

BADANIA NAD CELOWOŚCIĄ STOSOWANIA PREPARATÓW ENZYMATYCZNYCH W ŻYWIENIU KURCZĄT

*Bożena Antoszevska, Stanisław J. Rosochacki,
Małgorzata Łukaszewicz, Janusz Keller*

Zakład Wzrostu i Rozwoju
Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu

W ramach problemu koordynowanego przez Centralny Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Drobiarstwa w Poznaniu podjęto badania w celu stwierdzenia: czy dodawanie do paszy preparatów enzymatycznych prowadzi do polepszenia procesów trawienia tej paszy w przewodzie pokarmowym kurcząt typu mięsnego i w konsekwencji — do zwiększenia stopnia wykorzystania paszy przez kurczęta. W wielu krajach prowadzono próby z zastosowaniem preparatów enzymatycznych w żywieniu drobiu, jednak wyniki poszczególnych doświadczeń są różne, często sprzeczne ze sobą [1-8]. Obserwacje te prowadzone były najczęściej w oparciu jedynie o kryteria produkcyjne i wydaje się, że konieczne jest bardziej szczegółowe rozeznanie w omawianym problemie przed podjęciem prób w skali ćwierć- czy półtechnicznej. Z uwagi na brak w literaturze przedmiotu klasycznych, powszechnie stosowanych metod badawczych, które mogłyby być zastosowane w tego typu badaniach, uznano za celowe przeprowadzenie badań wstępnych, mających na celu ustalenie podstawowych metod postępowania w procesach badawczych, zmierzających do ustalenia efektów działania preparatów enzymatycznych, dodawanych do paszy.

Celem pracy było określenie:

- 1) czy intensywność procesów trawiennych lepiej jest badać w treści przewodu pokarmowego kurcząt ubijanych, czy w treści przewodu pokarmowego pobieranej przez trwałą przetokę;
- 2) czy poziom cukrów redukujących jako produktów hydrolizy skrobi i poziom azotu α -aminowego jako produktu rozpadu białek w treści

przewodu pokarmowego kurcząt mogą służyć jako wskaźniki aktywności amylolitycznej i proteolitycznej enzymów dodawanych do paszy;

3) czy preparat enzymatyczny, dodany do paszy, działa skutecznie w przewodzie pokarmowym kurcząt.

MATERIAŁ I METODY

Przeprowadzono 3 doświadczenia na kurczętach typu brojler.

Doświadczenie I. Opracowano technikę zakładania trwałych przetok dwunastnicy i jelita cienkiego rosnącym kurczętom. Przetoki z pleksiglasu o różnych rozmiarach zakładano kurczętom o ciężarach ciała od 500 do 2000 g w dwóch odcinkach przewodu pokarmowego: w pętli dwunastnicy lub w końcowym odcinku jelita cienkiego, tuż przed ujściem jelit ślepych. Kurczęta przed operacją głodzono przez około 12 godzin (ustalono wstępnie, że czas ten jest wystarczający), usypiano eterem i znieczulano miejscowo 2-procentową polocainą. Po przecięciu powłok brzusznych wydobywano na zewnątrz żądany odcinek jelita, rozcinano je wzdłuż, zakładano przetokę kołnierzem do wewnątrz, zaszywano szwem zatapiającym, zasypywano antybiotykiem i zamykano jamę brzuszną przez zszywanie oddzielnie poszczególnych warstw tkanek. Po operacji kurczęta trzymano oddzielnie w klatkach metalowych, głodzono przez 24 godziny i zapewniano stały dostęp do wody. Po 3 dobach od operacji pobierano płyn jelitowy.

