

Doc. dr Antonin Jančarič
Centralni stočarski institut ČSSR
Uhřiněves kod Praga

**PRILOG POZNAVANJU SPECIFIČNE TEŽINE KONCENTRACIJE
VODIKOVIIH IONA I KOLIČINE ORGANSKIIH TVARI U BURAGOVOM
SOKU GLADNIH GOVEDA***

Prema ORTH-u 1961. i ORTH i KAUFMAN-u 1961. problemi naše ishrane i produktivnosti goveda stoje u uskoj vezi s odvijanjem mikrobioloških procesa u buragu.

Tekuća faza buragovog sadržaja potječe od hrane i sline. S obzirom na svoje tekuće svojstvo buragov sok nam daje osnovu za pretpostavku da tipične mikrobiološke asocijacije buraga potječu iz šupljine predželudaca (BARNET i REID, 1961., LEWIS 1961, HUNGATE 1965).

Mikrobiološke asocijacije nastanjene u sadržaju buraga svojom životnom aktivnošću mijenjaju sastav i karakter buragovog soka (Jančarič 1967, 1968. i 1969, PROKŠOVA 1967. 1968. i 1969).

U našim prethodnim publikacijama prikazali smo rezultate naših radova. Radove koje smo izveli u našem laboratoriju imali su za cilj proučavanje nekih svojstava buragovog soka kao što su njegov puferkapacitet i mogućnost topljivosti proteina. Dobiveni rezultati naših istraživanja nisu bili komparabilni s poznatim modelom tekućina kao što su fiziološka otopina, otopina pufera, molarna solucija NaCl (kuhinjske soli) itd. Na osnovu vlastitih istraživanja buragovog soka in vivo, (JANČARIK 1968. i 1969) uočili smo s jedne strane njegovu izuzetnu kvalitativnu varijabilnost, a s druge strane izvjestan autoregulatorni mehanizam čija je zadaća održavanje acidobazične ravnoteže.

Da bismo s uspjehom mogli proučavati promjene u buragovom soku s potrebnom točnošću neophodno je definirati tekuću fazu buragovog sadržaja za vrijeme gladovanja.

U našem slučaju ispitivali smo uzorke buragovog soka dobivene 24 sata nakon zadnjeg obroka (nakon gladovanja). Uzorci buragovog soka neposredno nakon uzimanja su podvrgnuti centrifugiranju kod 15000 obrtaja u minuti.

Uzorak nesteriliziranog buragovog soka dobiveni nakon 24 satnog gladovanja predstavlja sua arte bazalnu tekuću fazu buragovog sadržaja, što će biti predmet našeg razmatranja u ovome radu. U ovome istraživanju smo obuhvatili ispitivanje specifične težine buragovog soka, količine organske oksidirajuće tvari, ukupne količine dušične tvari i koncentraciju vodikovih iona u buragovom soku.

* Preveo dr Z. Robić

Istraživanja su trajala jednu godinu, time da su uzorci uzimani u ljetnoj i zimskoj sezoni. Dobivene podatke smo uspoređivali s podacima dobivenim od uzoraka buragovog soka normalno hranjivih bikova (od kojih su uzorci buragovog soka uzimani 2 sata nakon hranjenja). Uzorci buragovog soka su uzimani putem sonde.

MATERIJAL I METODA RADA

Uzimanje uzoraka buragovog soka vršili smo u grupi životinja oba spola. U zimskoj sezoni (početak listopada — konac ožujka) uzeli smo 26 uzoraka buragovog soka. Tokom ljetne sezone (početak travnja — kraj rujna) uzeli smo 77 do 84 uzorka buragovog soka. U okviru ovoga ispitivanja izvršili smo analizu 103 do 110 uzoraka buragovog soka.

Drugu grupu ispitivanih životinja sačinjavalo je 20 bičiča podvrgnutih zimskoj ishrani kod kojih je uzimanje buragovog soka vršeno 2 sata nakon hranjenja. Mjerenje koncentracije vodikovih iona u buragovom soku vršili smo neposredno nakon uzimanja. Dobiveni uzorak procijedili smo preko sirarskog platna a potom smo ga podvrgli centrifugiranju kod 15000 obrtaja u minuti u trajanju od 15 minuta.

