

BOLESŁAW GUTOWSKI, ANNA TEMLER, IRMINA NOWOSIELSKA

## BADANIE TREŚCI ŻWACZA U BYDŁA

### III. OBSERWACJE PŁYNNĄJ TREŚCI ŻWACZA JAŁÓWEK NA PASZY ZIMOWEJ

Z Zakładu Fizjologii Zwierząt S. G. G. W. w Warszawie  
Kierownik: prof. dr B. Gutowski

Celem pracy było zbadanie dziennych przemian chemicznych w treści żwacza jałówek na paszy treściwej i porównanie obserwacji z wynikami doświadczeń, wykonanych na tych samych jałówkach karmionych paszą zieloną [7].

W pobranej płynnej treści żwacza jałówek oznaczono azot  $\alpha$ -aminowy, wolne aminokwasy i całkowitą ilość lotnych kwasów tłuszczowych oraz ich rozdział jakościowy.

#### METODYKA

Bdania przeprowadzono na trzech jałówkach rasy nizinnej czarno-białej z trwałymi przetokami żwacza, w miesiącach styczniu i lutym 1959 r.

Żywienie jałówek było indywidualne. Pojenie odbywało się raz dziennie (godz. 14) przed karmieniem. Sposób karmienia przedstawia tab. 1.

Tabela 1. Dzienna dawka pokarmowa dla jednej jałówki.

Table 1. Daily feed dosis per heifer.

Godziny karmienia 1)	Rodzaj zadawanej paszy 2)
7 <sup>30</sup>	4 kg siana łąkowego 3)
14 <sup>30</sup>	pojenie oraz 1,5 kg mieszanki treściwej 4)
18	15 kg buraków pastewnych 5)

Feeding time 1); the feed given 2); 4 kg. of meadow hay 3); watering and 1.5 kg. of protein-rich feed 4); 15 kg. of fodder beets 5).

Skład podawanej mieszanki treściwej był następujący:

Owies . . . . .	30%	Soja . . . . .	10%
Jęczmień . . . . .	20%	Mączka arachidowa . . . . .	10%
Otręby pszenne . . . . .	25%	Peluszka . . . . .	5%
+ Mieszanka mineralna			

Płynną treść żwacza do analiz pobierano cztery razy dziennie: o godz. 7, 10, 16 i 20, tj. na czczo i w dwie godziny po każdorazowym karmieniu. W treści oznaczano zawartość azotu  $\alpha$ -aminowego metodą Van Slyke'a, wolnych aminokwasów metodą dwukierunkowej bibułowej chromatografii rozdzielczej. Bibułę chromatograficzną Whatman nr 1 nasycano buforem fosforanowym pH 12. Na chromatogramy nanoszono 50  $\mu$ l próbki, co odpowiadało 1 ml niezagęszczonej, płynnej treści żwacza. Chromatogramy rozwijano w fenolu (100 ml fenolu + 24 ml buforu), a następnie w butanolu (butanol : kwas octowy lodowaty : woda = 4 : 1 : 5); wywoływano 0,2% alkoholowym roztworem ninhydryny. Plamy identyfikowano przy użyciu standardów aminokwasów.

Całkowita zawartość lotnych kwasów tłuszczowych oznaczono metodą stosowaną przez Gray'a i wsp. [2], opisaną dokładnie przez Gutowskiego [6]. Chromatograficznego rozdziłu lotnych kwasów tłuszczowych dokonano metodą stosowaną przez Reida i Lederera. Po przeprowadzeniu destylacji zasadowej i kwaśnej oraz zmiareczkowaniu (destylatu płynnego) wodorotlenkiem baru (zawsze świeżo mianowanym) w celu oznaczenia całkowitej ilości lotnych kwasów tłuszczowych, płyn odparowano do sucha. Suchą pozostałość rozpuszczono w 10 ml wody destylowanej i dodawano 10 ml szczawianu amonu, a następnie wirowano przez 15 min. przy 3000 obrotów/min. Otrzymany w ten sposób roztwór nanoszono w ilości 50  $\mu$ l na bibułę chromatograficzną Whatman nr 1. Bibułę nasycano następnie przez 24 godz. parami amoniaku. Chromatogram rozwijano w butanolu +  $\text{NH}_3$  1,5 n w stosunku 1 : 1. Po wysuszeniu, chromatogram wywołano błękitem bromo-fenolowym z dodatkiem kwasu cytrynowego. Plamy identyfikowano przy użyciu standardów lotnych kwasów tłuszczowych.