Doświadczenie II. Doświadczenie przeprowadzono na 100 kurczętach; kurczęta te przez pierwsze 4 tygodnie życia były karmione *ad libitum* mieszanką granulowaną typu DKA-Starter; po 4 tygodniach życia 49 kurcząt żywionych było również granulowaną, standardową mieszanką DKA-Finisher, a pozostałe 51 kurcząt mieszanką identyczną, lecz z dodatkiem preparatu enzymatycznego (w ilości 0,2%), wyprodukowanego przez Instytut Przemysłu Fermentacyjnego w Warszawie. Pasze były wykonane przez Centralne Laboratorium Przemysłu Paszowego w Macierzyszu. Preparat enzymatyczny wykazywał *in vitro* aktywność amylolityczną (210 JAS/g) i proteolityczną (14 000 JH/g) w zakresie pH 4-10 (optymalne pH około 7) i w zakresie temperatury 0-60°C (optymalna temperatura 45-60°C). W 8 tygodniu życia kurcząt, ubijano po 20 sztuk przez 5 kolejnych dni. Z kurcząt wypreparowywano dwunastnicę i jelito cienkie. Treść dwunastnicy i jelita cienkiego wmywano wodą destylowaną pod ciśnieniem 1 m słupa wody. W zebranej treści przewodu pokarmowego (po wstępnym oczyszczeniu) oznaczano zawartość cukrów redukujących według metody Millera (1959) oraz zawartość azotu α -aminowego według metody Stein-Moora (1948).

Doświadczenie III. Doświadczenie przeprowadzono na 50 kurczętach, które były żywione identycznie jak kurczęta w doświadczeniu II. W 7 tygodniu życia kurcząt założono im przetoki dwunastnicy. W 8 tygodniu życia pobierano przez okres 5 dni od każdego kurczęcia indywidualnie płyn z dwunastnicy. W pobranych z dwunastnicy płynach (po uprzednim odwirowaniu części nierozpuszczalnych) oznaczano zawartość cukrów redukujących oraz azotu α -aminowego, według tych samych metod co u kurcząt nieprzetokowanych. Z uwagi na to, że wystąpiły techniczne trudności z pobraniem dostatecznej ilości płynu z dwunastnicy, wykonano 133 analizy na zawartość cukrów redukujących i 128 analiz na zawartość azotu α -aminowego.

WYNIKI I DYSKUSJA

W doświadczeniu I, na podstawie około 30 prób przetokowania jelit u rosnących kurcząt stwierdzono, że metodą seryjną można zakładać trwale przetoki kurczętom począwszy od ciężaru ciała 1100-1200 g. Ze względu na budowę anatomiczną przewodu pokarmowego kurcząt łatwiejsze do zakładania okazały się przetoki dwunastnicy niż przetoki końcowego odcinka jelita cienkiego. Za najlepsze uznano przetoki o wymiarach: długość — 30 mm, średnica zewnętrzna — 0,4 mm, średnica wewnętrzna — 0,2 mm, średnica dłuższa kołnierza — 15 mm. Uznano, że do badań seryjnych przetoki końcowego odcinka jelita cienkiego u kurcząt o ciężarze ciała około 1200 g są nieprzydatne.

Wyniki doświadczenia II zestawiono w tabeli 1. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w ciężarach ciała między kurczętami żywionymi paszą z preparatem enzymatycznym i paszą bez preparatu enzymatycznego. Nie wykazano również statystycznie istotnie różnic w masie trzustki i masie błony śluzowej dwunastnicy między kurczętami żywionymi w różny sposób. Statystycznie istotne różnice ($P \leq 0,05$) wystąpiły w masie błony śluzowej jelita cienkiego; kurczęta żywione paszą z dodatkiem preparatu enzymatycznego charakteryzowały się mniejszą masą błony śluzowej jelita cienkiego niż kurczęta żywione paszą bez preparatu enzymatycznego. Różnice te mogą ewentualnie wynikać z tego, że kurczęta żywione paszą z preparatem enzymatycznym miały nieco mniejsze, choć nieistotne statystycznie, ciężary ciała niż kurczęta żywione paszą z preparatem enzymatycznym. Nie można tu jednak wykluczyć, że wynik ten został spowodowany dodatkiem preparatu enzymatycznego do paszy. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w zawartości cukrów redukujących i azotu α -aminowego w treści dwunastnicy oraz azotu α -aminowego w treści jelita cienkiego między kurczę-