Na početku analitičkog postupka odredili smo specifičnu težinu pomoću piknometra zatim smo odredili količinu organskih oksidirajućih tvari u buragu. Izvađeni uzorci buragovog soka bili su pohranjeni na temperaturi od -1 do -2°C a u analitički postupak stavljeni su tek dva do tri dana nakon uzimanja. Konzerviranje buragovog soka vršili smo u kiseloj sredini pomoću kalijevog permanganata. Dobiveni rezultati prilikom određivanja količine organskih oksidirajućih tvari u buragovu soku izražavani su u mg potrošenog kisika na 1 ml soka. Sadržaj dušičnih tvari u buragovom soku odredili smo Kijeldalovom metodom a rezultate smo izrazili u mg% dušika. Svi dobiveni rezultati su podvrgnuti obradi pomoću uobičajenih statističkih metoda.

REZULTATI I DISKUSIJA

a) Specifična težina buragovog soka

Specifična težina buragovog soka predstavlja u našem slučaju specifičnu težinu procijeđenog i centrifugiranog buragovog soka u kojem su otklonjene sve mehaničke nečistoće.

Prisutnost većih mehaničkih čestica u buragovom soku dovodi do većih fizikalnih i kemijskih varijacija prilikom odvijanja analitičkog postupka.

Razlog ovoj pojavi leži u činjenici da količina i kvalitet mehaničkih čestica ne ovisi samo o hrani, o progutanoj slini, o stupnju probave i ostalim procesima koji se odvijaju u buragu, već ovise i o mjestu, vremenu i putu buragovog sadržaja.

Ukoliko mi želimo ocijeniti tekući dio buragovog sadržaja (na primjer kao medij za kulture, koje imaju upliv na odvijanje niza ekstracelularnih biokemijskih procesa u buragu) neophodno je primijeniti takav postupak pomoću kojega bi mi mogli odstraniti sve mehaničke čestice. Ispunjenje ovoga uvjeta je osnov za odvijanje ozbiljnih istraživanja u tom pravcu.

Na osnovu naših prethodnih istraživanja (JANČARIK 1968) specifična težina buragovog soka izgladnijelih životinja (grupe a, b i c) se kreću od 0,01836 do 1,01860 s varijabilnošću izraženom sa varijacionim koeficijentom V koji ne prelazi 0,3%. Buragov sok uzet od životinja 2 sata nakon hranjenja se kreće oko 1,01843 sa varijabilnošću od 0,6%. Razlike između ispitivanih parova grupa su nesignifikantne što je i prikazano u posljednjem stupcu tabele 1.

Tabela 1

grupa (Group)	n	M±s	V	uspoređene grupe (Groups compared)	t
a ukupno (total)	110	1,01836±0,00283	0,278	a : b	0,253
b ljeto (summer)	84	1,01830±0,00146	0,143	b : c	0,450
c zima (winter)	26	1,01867±0,00284	0,278	a : d	0,014
d site život. (post-prandial)	20	1,01843±0,00651	0,640	b : c	0,843
				b : d	0,160
				c : d	0,528

Promatrajući razliku u specifičnoj težini kod ispitivanih grupa uočava se da se ona pojavljuje tek na četvrtoj i petoj decimali, stoga možemo zaključiti da mehaničke čestice nemaju na nju utjecaj (nakon provedenog postupka).

b) Koncentracija vodikovih iona u buragovom soku

Rezultati koji prikazuju koncentraciju vodikovih iona u buragovom soku su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2

grupa (Group)	n	M±s	V	uspoređene grupe (Groups compared)	t
a ukupno (total)	110	7,75±0,61	7,89	a : b	0,62
b ljeto (summer)	84	7,70±1,54	19,95	a : c	1,34
c zima (winter)	26	7,93±1,13	14,28	a : d	5,87
d site život. (post-prandial)	20	6,91±0,44	6,33	b : c	2,00
				b : d	6,87
				c : d	6,14

Varijacioni koeficijent (V) buragovog soka kod grupa a, b i c je relativno niži za razliku od podataka koji se tiču utroška kisika za oksidaciju organske materije ili sadržaja dušičnih tvari.