## WYNIKI

*Lotne kwasy tłuszczowe.* Średnią zawartość lotnych kwasów tłuszczowych z 4 oznaczeń, w płynnej treści żwacza jałówek podano w tabeli 2.

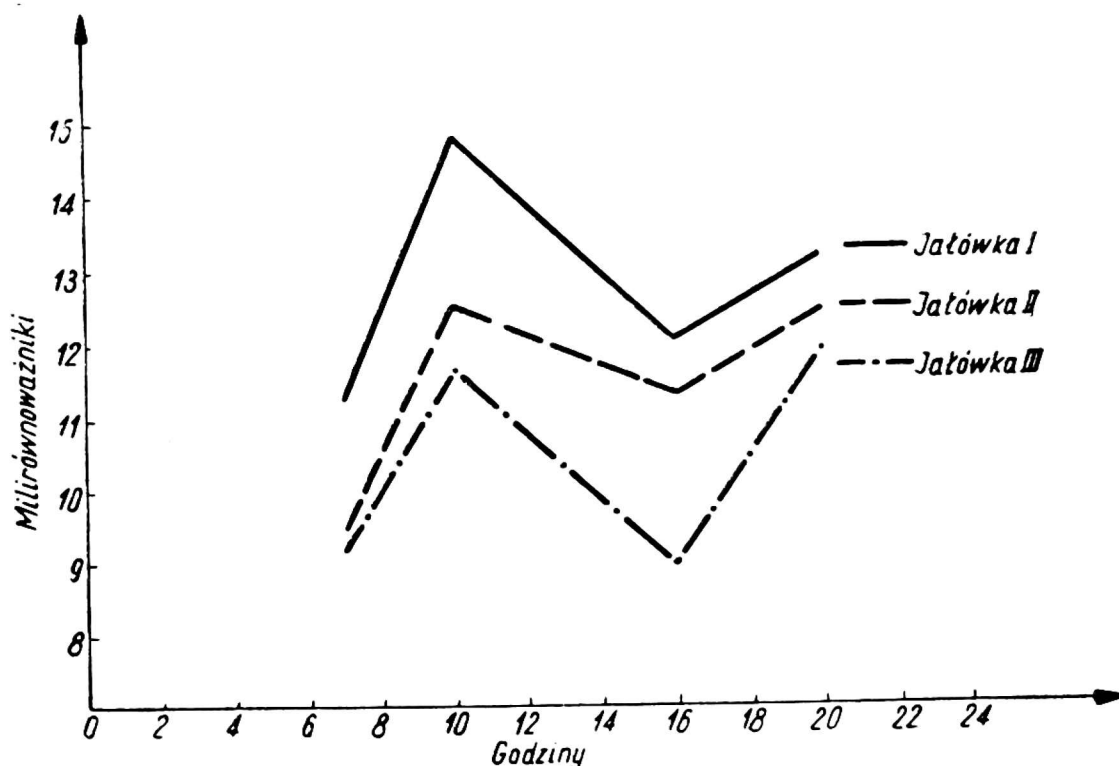
Tabela 2. Średnia zawartość lotnych kwasów tłuszczowych w płynnej treści żwacza jałówek w milirównoważnikach na 100 ml płynnej treści żwacza.

Table 2. Average content of volatile fatty acids in the liquid rumen-content of heifers in milliequivalents per 100 ml. of liquid rumen-content.

	G o d z i n y 1)			
	7	10	16	20
Jałówka I 2)	11,23	14,95	12,05	13,33
Jałówka II	9,18	12,61	11,29	12,62
Jałówka III	9,49	11,69	8,95	12,03

Hours 1); heifer 2).

Jak wynika z danych zawartych w tabeli 2 zaobserwowano wyraźny wzrost zawartości lotnych kwasów tłuszczowych o godz. 10 (po rannym karmieniu zwierząt) w porównaniu z ilością, występującą na czczo (godz. 7). O godz. 16 zmniejsza się ilość lotnych kwasów tłuszczowych prawdopodobnie wskutek rozwodnienia treści po napojeniu jałówek. O godz. 20, tj. w dwie godziny po wieczornym karmieniu, wystąpił ponowny wzrost lotnych kwasów tłuszczowych zbliżony do poziomu z godziny 10. Istotność różnic godzinowych zawartości lotnych kwasów tłuszczowych w płynnej treści żwacza badanych jałówek została statystycznie udowodniona przy  $p > 0,95$ . Omówione zmiany przedstawia ryc. 1.



