śruta sojowa		Śruta rzepakowa	
		owca I	owca II	owca I	owca II	owca I	owca II	owca I	owca II
		Dzienna dawka azotu	w słomie	0,45	0,45	0,42	0,43	0,45	0,45
	w paszy badanej	13,74	13,74	13,96	13,96	12,72	12,72	14,97	14,97
	Razem	14,19	14,19	14,38	14,39	13,27	13,27	15,42	15,42
Dzienne wydalanie azotu	w kale	6,64	7,09	6,79	6,57	5,11	4,51	6,90	7,27
	w moczu	2,89	2,22	2,76	2,94	3,90	3,91	5,66	5,16
	Razem	9,53	9,31	9,55	9,51	9,01	8,42	12,56	12,43
Dobowa retencja N		4,66	4,88	4,83	4,78	4,26	4,85	2,86	2,95
Retencja N w % do N pobranego		32,84	34,39	34,70	33,24	32,10	36,54	18,54	19,13
N wydalony w moczu w % N pobranego		20,36	15,64	19,19	20,44	29,38	29,46	36,70	33,46

śrutą sojową, śrutą lnianą i makuchem lnianym była zbliżona. Najniższą retencję uzyskano dla diety ze śrutą rzepakową. Analogicznie przedstawia się wykorzystanie azotu.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Z przedstawionych wyników wyraźnie widać różnice w koncentracji badanych frakcji azotu w płynnej treści żwacza w zależności zarówno od czasu po karmieniu, jak i od źródła białka.

Zwiększenie zawartości azotu ogólnego w płynnej treści żwacza po podaniu paszy może być spowodowane wprowadzeniem wraz z nią pewnych ilości azotu rozpuszczalnego. Można byłoby w ten sposób wytłumaczyć różnice zaobserwowane w koncentracji N ogólnego w czasie dwóch pierwszych godzin po podaniu zwierzętom badanych pasz. Śruta rzepakowa i sojowa charakteryzowały się większą zawartością N rozpuszczalnego w wodzie niż śruta i makuch lniany. Zawartość N ogólnego w płynnej treści żwacza na dietach z tymi paszami jest również wyższa.

Podobne wyniki uzyskali Blackburn i Hobson (4) przy podawaniu skopom kazeiny o różnym stopniu rozpuszczalności. Obserwując jednak dalszy przebieg koncentracji N ogólnego na diecie ze śrutą rzepakową, widać, że wysoki poziom tej frakcji azotu utrzymuje się w czasie wszystkich pomiarów i jeszcze po 8 godzinach jest znacznie wyższy od poziomu N na pozostałych dietach. Również ilość białka, jaka ubyła z woreczków ze śruty rzepakowej inkubowanej w żwaczu w czasie następnych godzin po podaniu paszy, jest wysoka. Można byłoby sądzić, że białko śruty rzepakowej jest w czasie jej przebywania w żwaczu łatwiej hydrolizowane i przeprowadzane do postaci rozpuszczalnej niż białka pozostałych pasz. Potwierdzają to duże ilości pozostałych oznaczanych form azotu, a szczególnie azotu aminowego i amoniaku. Wysoka w porównaniu z innymi paszami koncentracja wolnych aminokwasów po 8 godzinach jest jeszcze wyższa niż w doświadczeniu ze śrutą sojową oraz makuchem i śrutą lnianą.

Najmniej podatnym na procesy hydrolizy w żwaczu okazało się białko makucha lnianego. Poziom N ogólnego, białkowego i niebiałkowego dla diety z tą paszą jest najniższy, co jest zgodne z ubytkiem białka z woreczka inkubowanego w żwaczu. Mimo zbliżonych wyników uzyskanych dla zawartości azotu ogólnego w płynnej treści żwacza przy skarmianiu śruty lnianej zaznaczyły się różnice w koncentracji N białkowego i niebiałkowego, a mianowicie niższy niż dla makucha lnianego poziom N białkowego i wyższy N niebiałkowego. Mogłoby to wskazywać na nieco intensywniejszy przebieg procesów proteolizy i dezaminacji białka śruty lnianej. Chalmers (16) w swoich badaniach nad wpływem sposobu przygotowywania paszy białkowej na tempo jej dezaminacji wykazała, że białko pasz poddanych działaniu wyższych temperatur jest w mniejszym stopniu hydrolizowane w żwaczu. Podobne wyniki uzyskał Jasirowski (12) przy skarmianiu siana i mączki z lucerny. Być może, że otrzymane w tych doświadczeniach różnice w ilości N aminowego i $N-NH_3$, występujące przy skarmianiu makuchu i śruty lnianej, wynikają z odmiennego sposobu otrzymywania tych pasz. Ponieważ jednak

badany makuch i śruta pochodziły z różnego surowca, a poza tym różniły się zawartością tłuszczu surowego, trudno jest definitywnie powiedzieć, co było zasadniczą przyczyną zaobserwowanych różnic.