Koncentracija vodikovih iona je osjetljivi indikator promjena u kemijskim i mikrobiološkim uvjetima u buragovom soku. Stoga je veoma iznenađujuće da koncentracija vodikovih iona u buragovom soku pokazuje malu varijabilnost unatoč svoje ovisnosti o koncentraciji hlapljivih masnih kiselina, CO₂, NH₃ i kompliciranog sistema pufera. Imajući sve ovo u vidu smatramo da je naša koncepcija uzimanja uzoraka buragovog soka od gladnih životinja umjesna i opravdana.

Poznato je da su reakcije koje uzrokuju značajne promjene u koncentraciji vodikovih iona u buragovom soku ovisne o sadržaju hrane u buragu (CLARK i LOMBARD 1951, HUNGATE 1952, CASON i surad. 1954, TUERNER i HODGETTS 1955. i BRIGS sa surad. 1957).

Promjene u koncentraciji vodikovih iona ispitivanih skupina hranjenih sa zimskim i ljetnim obrocima pokazuju malu razliku (ph 7,70 i 7,93). Koncentracija vodikovih iona u buragovom soku uzetom od životinja 2 sata nakon hranjenja i nakon 24 sata je različita (vidi kombinaciju a:d, b:d i c:d Tabela 2).

Prema tome možemo uzeti vrijednost ph buragovog soka od životinja držanih bez hrane 24 sata kao osnovnu vrijednost. Ph vrijednost nativnog buragovog soka je primarna karakteristika u komparaciji s ph vrijednošću buragovog soka gladnih životinja.

Proučavanje dinamike promjena pw buragovog soka kod gladnih životinja je predmet daljih publikacija našeg instituta (JANČARIK 1968).

c) Sadržaj oksidirajuće organske tvari u buragovom soku

Analiza sadržaja oksidirajućih organskih tvari u buragovom soku je vršena drugi treći dan nakon uzimanja uzoraka (uzorci su do tog vremena bili pohranjeni na temperaturi od -1 do -2°C). Najveća vrijednost t-testa za razlike između pojedinih dana bila je samo 0,8.

Korelacioni koeficijent između niza inkubacija pojedinih parova veći je od +0,8. Prema tome možemo zaključiti da ispravnost rezultata ne dolazi u pitanje što je veoma važno za organiziranje ciklusa analiza (Tabela 4).

Razlike između rezultata dobivenih ispitivanjem uzoraka buragovog soka kod gladnih životinja držanih na zimskim i ljetnim obrocima nisu bile velike (t i r) Tabela 5.

Na ovaj način je potvrđena činjenica da buragov sok gladnih životinja pomjera vrlo malo koncentraciju oksidirajućih organskih tvari za razliku od soka nahranjenih životinja (vidi t za a:d, b:d i c:d Tabela 5).

Prema ovome je moguće diferencirati buragov sok gladnih životinja od sok nahranjenih životinja.

Određivanje oksidirajućih organskih tvari zahtijeva relativno jednostavnu laboratorijsku tehniku. U našim istraživanjima mi smo primijenili osjetljivu

metodu koja u dosadašnjim istraživanjima oksidirajućih tvari u buragovom soku nije primjenjivana. Proučavanje odnosa između sadržaja organske oksidirajuće tvari u buragovom soku i njegovih ostalih fizikalno-kemijskih osobina predmet je novih eksperimenata.

d) Sadržaj ukupne količine dušične tvari u buragovom soku

Iz tabele broj 6 je vidljivo da se količina dušičnih tvari u buragovom soku kreće od 45 do 49 mg%. U grupi c (životinje hržane na zimskom obroku) primijećena je relativno visoka varijabilnost ($V = 61\%$).

Visoka vrijednost t kod parova c:d i b:d ukazuje na činjenicu o postojanju statistički opravdane razlike u koncentraciji ukupne količine dušičnih tvari u buragovom soku životinja nakon gladovanja i sitih životinja.