Ryc. 1. Średnie dobowe wahania zawartości lotnych kwasów tłuszczowych w płynnej treści żwacza jałówek w milirównoważnikach/100 ml.

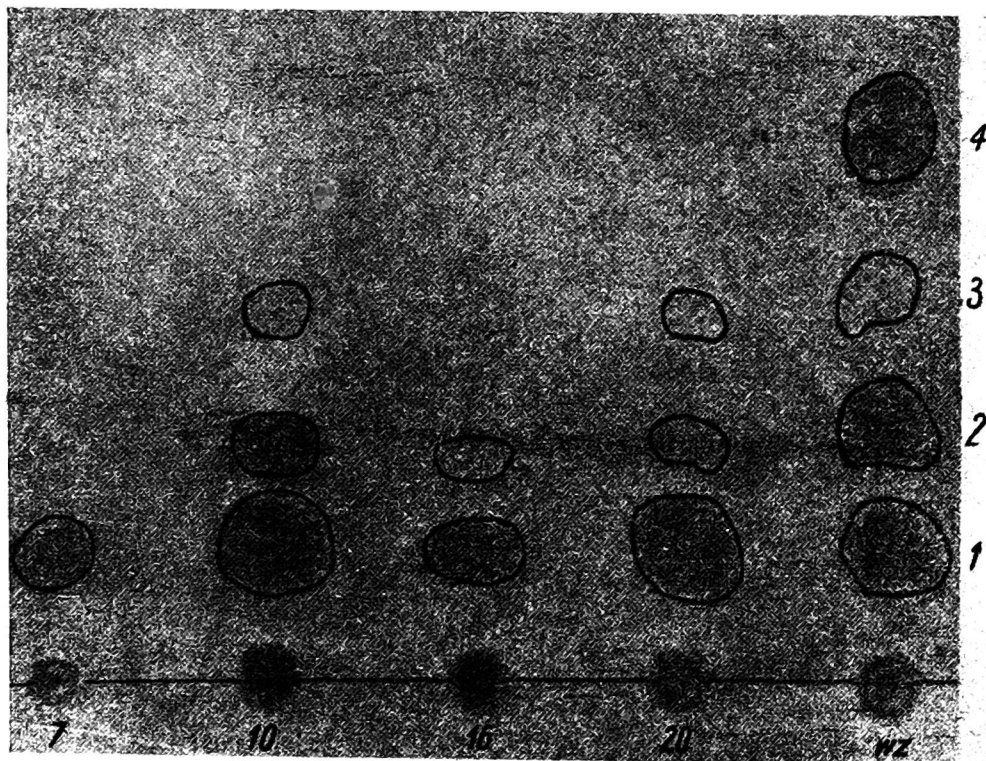
Fig. 1. Mean diurnal variations in volatile fatty acids of the liquid rumen-content of heifers in milliequivalents/100 ml.

Porównując zawartość lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu przy żywieniu zieloną lucerną (Gutowski i wsp. [7]) i przy żywieniu zimowym, zaobserwowano wyższy ich poziom przy żywieniu lucerną (około 15—16,5 milirównoważników w dwie godziny po karmieniu, podczas gdy przy żywieniu zimowym 12—13 milirównoważników). Tłumaczyć to można prawdopodobnie intensywniejszym rozkładem bakteryjnym węglowodanów zielonej lucerny niż siana łąkowego. Gray i Pilgrim również zauważyli, że wielkość wzrostu zawartości lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu po nakarmieniu zależy od rodzaju podawanej paszy. W dwie godziny po nakarmieniu owiec sianem z traw (*Agropyren cristatum*) zaobserwowali

wzrost zawartości lotnych kwasów tłuszczowych wynoszących 5 milimoli, a przy żywieniu sianem z lucerny 12 milimoli.

Chromatogram lotnych kwasów tłuszczowych w płynnej treści żwacza jałówek przedstawia ryc. 2.

Na wszystkich chromatogramach zaobserwowano najintensywniejsze zabarwienie i największe rozmiary plam kwasu octowego. Obserwację tę potwierdzają badania *Gray'a* i *Pilgrima*, którzy znajdowali najwięcej kwasu octowego w płynnej treści żwacza owiec.



Ryc. 2. Chromatogram kwasów tłuszczowych z płynnej treści żwacza jałowki II z dnia 16. I. 1959 r. z godzin: 7, 10, 16 i 20. wz — wzorce, 1 — kwas octowy, 2 — kwas propionowy, 3 — kwas masłowy, 4 — kwas walerianowy.