Wyniki doświadczenia II
Results of experiment II

Grupa Group	"	Średnia arytmetyczna Arithmetical mean	Odchylenie standardowe Standard deviation	Współczynnik zmienności Coefficient of variation	Istotność Significant
Ciężar ciała Body weight	49 50	1832,76 1754,90	290,70 259,27	15,86 14,77	- -
Ciężar trzustki Weight of pancreas	49 51	4,595 4,333	0,748 0,665	16,28 15,35	- -
Ciężar błony śluzowej dwunastnicy Weight of duodenum mucosa	49 51	13,539 12,549	2,901 2,265	21,43 18,05	- -
Ciężar błony śluzowej jelita cienkiego Weight of small intestine mucosa	49 51	35,331 32,348	7,239 6,909	20,49 21,36	+ -
Całkowita zawartość cukrów redukujących w dwunastnicy Total content of reducing sugar in duodenum	49 49	24,449 29,216	17,690 14,506	72,35 49,65	- -

Całkowita zawartość cukrów redukujących w jelicie cienkim	48	145,796	95,920	65,79	
Total content of reducing sugar in small intestine	48	208,125	119,038	57,20	++
Całkowita zawartość N- α -aminowego w dwunastnicy	45	685,789	470,247	68,57	
Total content of α -amino nitrogen in duodenum	49	608,061	493,025	81,08	-
Całkowita zawartość N- α -aminowego w jelicie cienkim	44	2190,000	1511,820	69,03	
Total content of α -amino nitrogen in small intestine	48	1976,771	1299,828	65,75	-

- Brak istotnych różnic

Differences no significant.

+ Istotność różnic przy $P \leq 0,05$;Significant at $P = 0,05$.++ Istotność różnic przy $P \leq 0,01$;Significant at $P = 0,01$.

Tabela 2

Wyniki doświadczenia III
Results of experiment III

	Grupa Group	n	Średnia arytmetyczna Arithmetical mean	Odchylenie standardowe Standard deviation	Współczynnik zmienności Coefficient of variation	Istotność Significant
Ciężar ciała Body weight	bez enzymu without enzymes	24	1717,417	217,959	12,69	
	z enzymem with enzymes	26	1747,154	286,791	16,41	—
Całkowita zawartość cukrów redukujących w soku dwunastnicy Total content of reducing sugar in duodenum fluid	bez enzymu without enzymes	62	6,840	9,533	139,35	
	z enzymem with enzymes	71	7,567	3,775	49,89	—
Całkowita zawartość N- α -aminowego w soku dwunastnicy Total content of α -amino nitrogen in duodenum fluid	bez enzymu without enzymes	57	4,498	1,413	31,41	
	z enzymem with enzymes	71	3,987	1,603	40,20	—

— Brak istotnych różnic — differences no significant.

tami żywionymi paszą bez preparatu enzymatycznego i paszą z dodatkiem preparatu enzymatycznego. Wykazano natomiast wysokoistotne statystycznie różnice w zawartości cukrów redukujących w treści jelita cienkiego między dwoma grupami żywieniowymi kurcząt; kurczęta żywione paszą z preparatem enzymatycznym zawierały więcej ($P \leq 0,01$) cukrów redukujących w treści jelita niż kurczęta żywione paszą standardową. Fakt ten, może świadczyć o tym, że stosowany preparat enzymatyczny wykazywał aktywność amylolytyczną w przewodzie pokarmowym kurcząt. Jako że pH w wolu kurcząt wynosi 4,51, w żołądku gruczołowym — 4,80, w żołądku mięśniowym — 4,74 [12], a stosowany przez nas preparat enzymatyczny miał zakres pH 4-10; istniała teoretyczna możliwość działania tego preparatu w przewodzie pokarmowym kurcząt.