Pretpostavka da je ukupna količina dušičnih tvari karakteristika buragovog soka je opravdana (što je karakteristično za diferenciju buragovog soka gladnih životinja od nativnog). Pod terminom ukupna količina dušičnih tvari u buragovom soku je obuhvaćena grupa dušičnih spojeva koji počinju ureom pa zatim amonijevi spojevi, aminokiseline, amini, slobodan amonijak i bjelančevine. Daljni eksperimenti koji su provedeni u našem laboratoriju a tiču se proučavanja fizikalno kemijskih uvjeta u buragovom soku predstavljaju jedno od osnova za istraživanje u ishrani domaćih životinja.

e) Međusobni odnosi svojstva buragovog soka

Prilikom ocjene buragovog soka općenito je važno ustanoviti kriterije na osnovu kojih će se ta ocjena vršiti.

Ovakav pristup tom problemu je važan iz tog razloga što neka svojstva često prekrivaju druga tako da se praktički izražavaju kao jedno (na primjer koncentracija vodikovih iona je funkcija koncentracije kiseline u destiliranoj vodi).

Mi smo stoga uspoređivali kvantitativne odnose između prethodno opisanih svojstava buragovog soka i to prikazali u obliku korelacionog koeficijenta u tabeli 7.

U koliko smatramo da je za donošenje ispravnih zaključaka neophodna minimalna vrijednost korelacionog koeficijenta $r = + 0,7$ u tabeli broj 7 uočavamo znatno niže vrijednosti. U ovome našem slučaju rezultati dobiveni istraživanjem svakog svojstva posebno mogu se sa sigurnošću upotrijebiti kao parametri za karakterizaciju buragovog soka.

ZAKLJUČAK

1. U okviru naših istraživanja vršili smo ispitivanje uzoraka buragovog soka kod gladnih (24 sata nakon zadnjeg obroka) i sitnih životinja (2 sata nakon zadnjeg obroka).

Ispitivanje gladnih životinja vršili smo u ljetnom i zimskom periodu, dok smo ispitivanje sitih vršili samo u zimskom periodu. Aanalitičkim postupkom obuhvatili smo određivanje specifične težine, koncentraciju vodikovih iona, sadržaj organske oksidirajuće tvari i ukupnu količinu dušičnih tvari u buragovom soku.

2. Specifična težina buragovog soka kod gladnih životinja kretala se u rasponu od 1,01830—1,01867 g/ml, kod sitih životinja iznosila je u prosjeku 1,01843. Maksimalna varijabilnost u obe grupe je iznosila $V = 0,6\%$. Razlike između ispitivanih grupa su bile niže (ispod signifikantnih) što je vidljivo u tabeli broj 1. Upotreba buragovog soka gladnih životinja u eksperimentalne svrhe predstavlja prikladan put za dobivanje tekućina slobodnih od mehaničkih nečistoća.

3. Koncentracija vodikovih iona u buragovom soku gladnih životinja u odnosu na site pokazuje uočljivu razliku što je i prikazano u tabeli broj 2.

4. Sadržaj oksidirajućih organskih tvari u buragovom soku gladnih životinja ne pokazuje visoke razlike u prva tri dana nakon uzimanja uzoraka (u koliko su uzorci držani na -1 do -2°C). Dobivene vrijednosti prilikom ispitivanja buragovog soka kod gladnih životinja pokazuju relativno uzak raspon no međutim kod sitnih životinja taj se raspon stalno povećava što je prikazano u tabelama 3, 4 i 5.

Tabela 3

grupa (Group)	n	1-dan (1st day)		2-dan (2nd day)		3-dan (3rd day)	
		M±s	V	M±s	V	M±s	V
a ukupno (total)	103	1,78±0,62	34,92	1,82±0,59	32,65	1,81±0,57	31,56
b ljeto (summer)	77	1,76±0,66	37,52	1,81±0,54	35,06	1,78±0,61	34,28
c zima (winter)	26	1,86±0,45	24,26	1,82±0,52	28,04	1,89±0,45	24,01
d site život. (post prandial)	20	2,26±0,50	21,91	2,19±0,48	22,10	2,13±0,47	22,25

Tabela 4

uspoređene grupe (Group compared)	Koleracioni koeficijent r (Correlation coefficient r)		
	1-dan : 2-dan (1st day : 2nd day)	2-dan : 3-dan (2nd day : 3rd day)	1-dan : 3-dan (1st day : 3rd day)
ukupno (total)	+ 0,853	+ 0,893	+ 0,933
ljeto (summer)	+ 0,881	+ 0,881	+ 0,925
zima (winter)	+ 0,874	+ 0,897	+ 0,828
site životinje (post prandial)	+ 0,960	+ 0,968	+ 0,969