Fig. 2. Chromatogram of fatty acids in the liquid rumencontent of heifer II of Jan. 16. 1959, sampled at 7 and 10 a.m., and 4 and 8 p.m. wz — standards, 1 — acetic acid, 2 — propionic acid, 3 — butyric acid, 4 — valeric acid.

Nie na wszystkich chromatogramach wykryto zależność intensywności i zabarwienia plam od godziny pobrania próbki treści. Na ogół wykrywano 3 kwasy tłuszczowe: octowy, propionowy i masłowy. Kwasu propionowego i masłowego nie wykrywano na wszystkich chromatogramach, zwłaszcza o godzinie 7 i 16.

*Azot  $\alpha$ -aminowy.* Średnia zawartość azotu  $\alpha$ -aminowego (z 4 oznaczeń) w płynnej treści żwacza badanych jałówek przedstawia tabela 3.

Jak wynika z liczb zawartych w tab. 3 u wszystkich badanych jałówek zaobserwowano wyraźny wzrost zawartości azotu  $\alpha$ -aminowego o godz. 10, tj. w dwie godziny po rannym karmieniu, w porównaniu z ilością występującą na czczo. Spadek ilości azotu  $\alpha$ -aminowego o godz. 16 spowodo-

wany jest prawdopodobnie napojeniem jałówek. Podobny spadek zaobserwowali *Gutowski* i wsp. [5], przy żywieniu zwierząt zielonką zbożowo-strączkową. Buraki pastewne, będące paszą nisko białkową nie wpłynęły na wzrost azotu  $\alpha$ -aminowego w treści żwacza jałówek. Część aminokwa-

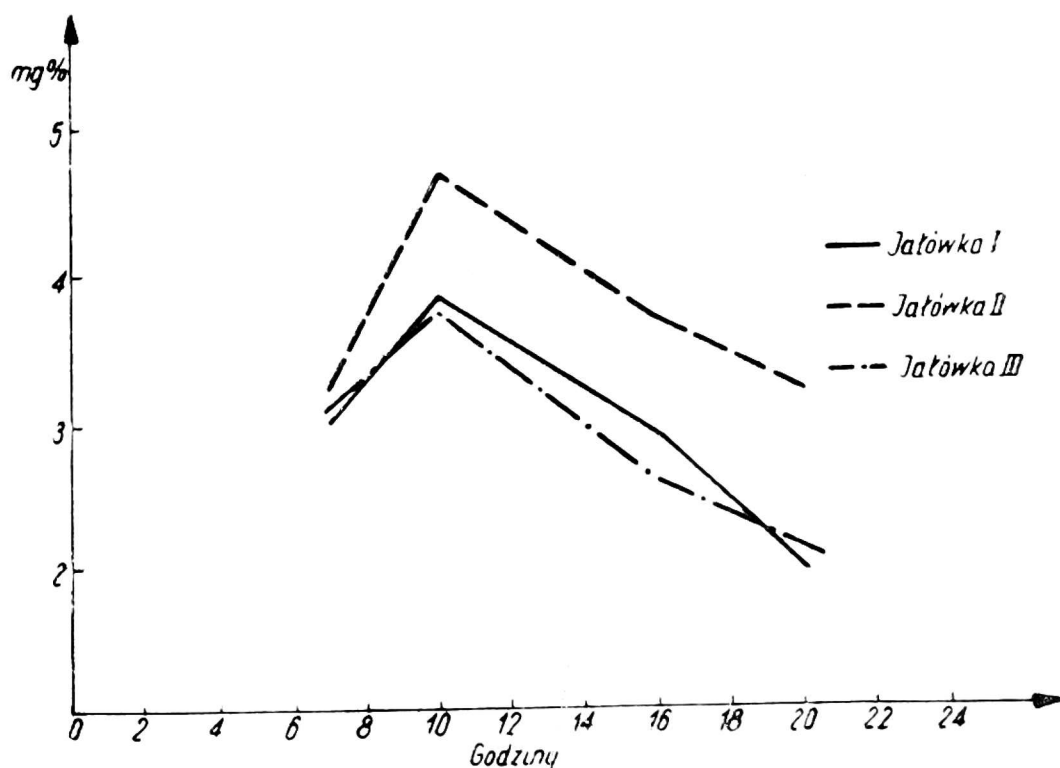
Tabela 3. Średnia zawartość azotu  $\alpha$ -aminowego w płynnej treści żwacza jałówek w mg $^{\circ}$ o.

