

## ZASTOSOWANIE BADAŃ *IN VITRO* DO OKREŚLANIA STRAWNOŚCI SUCHEJ MASY PASZ PRZEZNACZANYCH DLA PRZEŻUWACZY. BADANIA METODYCZNO-TECHNICZNE

*Jerzy Piotrowski, Józef Krzyżewski*

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt, Jastrzębiec

Spośród znanych obecnie i szeroko stosowanych metod pośredniego określania wartości pasz przeznaczonych dla przeżuwaczy, na uwagę zasługuje m. in. oznaczanie *in vitro* strawności suchej masy paszy. Prezentowany tu fragment badań poświęcono oznaczaniu strawności suchej masy *in vitro* metodą Tilleya i Terryego [1].

Istotą metody jest inkubowanie próbki (ok. 0,5 g) drobno zmielonej paszy z 10 ml świeżo pobranego płynu żwacza i 40 ml odpowiedniego roztworu soli mineralnych (jest to tzw. etap I), następnie zaś, po odwirowaniu, poddanie osadu działaniu 50 ml roztworu pepsyny w HCl (tzw. etap II). Po przesączeniu zawartości naczynia inkubacyjnego oznacza się suchą masę pozostałą na sączku i przez porównanie jej z suchą masą próbki oblicza się współczynniki strawności suchej masy wg wzoru:

$$x = 100 \times \frac{S - (s - s_1)}{S}$$

gdzie:

- $x$  — współczynnik strawności suchej masy *in vitro*,
- $S$  — sucha masa próbki,
- $s$  — sucha masa pozostała,
- $s_1$  — sucha masa ślepej próby,

przy czym sucha masa ślepej próby jest pozostałością po 40 ml soli mineralnych i 10 ml płynu żwacza, które wprowadzono do naczynia inkubacyjnego nie zawierającego próbki paszy.

Stosowany w etapie I roztwór soli mineralnych przyrządzony wg McDougalla [2] zawiera w 1000 ml: 9,80 g NaHCO<sub>3</sub>, 9,30 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12 H<sub>2</sub>O, 0,57 g KCl, 0,47 g NaCl, 0,12 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O i 0,04 g CaCl<sub>2</sub>. Inkubację prowadzi się w 100 ml probówkach wirówkowych przez 48 godz. w temperaturze 40°C. Probówki zamykane są korkami gumowymi wyposażonymi w tzw. wentyl Bunsena. Po upływie pierwszych 48 godz. proces mikrobiologiczny przerywa się dodając do każdej probówki 1 ml 5% HgCl<sub>2</sub>, a dalej w celu lepszego odwirowania 2 ml 1 n Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Po odwirowaniu (20 min, 1700-1800 g) płyn nad osadu odciąga się za pomocą ssawki, aby następnie wprowadzić 0,2% roztwór pepsyny w 0,1 n HCl

(krajowy preparat pepsyny nadaje się zupełnie dobrze do tego celu). Najbardziej pożądane pH wynosi dla etapu I od 6,8 do 6,9 dla II od 1,2 do 1,3. Po upływie 48 godz. trawienia pepsyną (40°C) następuje sączenie zawartości probówek z zastosowaniem sączków „Filtrak” nr 388, o średnicy 9 cm.

W początkowym okresie badań metodycznych porównywano m. in. ze sobą wpływy, jakie na końcowy procent strawności suchej masy próbki paszy *in vitro* wywierają poszczególne etapy postępowania przewidziane metodyką. Zastosowano 5 następujących układów:

Układ 1. Etap 1 — próbka paszy, 40 ml roztworu soli mineralnych, 10 ml wody.

Etap 2 — 50 ml 0,1 n HCl bez pepsyny.

Układ 2. Etap 1 — próbka paszy, 40 ml roztworu soli mineralnych, 10 ml wody, 1 ml 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> HgCl<sub>2</sub>.

Etap 2 — 50 ml 0,1 n HCl bez pepsyny.

Układ 3. Etap 1 — próbka paszy, 40 ml roztworu soli mineralnych, 10 ml wody, 1 ml 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> HgCl<sub>2</sub>.