Tabela 5

uspoređene grupe (Group compared)	n	1 : 2 dan (1st : 2nd day)	2 : 3 dan (2nd : 3rd day)	1 : 3 dan (1st : 3rd day)	uspoređene grupe (Groups compared)	t
a ukupno (total)	103	0,472	0,123	0,361	a : b	0,33
b) ljeto (summer)	77	0,480	0,299	0,195	a : c	0,71
c zima (winter)	26	0,296	0,516	0,239	a : d	3,39
d site životinje (post-prandial)	20	0,452	0,396	0,848	b : c	0,87
					b : d	3,33
					c : d	2,87

nakon hranjenja : zimska ishrana; 1-dan : 2,867; 2-dan : 2,460; 3-dan : 1,744
(postal-prandial : winter) 1st day : 2,867; 2nd day : 2,460; 3rd : 1,744

5. Ukupni sadržaj dušičnih tvari u zimskom razdoblju pokazuje visoki stupanj varijabilnosti. Tako kod gladnih životinja imamo uzak raspon sadržaja dušika, dok je kod sitih životinja znatno viši (vidi tabelu broj 6).

6. Vidljivo je da je korelacioni koeficijent kvantitativnih indikatora znatno niži od 0,4. Ovo potvrđuje činjenicu da su dobiveni podaci neovisni parametri i indikatori koji daju zajedničko kompletno svojstvo.

Tabela 6

grupa (Group)	n	M±s	V	uspoređene grupe (Group compared)	t
a ukupno (total)	110	46,17±13,32	28,84	a : b	0,05
b ljeto (summer)	84	45,21±17,93	39,66	a : c	1,07
c zima (winter)	26	49,27±30,13	61,66	a : d	0,27
d site životinje (postal-prandial)	20	81,75±30,59	37,42	b : c	1,36
				b : d	8,25
				c : d	4,46

Tabela 7

grupa (Group)	n	ph : O ₂	ph : N	O ₂ : N
a ukupno (total)	110	+ 0,38	— 0,32	— 0,005
b ljeto (summer)	84	+ 0,16	— 0,12	— 0,002
c zima (winter)	26	+ 0,05	+ 0,04	— 0,046
d site životinje (post-prandial)	20	+ 0,19	+ 0,03	— 0,130

Doc. dr A. Jančařík

Central Research Institute, Of Animal Production
Uhřetěves ČSSR

Summary

1. An examination of esurial rumen juice, as far as its specific gravity, concentration of hydrogen ions, content of oxidable organic matters and content of total nitrogenous matters are concerned, was carried out in summer and winter periods and compared with postprandial conditions in rumen juice of steers in winter period.

2. The specific gravity of ERJ fluctuated in the range of averages from 1,01830 to 1,01867 in g/ml, with postprandial juices was the average, 1,01843, maximal variability in no group was higher than 0,6% (=V). The differences between the examined group averages were deep under usual significant averages (see tabl 1). The proposed adaptation of rumen juice to ERJ is therefore to be accepted as a suitable way for obtaining of a fluid free from the influence of rumen detritus.

3. Concentration of hydrogen ions in ERJ in very well balanced with a relatively low variability and shows conspicuous differences in comparing with postprandial rumen juice (see Tab. 2).

4. Content of oxidable organic matters in ERJ shows no higher differences during three days after sampling if the juice is stored at —1 to —2°C. Values determined for ERJ are well balanced in a relatively narrow range, whereas the postprandial values show a significant increase (see Tab. 3, 4, 5).

5. Content of total nitrogenous matters, even when it shows in winter period a higher variability, is kept in ERJ in relatively narrow range, on the other hand postprandial juices have the N content significant higher (see Tab. 6).

6. It was ascertained that the correlation coefficients for any couple from the quantitative indicators, given sub 2 to 5, do not only reach the value 0, 4, but they are also much lower. That gives evidence for the fact that the results of each property, ascertained in the mentioned analyses of rumen juice, are independent parameters and indicators and give together a complete characterization (s. also Tab. 7).