Table 3. Average content of amino nitrogen in the liquid rumens — content in mg $^{\circ}$ o.

	G o d z i n y 1)			
	7	10	16	20
Jałówka I 2)	3,0	3,9	2,9	2,0
Jałówka II	3,2	4,7	3,7	3,2
Jałówka III	3,1	3,8	2,6	2,1

Hours 1); heifer 2).

sów została prawdopodobnie zużyta przez bakterie do budowy białka, a część przeszła do dalszych odcinków przewodu pokarmowego. Dlatego o godz. 20 zauważono dalszy spadek zawartości azotu  $\alpha$ -aminowego w porównaniu z zawartością o godz. 16. Istotność zmian godzinowych została statystycznie udowodniona przy  $P > 0,95$ . Dobowe wahania ilości azotu  $\alpha$ -aminowego podano na ryc. 3.



Ryc. 3. Średnie dobowe wahania zawartości azotu aminowego w płynnej treści żwacza jałówek, w mg $^{\circ}$ o.

Fig. 3. Mean diurnal variations of amino nitrogen in the liquid rumen-content of heifers in mg $^{\circ}$ o.

Tabela 4. Wolne aminokwasy w płynnej treści żwacza jałówek (nr I, II, III). Cyfry umieszczone w kolumnach pionowych, pod godzinami, oznaczają intensywność zabarwienia plam poszczególnych aminokwasów według 10-cio stopniowej wizualnej skali (Dent. a. Schilling).

Table 4. Free aminoacids in the liquid rumen-content of heifers (No. I, II, III). The figures beneath the hours in the columns indicate the colour intensity of particular aminoacids spots according to a decimal visual scale (Dent. a. Schilling).

Nazwa aminokwasu 1)	Data 2)	Jałówka I 3)				Jałówka II				Jałówka III			
		godzina 4)				godzina				godzina			
		7	10	16	20	7	10	16	20	7	10	16	20
Kwas glutaminowy 5)	6. II	4	6	5	5	5	5	6	7	6	6	7	5
	13. II	7	7	5	6	6	6	5	4	7	6	5	6
	20. II	6	7	6	5	7	7	6	5	6	6	7	6
	27. II	6	7	6	6	5	6	4	5	6	6	5	6
Alanina 6)	6. II	5	6	6	5	5	5	6	7	4	6	5	7
	13. II	5	6	5	7	4	5	6	6	5	4	7	5
	20. II	5	6	6	5	4	6	6	5	5	4	4	5
	27. II	5	6	6	5	5	5	6	7	5	6	6	4
Kwas asparaginowy 7)	6. II	4	4	5	6	5	5	6	6	5	4	4	4
	13. II	5	5	3	4	4	3	4	4	5	3	4	4
	20. II	5	5	4	5	4	5	6	4	5	5	4	5
	27. II	4	4	5	4	4	5	5	4	5	5	6	4
Walina + metionina 8)	6. II	2	3	3	4	3	2	3	4	3	3	1	1
	13. II	4	3	3	2	2	3	2	4	3	4	2	3
	20. II	4	3	2	2	3	2	3	3	2	2	1	2
	27. II	3	4	4	3	2	3	3	4	3	2	2	3
Seryna 9)	6. II	3	2	2	3	0	4	2	3	2	0	3	2
	13. II	3	3	2	1	2	2	3	1	0	2	1	3
	20. II	2	1	3	2	3	3	2	2	3	1	3	2
	27. II	3	2	3	3	2	3	0	3	0	3	2	3
Tyrozyna 10)	6. II	3	4	2	3	2	3	2	0	3	3	3	3
	13. II	0	2	3	2	3	3	3	2	1	2	3	2
	20. II	3	2	4	3	3	2	2	3	2	3	1	3
	27. II	3	2	3	3	2	2	3	0	3	2	2	3
Glikokol 11)	6. II	2	3	3	2	3	3	3	1	0	2	0	1
	13. II	3	2	1	1	3	2	3	3	2	0	2	3
	20. II	1	2	2	3	2	2	0	1	2	3	2	0
	27. II	2	1	0	1	2	3	1	0	2	2	3	1