Etap 2 — 50 ml 0,1 n HCl bez pepsyny.

Układ 4. Etap 1 — próbka paszy, 40 ml roztworu soli mineralnych, 10 ml płynu żwacza, 1 ml 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> HgCl<sub>2</sub>.

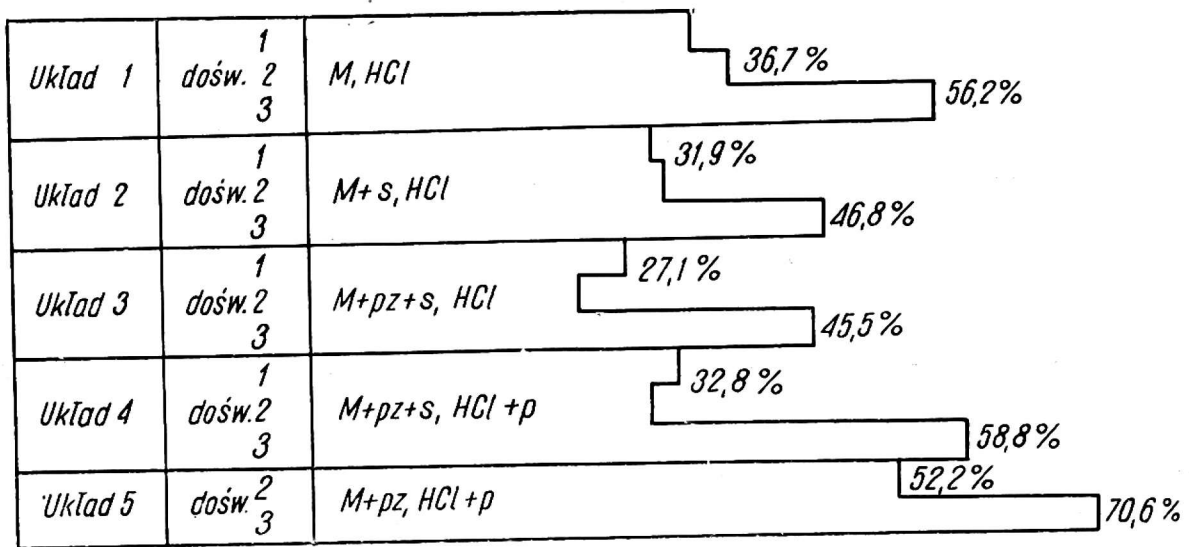
Etap 2 — 50 ml 0,2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> roztworu pepsyny w 0,1 n HCl.

Układ 5. Etap 1 — próbka paszy, 40 ml roztworu soli mineralnych, 10 ml płynu żwacza.

Etap 2 — 50 ml 0,2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> roztworu pepsyny w 0,1 n HCl.

Jak więc widać, pełnię warunków do maksymalnego rozkładu suchej masy badanych próbek stworzono dopiero w układzie 5, gdzie w obu etapach zachowano aktywność czynników trawiących. Na rys. 1 przedstawiono wyniki 3 kolejno przeprowadzonych doświadczeń. W doświadczeniach 1 i 2 badano strawność suchej masy mączki z lucerny koszonej w kwiecie, w doświadczeniu 3 natomiast mączki z lucerny bardzo młodej. Liczby procentowe mówią o końcowej (po dwóch etapach) strawności suchej masy dla danego doświadczenia w danym układzie. Dla doświadczeń 1 i 2 podano w układach 1, 2, 3 i 4 liczby będące średnimi z tych doświadczeń. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że zastosowanie samego jedynie roztworu soli mineralnych, a później kwasu solnego bez pepsyny (układ 1) prowadziło do znacznego ubytku suchej masy próbek paszy mimo pozbawienia badanych środowisk głównych czynników aktywnych. Mniejszy, ale bardzo wyraźny ubytek suchej masy stwierdzono także wtedy, gdy zawartość naczynia inkubacyjnego wyjałowiono w etapie 1 dodatkiem sublimatu (układ 2), wykluczając w ten sposób możliwość rozwoju mikroorganizmów, które mogły się dostawać wraz z paszą, z roztworem soli mineralnych lub też przeniknąć z powietrzem.