Doświadczenie wykonane na kurczętach przetokowanych (doświadczenie III) nie dostarczyło żadnych dowodów na działanie egzogennych enzymów w przewodzie pokarmowym kurcząt. Nie stwierdzono bowiem istotnych statystycznie różnic w ciężarze ciała oraz w zawartości cukrów redukujących i azotu α -aminowego w płynie dwunastniczym pobieranym przez przetoki od kurcząt żywionych paszą z preparatem enzymatycznym i paszą standardową (tab. 2). Z drugiej strony, wyniki te są zgodne z wynikami uzyskanymi na kurczętach zabijanych, ponieważ u kurcząt tych nie stwierdzono również statystycznie istotnych różnic w zawartości cukrów redukujących i azotu α -aminowego w treści dwunastnicy między kurczętami z grup żywionych w różny sposób.

Z uwagi na to, że w doświadczeniu wykazano wpływ stosowanego preparatu enzymatycznego na zawartość cukrów redukujących w treści jelita cienkiego i że przetoki końcowego odcinka jelita cienkiego są nieprzydatne do badań seryjnych, dalsze badania z tego zakresu powinny obejmować raczej badanie treści jelita cienkiego metodą ubojową. Ogromna zmienność indywidualna (bardzo wysokie współczynniki zmienności) w zawartości produktów rozpadu białek i skrobi w treści przewodu pokarmowego kurcząt żywionych *ad libitum* utrudnia jednoznaczną interpretację uzyskanych wyników i implikuje konieczność poszukiwania procedur ograniczających tę zmienność.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań wydaje się, że:

1. Intensywność procesów trawiennych lepiej jest badać w treści jelit bezpośrednio po zabiciu kurcząt niż przy pomocy przetokowania ich jelit.

2. Poziom cukrów redukujących oraz azotu α -aminowego w treści dwunastnicy i jelita cienkiego wykazują dużą zmienność, co bardzo utrudnia stosowanie tych parametrów w badaniach aktywności amylolitycznej i proteolitycznej enzymów dodawanych do paszy; tym niemniej wydaje się, że poziom cukrów redukujących w treści jelita cienkiego, uzyskanej z kurcząt ubijanych w warunkach żywienia *ad libitum* może być przydatnym wskaźnikiem w omawianych badaniach.

3. Preparat enzymatyczny wyprodukowany przez IPF i dodany do granulowanej mieszanki DKA-Finisher w ilości 0,2% wydaje się wykazywać skuteczne działanie amylolityczne w przewodzie pokarmowym kurcząt.

LITERATURA

1. Moran E. T. Jr., Lall S. P., Summers J. D.: The feeding value of rye for the growing chicken: the effect of enzyme supplementation, antibiotics, autoclaving and geographical area of production. *Poultry Sci.*, 48, 1969, 939 - 949.
2. Potter E. M., Stutz M. W., Matterson L. D.: Metabolizable energy and digestibility coefficients of barley for chicks as influenced by water treatment or by presence of fungal enzyme. *Poultry Sci.*, 44, 1965, 565 - 572.
3. Ružiczka B., Vavak J.: Use of natural phosphates in feeds. *Biologizace a chemizace vyživy zvířat*, 8, 1972, 30 - 36.
4. Sachan S. K. S., Kishan J., Singh R. P.: Influence of penicilin — mycelium waste on the growth of White Leghorn chicks. *Ind., J. Anim. Sci.*, 42, 1972, 377 - 379.
5. Stoyanov V.: Possible use of the proteolytic enzyme preparation E-30 in feed for live-stock. I. *Zhivotnovudni Nauki*, 9, 1972, 27 - 34.
6. Stoyanov V.: Possible use of the proteolytic enzyme preparation E-30 in feed for poultry. II. *Zhivotnovudni Nauki*, 9, 1972, 35 - 42.
7. Szdakov N. V.: Pierspiektywy izpolzovaniya fiermientnykh preparatov w životnowodstwie. *Životnowodstvo*, 31, 1971, 50 - 54.
8. Wasiliczenko S. S.: Mineralnyj obmien u cypliat pri skarmliwanii fiermientnykh preparatov. *Akad. Gorki*, 121, 1974, 176 - 181.
9. Zobac P.: Enzymaticke preparaty ve vyžive zvířat. *Krmivastvi*, 6, 1971, 15 - 17.
10. Miller G. L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31, 1959, 427 - 435.
11. Stein-Morr, za Tomaszewski L.: Metoda ninhydrinowa — Stein-Moor oznaczenia azotu α -aminowego — Mikrometody biochemiczne w laboratorium klinicznym. *PZWL*, 1970, 134 - 137.
12. Sturkie P. D.: Secretion of gastric and pancreatic juice, pH of tract, digestion in alimentary canal, liver and bile, and absorption. *Avian physiology*, Springer-Verlag New York, Heidelberg, Berlin 1976, 197 - 209.