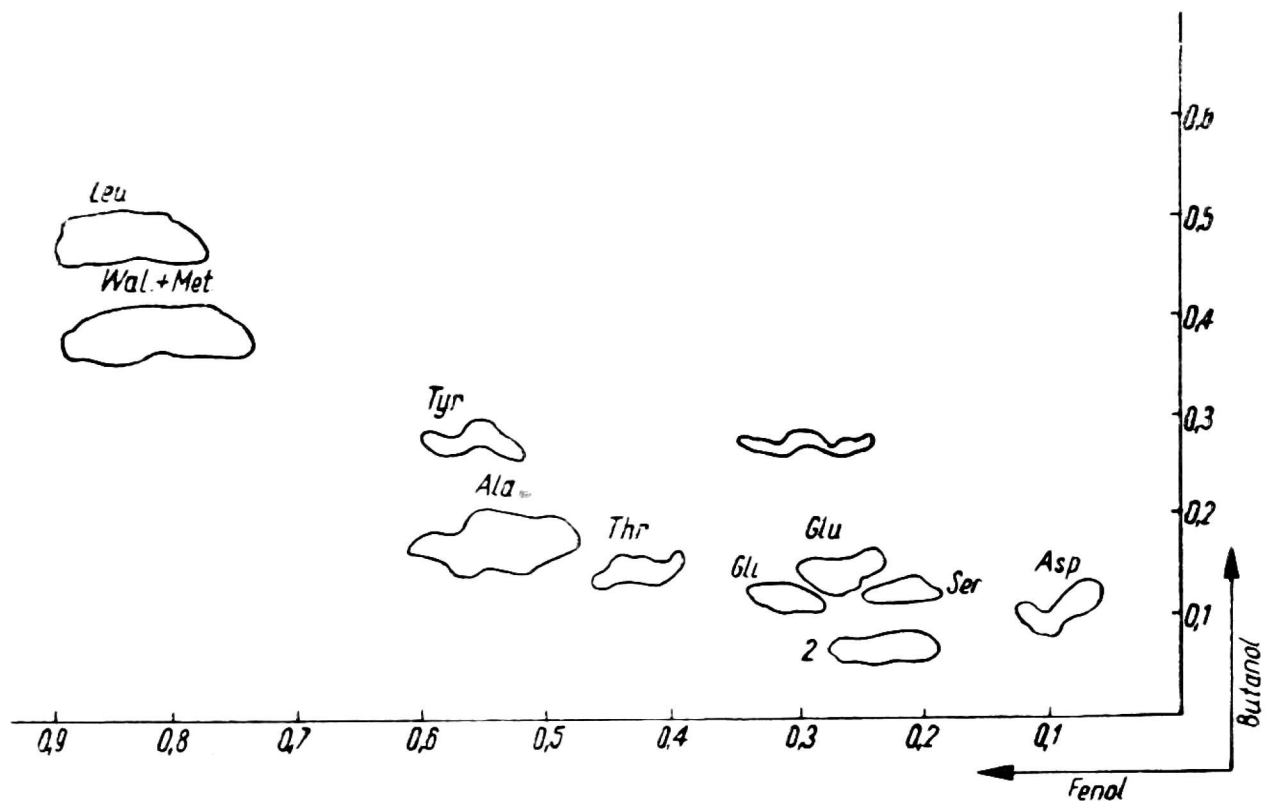
Nazwa aminokwasu	Data	Jałówka I				Jałówka II				Jałówka III			
		godzina				godzina				godzina			
		7	10	16	20	7	10	16	20	7	10	16	20
Treonina 12)	6. II	1	2	2	1	3	0	2	2	1	3	1	0
	13. II	2	2	1	3	2	3	2	1	1	3	3	2
	20. II	2	2	1	1	3	1	2	0	2	3	2	1
	27. II	3	3	2	0	1	2	3	2	1	2	3	3
Leucyny 13)	6. II	1	1	0	2	1	0	2	0	3	3	1	2
	13. II	0	1	1	2	0	0	1	2	2	3	2	1
	20. II	0	1	1	2	1	0	2	3	2	1	1	2
	27. II	1	2	2	0	3	2	1	1	2	0	2	3
Cystyna 14)	6. II	1	0	0	1	1	1	2	0	1	2	2	1
	13. II	0	2	1	0	0	1	2	1	1	2	1	0
	20. II	1	2	0	1	1	2	0	0	1	0	1	1
	27. II	1	2	2	0	3	2	1	1	2	0	2	3
Glutamina Glu. NH <sub>2</sub> 15)	6. II	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	13. II	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	20. II	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	27. II	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Aminoacid 1); date 2); heifer 3); hour 4); Glutamic acid 5); Alanine 6); Aspartic acid 7); Valine + methionine 8); Serine 9); Tyrosine 10); Glycocol 11); Threonine 12); Leucine 13); Cystine 14); Glutamine 15).

