

ZASTOSOWANIE MIKROBIOLOGICZNEJ METODY OZNACZANIA TIAMINY PRZY WSTĘPNYCH BADANIACH NAD JEJ BIOSYNTEZĄ W PRZEWODZIE POKARMOWYM U TRZODY CHLEWNEJ

ANDRZEJ MALINOWSKI

Katedra Żywienia Zwierząt SGGW — Warszawa

Kierownik: Prof. dr Fr. Abgarowicz

Celem niniejszej pracy było:

1) zastosowanie mikrobiologicznej metody Hamnera i współpracowników do oznaczeń tiaminy w mieszance pasz, kale, moczu i treści jelita ślepego u świń,

2) wykonanie „bilansu” tiaminy u świń utrzymywanych na dawkach pokarmowych różniących się poziomem włókna surowego w paszy,

3) wykazanie syntezy treści jelita ślepego *in vitro*.

Metoda Hamnera i współpr. z 1943 r.*) w celu ilościowego oznaczania tiaminy wykorzystuje szczep pleśni *Phycomyces blakesleeanus*, u którego masa przyrastającej pleśni jest proporcjonalna (w pewnych granicach) do ilości tiaminy znajdującej się w pożywce.

Powyższa metoda oznaczania tiaminy zasługuje na uwagę ze względu na następujące zalety:

1) skład pożywki dla szczepu jest stosunkowo prosty,

2) do wykonania oznaczeń nie potrzeba specjalnych aparatów,

3) w rezultacie oznacza się końcowy efekt reakcji pleśni na dodatek tiaminy do pożywki, czyli wagę grzybni, co jest bardziej korzystne od oznaczania powstałych produktów przemiany materii, jak ma to miejsce przy innych metodach mikrobiologicznych.

Fakt syntezy tiaminy w przewodzie pokarmowym niektórych zwierząt znany jest od dawna.

Syntezę tiaminy stwierdzono w zwaczu u zwierząt przeżuwiających, w jelicie grubym i ślepym u konia. Syntezę tiaminy stwierdzono również w przewodzie pokarmowym szczurów oraz u ludzi.

Dotychczas brak dokładnych danych dotyczących syntezy tiaminy w przewodzie pokarmowym świni, a szczególnie w jej jelicie ślepym.

*) Hamner K. C., Stewart W. S., Matrone C. Food Research 6. 442 ± 452. 1953.

Badania własne

W niniejszej pracy przeprowadzono badania dotyczące:

- 1) „bilansu” tiaminy u świni,
- 2) biosyntezy tiaminy *in vitro* w treści jelita ślepego.

1. Obserwacje nad bilansem tiaminy przeprowadzono na dwóch wieprzkach rasy w. b. z założonymi przetokami do jelita ślepego. Tuczniaki znajdowały się w doświadczeniu prowadzonym przez mgr. Horszczaruka z katedry Żywienia Zwierząt SGGW.

Świnie otrzymywały dawki pokarmowe różniące się poziomem włókna surowego (3,5% i 11,5% włókna surowego). Oznaczano tiaminę zawartą w paszy, a następnie po ilościowym zebraniu kału i moczu oznaczano ilość tiaminy wydalanej z organizmu.

2. Równocześnie prowadzono badania nad syntezą tiaminy w treści jelita ślepego *in vitro*.

Obserwowano różnicę w zawartości tiaminy w treści jelita zaraz po jej pobraniu od świni i następnie oznaczano poziom tiaminy w próbkach treści trzymanej przez określony czas w termostacie.

Obserwacje prowadzono jednocześnie nad treścią nie zawierającą żadnych dodatków oraz z treścią, do której dodano mocznik mający stanowić dodatkowe źródło azotu dla bakterii znajdujących się w treści jelita ślepego. Pobraną treść z jelita ślepego przewożono w termosie do pracowni i przecierano przez sito. W rezultacie otrzymywano płynną treść nie zawierającą grubszych części nie strawionej paszy.

Z tak przygotowanej treści odmierzano próbkę w celu oznaczenia tiaminy w materiale wyjściowym.

Jednocześnie nalewano treść do dwóch kolbek. Do jednej z nich dodawano mocznik. Powierzchnię w obu kolbkach pokrywano warstwą oleju parafinowego w celu zapewnienia bakteriom warunków beztlenowych. Następnie po zamknięciu kolbek korkami z waty wstawiano je do termostatu. W celu wykrycia różnic w poziomie tiaminy pobierano z kolbek próbki treści po 6, 24 i 72 godzinach przebywania jej w termostacie i oznaczano w nich ilość tiaminy.