LITERATURA

1. Barnot A. J. C., Reid R. L.: Reactions in the rumen. London 1961.
2. Brigge S. K., Hogan J. P., Reid R. L.: The effect of volatile fatty acids, lactic acid and ammonia on rumen pH in sheep. *Austral. J. Agric. Res.* 8:674 — 690, 1957.
3. Cason J. L., Ruby E. S., Stallcup, O. P.: The influence of the ash content of the rumen ingesta on the hydrogen ion concentration in the bovine rumen. *J. Nutrit.* 52:457 — 465, 1954.
4. Clark, R., Lombard W. A.: Studies on the alimentary tract of the Merino sheep in South Africa. XXII. The effect of the pH of the ruminal contents on ruminal motility. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 25:79—92, 1951.
5. Hungate A. E.: Rumen and its microbes. London 1965.
6. Hungate, A. E., Dougherty, R. W., Bryant M. P., Cello R. M.: Microbiological and physiological changes associated with acute indigestion in sheep. *Cornell Vet.* 42:421—449, 1952.
7. Jančařík A., Alexa Z.: Druhá pH-metrická charakteristika esuriální bachoroé šťávy (EBŠ) skotu (Second pH-metrical characteristic of bovine esurient rumen juice). *Symp. on timely questions from the nutrition and feeding of farm animals, Nitra*, 170—171, 1967.
8. Jančařík, A.: Titrační charakteristika hladiny pH v esuriální bachorové šťávě (EBŠ) skotu. (Titration characteristic of pH-level in esurial rumen juice (ERJ) in cattle). *Věd. práce ÚVÚŽV Uhřetěves*, 10, 89—102, 1969.
9. Jančařík A.: Vztah mezi množstvím oxidovatelných organických látek, dusíkatých látek a pH esuriální bachorové šťávy. (Relationship among the quantity of oxidable organic matters, nitrogenous matters and esurial gastric juice pH). *Čs. fyziologie*, 17, 244, 1968.
10. Jančařík A. and Prokšová M.: The breakdown of protein in the rumen in relation to the physical and chemical characters of the rumen juice. VIII th Intern. Congr. of Nutrition, 1969, Abstract of papers.
11. Lewis D.: Digestive physiology and nutrition of the ruminants. London 1961.
12. Orth A.: Untersuchungen über Verdangsvorgänge im Pansen und über die Beeinflussung der Milchzusammensetzung und Qualität durch die Fütterung. *Züchtungskunde* 33:332, 1961.
13. Orth A., Kaufmann W.: Verdauung im Pansen und ihre Bedeutung für die Fütterung der Wiederkäuer, Hamburg 1961.

14. Prokošová M.: Rozpustnost rostlinných bílkovin v bachorové tekutině při různé koncentraci vodíkových iontu. (Solubility of plant proteins in rumen fluid at different concentration of hydrogen ions). Věd. práce ÚVÚŽV Uhřetěves, 131—141, 1969.
15. Prokšová M.: Časový průběh rozpustnosti některých bílkovin v bachorové tekutině skotu. (Time behaviour of solubility of some proteins in rumen fluid in cattle. Čs. fyziologie 1968 g.
16. Prokšová M.: Lösbarkeit pflanzlicher Eiweisstoffe in der Pansenflüssigkeit und in der Pufferlösungen bei verschiedenen Wasserstoffionkonzentrationen. Ztschr. f. Tierphysiologie, Tierernährung u. Futtermittelk. 24, 3, 129—192, 1968.
17. Prokšová M.: Die Reversibilität der physikalischen Luzerno- und Ackerbohneneweiss- Verdauung in Bezug auf die Veränderungen der Wasserstoffionkonzentration im Pansen Milieu. Ztschr. f. Tierphys., Tierernährung und Futtermittelk. 1970 (in press).
18. Prokšová M.: Změny rozpustnosti některých rostlinných bílkovin v bachorové šťávě. (Solubility changes of some plant proteins in rumen fluid.) Živoč. výroba, 12 (XI): 405—416, 1967.
19. Turner A. E., Hodgetts V. E.: Buffer systems in the rumen of the sheep. I. pH and bicarbonate concentration in relationship to pCO₂. Austral. J. Agr. 6:115—124, 1955.
20. Weber E.: Grundriss der biologischen Statistik. Jena 1957.