*Wolne aminokwasy.* Oznaczanie chromatograficzne wolnych aminokwasów w płynnej treści żywca przedstawia ryc. 4.

Metodą dwukierunkowej, bibułowej chromatografii rozdzielczej wykrywano w płynnej treści żywca badanych jałówek 11 aminokwasów. Aminokwasami wykrywanymi zawsze na wszystkich chromatogramach były: kwas glutaminowy, alanina, kwas asparaginowy i walina + metionina. Najintensywniej barwiące się plamy wykazywały kwas glutaminowy i alanina, a następnie kwas asparaginowy (tab. 4). Nie zauważono żadnych prawidłowości w różnicach intensywności zabarwienia plam poszczególnych aminokwasów na chromatogramach z różnych jałówek i godzin. Na 48 wykonanych chromatogramów tyrozynę wykryto na 45, treoninę i serynę na 44, glikokol na 41, leucyny na 38, cystynę na 35, a glutaminę tylko na 6 chromatogramach.

Takie same wyniki odnośnie ilości plam otrzymali *Gutowski* i wsp. [4] przy żywieniu jałówek podobną paszą. Natomiast przy żywieniu zielonką (*Gutowski* i wsp. [5, 7] ilość plam aminokwasów i intensywność ich zabarwienia były mniejsze.



Ryc. 4. Chromatogram wolnych aminokwasów płynnej treści żwacza badanych jałówek. Asp. — kwas asparaginowy, Ser — seryna, Glu — kwas glutaminowy, Gli — glikokol, Thr — treonina, Ala — alanina, Tyr — tyrozyna, Wal + Met — walina + metionina, Leu — leucyna. Plam 1 i 2 nie utożsamiono.

Fig. 4. Chromatogram of free aminoacids in the liquid rumen-content of the heifers investigated. Asp. — aspartic acid, Ser — serine, Glu — glutamic acid, Gli — glycol, Thr — threonine, Ala — alanine, Tyr — tyrosine, Wal + Met — valine + methionine, Leu — leucine. Spots 1 and 2 were not identified.

#### WNIOSKI

1. Wyższą zawartość lotnych kwasów tłuszczowych w płynnej treści żwacza jałówek zaobserwowano w dwie godziny po nakarmieniu zwierząt w porównaniu z ilością występującą na czczo. Wzrost ten spowodowany był prawdopodobnie rozkładem węglowodanów podanych w paszy, przez bakterie żwacza.

2. Poziom lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu przy żywieniu zimowym wynosił około 12—13 milirównoważników, podczas gdy przy żywieniu zieloną lucerną (Gutowski i wsp. [7]) był wyższy — 15—16,5 milirównoważników.

3. Metodą chromatografii bibułowej rozdzielczej wykryto w płynnej treści żwacza obecność kwasu octowego, propionowego i masłowego. Na wszystkich chromatogramach plamy kwasu octowego były największe i najintensywniej zabarwione.



4. W dwie godziny po nakarmieniu zwierząt zaobserwowano wzrost zawartości azotu  $\alpha$ -aminowego w płynnej treści żwacza jałówek.

5. Po napojeniu zwierząt nastąpił spadek zawartości zarówno lotnych kwasów tłuszczowych jak i azotu  $\alpha$ -aminowego prawdopodobnie na skutek rozcieńczenia treści żwacza wodą.

6. Po podaniu jałówkom paszy nisko białkowej, jaką są buraki pastewne nie stwierdzono wzrostu zawartości azotu  $\alpha$ -aminowego w płynnej treści żwacza.

7. Przy żywieniu jałówek paszą zimową wykryto w płynnej treści żwacza metodą dwukierunkowej, bibułowej chromatografii rozdzielczej 11 wolnych aminokwasów. Najintensywniej barwiące się plamy wykazały: kwas glutaminowy, alanina i kwas asparaginowy. Przy żywieniu zaś zielonką (Gutowski i wsp. [5, 7]) wykryto obecność tylko 5—7 wolnych aminokwasów, przy czym intensywność zabarwienia ich plam, była mniejsza niż przy żywieniu zimowym.

*E. Gutowski, A. Temler, I. Новосельска*

#### ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖИМОГО ПЕРВОГО ЖЕЛУДКА У СКОТА

III. Наблюдение над жидким содержимым первого желудка у телок, пребывающих на зимнем корме

##### *Содержание*

Исследования проводились на трех телках низменной черно-белой породы с постоянными фистулами рубца в январе и феврале 1959 г. Жидкое содержимое рубца четыре раза на день бралось для аналитических проб, т. е. натощак и через 2 часа после каждого кормления. Определялось полное содержание улетучивающихся жирных кислот и проводился их качественный анализ, содержание  $\alpha$ -аминового азота и свободных аминокислот.