Proteolityczny rozpad białka do wolnych aminokwasów zachodzi prawdopodobnie już w czasie pierwszych dwóch godzin po pobraniu paszy. Wskazywał na to wyraźny wzrost ilości wolnych aminokwasów po pobraniu przez zwierzęta badanych pasz. Interesujące są różnice w zawartości wolnych aminokwasów w paszach i treści żwacza. Najwięcej wolnych aminokwasów znajdowało się w śrucie sojowej, natomiast już po dwóch godzinach po pobraniu paszy znacznie więcej wolnych aminokwasów znaleziono w treści żwacza przy karmieniu śrutą rzepakową niż sojową. Podobnie, przy żywieniu śrutą i makuchem lniącym wystąpiły różnice w zawartości wolnych aminokwasów w żwaczu mimo braku tych różnic w paszach.

Przekonywające dowody proteolizy, jako pierwszego etapu rozpadu białka w żwaczu podał Annison (1). Podawał on zwierzętom białko nie zawierające wolnych aminokwasów i peptydów i stwierdził występowanie znacznych ilości N aminowego i peptydowego w płynnej treści żwacza w krótkim czasie po pobraniu paszy przez zwierzęta.

Interesujące są zależności pomiędzy frakcjami azotu niebiałkowego. Porównując krzywe zawartości N—NH₃ (rys. 4) i N aminowego (rys. 5) widać wyraźnie, że w pierwszym okresie po karmieniu występuje równoczesny wzrost zawartości N-NH₃ i N-aminowego. Wskazuje to na bardzo intensywny przebieg procesów proteolizy z równoczesnym występowaniem dezaminacji aminokwasów do NH₃, co jest zgodne z badaniami Annisona (1), Lewisa (15), Blackburna (3) i innych.

W oparciu o badania Annisona (1), Blackburna i Hobsona (4) należy sądzić, że występujące następnie obniżenie ilości wolnych aminokwasów może być wynikiem dezaminacji, lub też wykorzystaniem wolnych aminokwasów do syntezy białka bakteryjnego.

Amoniak powstały w wyniku dezaminacji, a nie wykorzystany przez mikroorganizmy jest wchłaniany przez śluzówkę żwacza do krwi i wydalany z organizmu w postaci mocznika. Porównując ilości azotu wydalonego w moczu u zwierząt żywionych badanymi paszami treściwymi należy stwierdzić, że przy podawaniu śruty rzepakowej ilość wydalanego azotu w moczu była znacznie wyższa niż przy żywieniu pozostałymi paszami, co znalazło swoje odbicie w zmniejszonej retencji azotu. Jest to zgodne z badaniami Mc Donalda (17), Chalmers i wsp. (5) oraz Jasińskiego (12, 13), którzy stwierdzili, że zwiększona koncentracja NH₃ w żwaczu powoduje obniżenie dobowej retencji azotu.

UZYSKANE WYNIKI I WNIOSKI

1. Zawartość azotu ogólnego, białkowego i niebiałkowego w płynnej treści żwacza zmienia się w zależności od upływu czasu po podaniu paszy.

2. Stwierdzono stałą zależność między poszczególnymi frakcjami azotu w płynnej treści żwacza.

3. Oznaczono 16 wolnych aminokwasów, a mianowicie: kwas asparaginowy, kwas glutaminowy, lizynę, glicynę, alaninę, serynę, treoninę, tyrozynę, leucynę, walinę, fenyloalaninę, cystynę, cytrulinę, kwas α i γ aminomasłowy oraz prolinę. Zaobserwowano stałe zależności koncentracji wolnych aminokwasów od czasu pobrania próbki.