Następnym badaniem zagadnieniem było porównanie wyników badania strawności *in vitro* z wynikami uzyskiwanymi *in vivo*. *In vivo* ozna-



Rys. 1. Strawność suchej masy *in vitro* w zależności od składu środowiska inkubacyjnego: M — roztwór soli mineralnych; s — sublimat; pz — płyn żwacza; p — pepsyna

czono na owcach współczynniki strawności suchej masy 18 zielonek zebranych w różnych okresach wegetacji z poletek nawożonych różnymi dawkami azotu. Do oznaczania strawności suchej masy *in vitro* posłużyły susze uzyskane z tych samych zielonek, bezpośrednio po skoszeniu wysuszonych w laboratorium w temperaturze 40-50°C z wentylacją mechaniczną. Współczynnik strawności suchej masy oznaczano dla każdego suszu 3 lub 5-krotnie, wykonując za każdym razem po 5 powtórzeń. Dawcą płynu żwacza była krowa z trwałą przetoką tej części żołądka, żywiona sianem łąkowym. Płyn żwacza pobierano po upływie 3,5 godz. od rannego odpasu, sącząc go przez poczwórną gazę i natychmiast używano do inokulacji.

Po uzyskaniu 18 par odpowiadających sobie współczynników strawności (suchej masy zielonki *in vivo* i suchej masy uzyskanego z niej suszu *in vitro*) obliczono współczynnik korelacji, który wyniósł +0,55 i okazał się statystycznie istotny. Obliczono także współczynnik regresji i ustalono równanie regresji:

$$Y = 25,73 + 0,69 X,$$

gdzie:

Y = współczynnik strawności suchej masy zielonki *in vivo*,

X = współczynnik strawności suchej masy suszu *in vitro*.

Dalsze badania w toku.

#### LITERATURA

1. Tilley M. A., Terry R. A., 1963. J. Brit. Grassl. Soc. 18, 104.
2. McDougall E. I., 1948. Biochem. J. 43, 99.

Е. Пиотровски, Ю. Кжижевски

ПРИМЕНЕНИЕ В УСЛОВИЯХ ПОЛЬШИ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
IN VITRO ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПЕРЕВАРИМОСТИ СУХОГО ВЕЩЕСТВА  
КОРМОВ ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ.  
МЕТОДИКО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Резюме

Переваримость сухого вещества кормов определялась методом Тиллей и Терри [1]. Сравнили коэффициенты переваримости сухого вещества зеленого корма определенные *in vivo* у овец с коэффициентами полученными *in vitro* для тех же самых зеленых кормов, но в сушеном виде. Всего сравнили между собой 18 пар соответствующих коэффициентов переваримости. Полученный коэффициент корреляции равнялся 0,55 и оказался статистически достоверным. Определено также уравнение прямолинейной регрессии:

$$Y = 25,73 + 0,69 X$$

где:

- Y — коэффициент переваримости сухого вещества зеленой массы *in vivo*,  
X — коэффициент переваримости сухого вещества сушеного зеленого корма *in vitro*.

J. Piotrowski, J. Krzyżewski

LABORATORY IN VITRO METHODS AS APPLIED IN POLAND TO DRY  
MATTER DIGESTIBILITY DETERMINATION OF FEEDS COMMONLY USED  
FOR RUMINANTS. METHODOICAL AND TECHNICAL STUDIES

Summary

A method of Tilley and Terry [1] for dry matter (DM) digestibility determination *in vitro* has been used. The *in vivo* DM digestibility data (sheep) of 18 meadow grass mixtures fed in fresh form have been compared with respective DM digestibility data obtained *in vitro* after drying the mixtures for hay. Correlation coefficient (0.55) is statistically significant. The regression equation has been calculated:

$$Y = 25.73 + 0.69 X$$

where:

- Y — digestibility coefficient *in vivo* of DM in fresh grass mixture,  
X — digestibility coefficient *in vitro* of DM in dried grass mixture.