Через 2 часа после утреннего кормления животных наблюдалось повышение содержания жирных кислот в жидком содержимом рубца у исследуемых телок. Это повышение было обусловлено повидимому разложением углеводов корма бактериальной флорой рубца. Уровень упомянутых жирных кислот в рубце при зимнем вскармливании составлял приблизительно 12—13 миллиэквивалентов. В содержимом обнаружено наличие уксусной пропионовой и масляной кислоты, при чем во всех хроматограммах пятна уксусной кислоты были самыми большими и самыми интенсивными.

Через 2 часа после раннего кормления животных отмечалось повышение содержания  $\alpha$ -аминового азота в жидком содержимом рубца телок.

После водопоя у животных наблюдалось падение уровня так жирных кислот как и  $\alpha$ -аминового азота, обусловленное повидимому разведением содержимого рубца. После подачи телкам корма с низким содержанием белков, например кормовой свеклы, не наблюдалось повышения уровня  $\alpha$ -аминового азота в жидком содержимом рубца.

При содержании телок на зимнем корме в жидком содержимом рубца обнаружено наличие II свободных аминокислот: глютаминовую кислоту, аланин, аспара-

гиновую кислоту, цистин, серин, гликокол, треонин, тирозин, лейкин, валин, метионин и глютамин. Самой интенсивной окраской отличались пятна глютаминовой кислоты, аланина и аспарагиновой кислоты. При вскармливании т. наз. зеленой (Гутовски и др. 5,7) обнаружено наличие только 5—7 свободных аминокислот, причем интенсивность окраски этих пятен была более слабая чем при зимнем корме.

*B. Gutowski, A. Temler, I. Nowosielska*

### STUDIES ON RUMEN CONTENTS IN CATTLE

#### III. Studies on the liquid rumen-content in heifers on winter feed

##### *Summary*

The experiments, made in January and February 1959, concerned three Holstein-Friesian heifers with surgical fistulae of the rumen. The liquid rumen-content was sampled four times a day viz., on fasting, and two hours after each feeding. Volatile fatty acids were analyzed quantitatively and qualitatively, and the contents of  $\alpha$ -amino nitrogen and free aminoacids were determined.

Two hours after the morning, the content of volatile fatty acids increased, probably owing to decomposition of feed carbohydrates by rumen bacteria. The level of fatty acids was 12—13 milliequivalents, as against 15—16,5 milliequivalents recorded from the same heifers fed fresh alfalfa (Gutowski et al. [7]). Acetic, propionic and butyric acids were demonstrated, the spots of acetic acid being in all the chromatograms the largest and the most intensively coloured.

$\alpha$ -amino nitrogen increased two hours after morning feeding. After watering, volatile fatty acids as well as  $\alpha$ -amino nitrogen diminished, probably owing to dilution of the rumen contents with water. After low-protein feed (fodder beet), no rise of  $\alpha$ -amino nitrogen was noted.

In the rumen contents of the winter-fed heifers the following eleven free aminoacids were demonstrated: glutamic acid, alanine, aspartic acid, cystine, serine, glycol, threonine, tyrosine, leucine, valine + methionine, and glutamine. The spots of glutamic acid, alanine and aspartic acid stained most intensively. On feeding greenage (Gutowski et al. [5, 7]) only 5—7 free aminoacids were demonstrated, and the spots less intensively coloured.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Dent C. E., Schilling J. A.: *Biochem. J.*, 1949, 44, 318.
2. Gray F. V., Pilgrim A. F., Weller R. A.: *J. Exp. Biol.*, 1951, 28, 74.
3. Gray F. V., Pilgrim A. F.: *J. Exp. Biol.*, 1951, 28, 83.
4. Gutowski B., Barej W., Temler A.: *Acta Physiol. Pol.*, 1958, IX, 669.
5. Gutowski B., Barej W., Temler A., Nowosielska I.: *Acta Physiol. Pol.*, 1958, IX, 341.
6. Gutowski B.: *Acta Physiol. Pol.*, 1960, XI, 1.
7. Gutowski B., Barej W., Temler A., Nowosielska I.: *Acta Physiol. Pol.*, 1960, XI, 1, 119.
8. Reid R. L., Lederer M.: *Biochem. J.*, 1951, 50, 60.

Otrzymano: 7. III. 1960.