Б. Антошевска, С. Росохацки, М. Лукашевич, Я. Келлер

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНЗИМАТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В КОРМЛЕНИИ ДОМАШНЕЙ ПТИЦЫ

Резюме

Целью настоящего труда было установление основной процедуры исследований, направленных на определение эффектов действия энзиматических препаратов прибавляемых к корму. Были проведены три опыта на цыплятах типа бройлер. В первом опыте применяли технику закладывания растущим цыплятам прочных фистул в двенадцатиперстную и тонкую кишку. Второй опыт проводился на 100 цыплятах, а третий — на 50 цыплятах с заложенными фистулами в двенадцатиперстной кишке. Цыплята во втором и третьем опыте получали корм с прибавкой энзиматического препарата с амилолитической и протеолитической активностью (50% цыплят в обоих опытах); остальная часть цыплят получала корм без энзиматического препарата (контрольная группа). Исследовали продукты распада белков и крахмала в содержимом двенадцатиперстной и тонкой кишки (опыт II), а также в жидкости двенадцатиперстной кишки (опыт III).

Установлено, что: 1) интенсивность пищеварительных процессов более целесообразно исследовать в содержимом кишок непосредственно после убоя цыплят, чем с помощью закладываемых в кишки фистул; 2) уровень восстановительных сахаров в содержимом тонкой кишки у убиваемых цыплят, кормимых вволю может быть природным показателем в исследованиях амилолитической активности энзимов прибавляемых к корму; 3) изготовленный Институтом броидильной промышленности энзиматический препарат добавленный к гранулированному комбикорму ДКА-финишер в количестве 0,2% характеризуется, как кажется, амилолитическим действием в пищеварительном тракте.

B. Antoszewska, S. J. Rosochacki, M. Łukaszewicz, J. Keller

INVESTIGATIONS ON PURPOSEFULNESS OF APPLICATION OF ENZYMATIC PREPARATIONS IN POULTRY FEEDING

Summary

The aim of work was to determine basic processing methods in research aiming at the establishment of effectiveness of enzymatic preparations added to feed.

Three experiments on chickens of the broiler type were carried out, in particular:

In the experiment I the technics of insertion of permanent fistulae into duodenum and thin intestine of growing chickens was applied.

The experiment II was carried out on 100 fistula-free chickens, the experiment III — on 50 chickens with fistulae of duodenum. The chickens in the experiment II and III were fed diet with added enzymatic preparation of amylolytic and pro-

teolytic effect (50% of chickens in both experiments) and diet without this preparation (control). Protein and starch decomposition products in the contents of duodenum and small intestine (experiment II) or in the duodenum fluid (experiment II) or in the duodenum fluid (experiment III) were investigated.

It has been found that: 1) it is better to investigate the intensity of digestion processes in the contents of intestines close after slaughter of chickens than by means of fistulae of the intestines, 2) the level of reduced sugars in the contents of small intestine found in chickens slaughtered under ad-libitum-feeding conditions can be a useful index in investigations of amyolytic activity of enzymes added to diet, 3) the enzymatic preparation made by the Institute of Fermentation Industry and added to the granulated DKA-Finisher mixture in the amount of 2%, seems to be of an effective amyolytic activity in the digestive tract.