Wyniki i ich omówienie

Przy oznaczaniu tiaminy metodą Hamnera i współpr. uzyskano następujące dane zamieszczone w tabeli 1.

Świnie otrzymywały w dziennej dawce znaczne ilości tiaminy (22,106 mg.) przewyższające znacznie ich zapotrzebowanie. We wszystkich przypadkach uzyskano bilans dodatni.

Świnie wydalają z kałem od 8,123 do 16,672 mg. — to znaczy od 36,75 do 75,42% w stosunku do ilości pobranej z paszą. Z moczem wydalają one znacznie mniejsze ilości tiaminy — od 0,362 do 1,131 mg., czyli od 1,64 do 5,12%. Ilość tiaminy wydalanej z kałem u świni z wysokim poziomem włókna surowego w paszy była znacznie wyższa niż u sztuki

Tabela 1

Rodzaj próbki	Zawartość tiaminy
Pasza zadawana świniom	6,32 mcg/1g
Kał (świeży)	3,24—7,69 mcg/1g
Mocz	0,09—0,23 mcg/1ml
Treść jelita ślepego	0,64—1,27 mcg/1ml

„Bilans” tiaminy u badanych sztuk przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

„Bilans tiaminy u świń z niską (I) i wysoką (III) zawartością włókna surowego w dawce pokarmowej

Powtórzenie	Grupa	Dostarczono tiaminy z paszą, mg.	Wydalił w kale mg	Wydalił w moczu mg	Wydalił łącznie mg	Bilans mg
I	I	22,106	13,081	1,131	14,212	+7,894
	III	22,106	16,672	0,811	17,483	+4,623
II	I	22,106	8,123	0,374	8,497	+13,609
	III	22,106	13,037	0,362	13,399	+8,707

Tabela 3

Zestawienie wyników uzyskanych w obserwacjach *in vitro* nad biosyntezą tiaminy w treści jelita ślepego u świni. (Wyniki podano w %)

Powtórzenie	Dodatek do treści	Po pobraniu	Po 6 godz.	Po 24 godz.	Po 72 godz.
I	—	100,00	—	101,56	117,19
	mocznik	100,00	—	140,63	104,69
II	—	100,00	124,05	122,78	98,73
	mocznik	100,00	108,86	93,67	77,22

z niskim poziomem włókna. Może to być ewentualnym dowodem zwiększonej syntezy tiaminy w przewodzie pokarmowym, albo też świadczyć o obniżeniu jej wchłaniania przy wyższym poziomie włókna surowego w paszy. Wyniki uzyskane przy obserwacjach *in vitro* przedstawiono w tabeli 3.

Przy badaniach *in vitro* w obu równoległych nastawieniach — bez dodatku mocznika i z jego dodatkiem do treści jelita ślepego obserwuje się początkowo wzrost, a następnie spadek poziomu tiaminy.

W pierwszym powtórzeniu maksymalny wzrost poziomu tiaminy uzyskano po 24 godz. przebywania treści z dodatkiem mocznika w termostacie. Wyniósł on 140,63% w stosunku do 100,00% tiaminy zawartej w treści zaraz po jej pobraniu z jelita ślepego.

W drugim powtórzeniu uzyskane wyniki wskazują, że proces syntezy przebiegał znacznie słabiej, przy czym dodatek mocznika nie spowodował większej syntezy (względnie synteza ta mogła występować w pierwszych godzinach po wstawieniu do termostatu), ale przyczynił się do szybszego i większego obniżenia poziomu tiaminy po 24 i 72 godzinach.

W n i o s k i

1. Mikrobiologiczna metoda oznaczania tiaminy wg Hamnera i współpr. w zastosowaniu do oznaczeń w kale, moczu i treści jelita ślepego u świni daje pozytywne rezultaty ale wymaga ona sprawdzenia wyników innymi dostępnymi metodami.

2. Badania bilansowe nie dały odpowiedzi, czy istnieje synteza tiaminy w przewodzie pokarmowym u świni.

3. Większa zawartość włókna surowego w paszy powodowała większe wydalanie tiaminy w kale.

4. Badania *in vitro* nad syntezą tiaminy w treści jelita ślepego dały wyniki pozytywne.

Stwierdzono wzrost poziomu tiaminy w treści jelita ślepego trzymanego w termostacie w stosunku do zawartości w materiale wyjściowym.

5. Rola dodawanego mocznika do treści jelita ślepego nie została jednoznacznie określona.

W chwili obecnej prowadzone są dalsze prace nad biosyntezą tiaminy w przewodzie pokarmowym u trzody chlewnej.