4. Na podstawie oznaczonych frakcji azotu w płynnej treści żwacza stwierdzono:

a) niewielki stopień proteolizy i dezaminacji białka makucha lnianego i śruty lnianej w żwaczu owiec;

b) nieco wyższe wskaźniki przemian dla śruty sojowej;

c) wyraźnie wyższy stopień proteolizy i dezaminacji białka śruty rzepakowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Annison E. F., *Biochem. J.*, 64, 705 (1956).
2. Annison E. F., Chalmers M. J., Marshall S. B. M., Syngé R. L. M., *J. Agric. Sci.*, 44, 270 (1954).
3. Blackburn T. H., Hobson P. N., *J. Gen. Microbiol.*, 22, 290 (1960).
4. Blackburn T. H., Hobson P. N., *Brit. J. Nutr.*, 14, 445 (1960)
5. Chalmers M. J., Cuthbertson D. P., Syngé R. L. M., *J. Agric. Sci.*, 44, 254 (1954).
6. El-Shalzy K., *Biochem. J.*, 51, 640 (1952).
7. Gutowski B., Barej W., Temler A., Nowosielska I., *Acta physiol. pol.*, IX, 341 (1958).
8. Gutowski B., *Acta physiol. pol.*, XI, 105 (1960).
9. Gutowski B., Barej W., Temler A., Nowosielska I., *Acta physiol. pol.*, XI, 119 (1960).
10. Gutowski B., Temler A., Nowosielska I., *Acta physiol. pol.*, XI, 561 (1960).
11. Head M. J., *Proc. Nutr. Soc.*, 18, 108 (1958).
12. Jasiorski H., *Rocz-i Nauk Roln.*, 78-B, 205 (1961).
13. Jasiorski H., *Rocz-i Nauk Roln.*, 78-B 217 (1961).
14. Latteur J., *Rev.*, 7, 840 (1954).
15. Lewis D., *Brit. J. Nutr.*, 9, 215 (1955).
16. Lewis D., *Digestive physiology and nutrition of the ruminant*, London (1961).
17. McDonald I. W., *Biochem. J.*, 56, 120 (1954).
18. McDonald I. W., *Biochem. J.*, 67, 400 (1957)
19. Moore W. E. C., King K. W., *J. Dairy Sci.*, 41, 1451 (1958).
20. Sirotnak F. M., Doetsch R. N., Brown R. E., Shaw J. C., *J. Dairy Sci.*, 36, 1117 (1953).
21. Syngé R. L. M., *Post Nauk Roln.*, 6, 48, 59 (1957).
22. Żebrowska T., *Post. Nauk Roln.*, Zesz. Probl. 41, 3 (1963).

Т. Жебровска

ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТЕОЛИЗА И ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ БЕЛКОВ НЕКОТОРЫХ КОРМОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В КОРМЛЕНИИ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Резюме

Опыты проводились на взрослых валухах с хроническими фистулами рубца. Валухи получали корм, в котором основным источником белка были льняной жмых и шроты — льняной, соевый и рапсовый. Каждый опыт продолжался 20 дней и состоял из двух периодов — подготовительного и учетного. В учетный период проводились исследования азотного баланса и определения в жидком содержимом рубца в разное время после кормления, следующих азотных фракций: общего азота, белкового, небелкового, аминного и аммиачной; кроме того, определялось содержание свободных аминокислот. Результаты опытов показали, что в наименьшей степени подвергались протеолизу и дезаминированию белки льняного жмыха и шрота, несколько высшие показатели обнаружены для соевого спирта и наиболее интенсивно протекали эти процессы в рапсовом шроте.

Teresa Zebrowska

INVESTIGATIONS ON PROTEOLYSIS AND DEAMINATION OF PROTEINS OF SOME CONCENTRATES USED IN FEEDING RUMINANTS

Experiments were carried out on adult wethers with installed permanent rumen cannulas. Animals were fed on diets where linseed cake and linseed, soye bean and rape meals were the main source of proteins. Each experiment had 20 days duration 10 of which were a preliminary stage and 10 days of the proper experiment. During the proper experiment nitrogen balance, the total N, the protein N, the non protein N, $N - NH_2$, $N - NH_3$ and free amino acids were determined in the rumen fluid, at different times after the animals with investigated diets.

On the basis of the obtained results a low stage of linseed cake and linseed meal protein proteolysis and deamination was stated. Higher indexes of changes were found for soya bean meal, the highest though for rape meal.