

Dr Milada Prokšova CSc
Centralni stočarski institut ČSR
Uhrineves kod Praga

**PRILOG POZNAVANJU INTENZITETA RAZGRADNJE BJELANČEVINA
U BURAGU S OBZIROM NA NJIHOVU TOPLJIVOST***

Prilikom ocjenjivanja kvaliteta hrane za preživače, veoma važnu ulogu igra topljivost bjelančevina (iz hrane) u različitim otapalima.

Vrijednost hrane za preživače određujemo pored određivanja količine celuloze i na osnovu topivosti u molarnoj soluciji cuprietilendiamina (DE-HORITY i JOHNSON 1963. i 1964. g.).

Istraživanja koja su vršena na tom području posljednjih godina, ukazuju na postojanje međusobne zavisnosti između intenziteta razgradnje bjelančevina (proteina) iz hrane i njihove topljivosti u različitim otapalima.

Topljivost proteina iz hrane istraživana je do sada u različitim otapalima kao što su: molarna otopina kuhinjske soli (NaCl) (JAYASINGHE 1963. g., PRESTON i WHITELAW 1963. i 1964. g.), zatim u otopini anorganskih soli istog sastava poput slane preživača (HENDERICKS i MARTIN 1961. g. i 1963. g.) i u otopini NaOH (SHERROD i TILMAN 1962. g. i HUDSON i surad. 1968. g.).

U vezi proizvodnje amonijaka u buragu LITTLE sa saradnicima 1963. g. je ispitivao odnose topljivosti proteina iz hrane u različitim otapalima kao što su destilirana voda, natrijev bikarbonat i sterilizirani buragov sok.

Prilikom svojih ispitivanja oni nisu primijetili paralelnu mikrobiološku razgradnju bjelančevina, s obzirom na njihov intenzitet topljivosti u jednom od ispitanih otapala. Na osnovu pregleda niza rezultata istraživanja, došlo se do zaključka da su odnosi između razgradnje bjelančevina (proteina) i njihove topljivosti najsignifikantniji ako se kao otapalo upotrebni sterilizirani buragov sok.

Neki autori smatraju da je iskoristavanje dušika iz hrane za preživače ovisno o topljivosti bjelančevina (TAGARI i surad. 1965. g., KAY i surad. 1966. g. i GLIMP i surad. 1967. g.).

U okviru proučavanja faktora koji djeluju na razgradnju bjelančevina u buragu naša su istraživanja usredotočena na proučavanje topivosti izvjesnih bjelančevina (kazein, bjelančevine iz lucerne i sjemenki graha) u steriliziranom buragovom soku pod različitim uvjetima PROKŠOVA 1967., 1968. i 1969. g., JANČARIK i PROKŠOVA 1970.).

* Prevod dr Z. Robić.

Dobiveni rezultati su pokazali da je stupanj topljivosti različit u odnosu na svojstva buragova soka.

Intenzitet topivosti proučavanih proteina opada s porastom kiselosti (aciditeta) buragovog soka.

Razlika u topivosti pojedinih bjelančevina i koncentracije vodikovih iona je veoma signifikantna.

Opadanje topivosti s obzirom na koncentraciju vodikovih iona (ph) u buragovom soku je najizraženije kod kazeina, manje kod bjelančevina lucerne, a najmanje kod bjelančevina sjemenki graha. Imajući u vidu rezultate vlastitih prethodnih istraživanja usredotočili smo našu pažnju u smjeru permanentnog proučavanja topivosti bjelančevina (proteina).

U okviru naših istraživanja mi smo utvrdili da je smanjenje topljivosti bjelančevina (proteina) u buragovom soku povezana s povećanjem koncentracije vodikovih iona i da je to djelomično ili potpuno reverzibilan proces.

Porast koncentracije vodikovih iona u buragu za vrijeme procesa probave je povezano s povećanjem topljivosti proučavanih bjelančevina (proteina) iz hrane.

Tako npr. kao rezultat resorpcije hlapljivih masnih kiselina (HMK) dolazi do porasta koncentracije amonijaka (NH_3) i promjene u potrebama sline i vode.

Kao cilj naših daljih istraživanja postavili smo si proučavanje procesa razgradnje (disimilacije) biljnih bjelančevina iz buraga u odnosu na njihovu topljivost u buragovom soku.

MATERIJAL I METOD RADA

Buragov sok za naša istraživanja smo uzimali od zaklanih životinja na klaonici s obzirom na činjenicu da smo za naša istraživanja trebali velike količine buragovog soka.

Za svaku analizu mi smo uzimali 200 ml buragovog soka. Procijeđenom buragovom soku (preko sirarskog platna) smo dodali 200 ml bjelančevine kojoj smo ispitivali intenzitet razgradnje.

Kao bjelančevinski supstrat smo upotrebljavali biljne bjelančevine (bjelančevine lucerne) iz sjemenki graha, a kao standardnu bjelančevinu smo upotrebili kazein.

Svaki uzorak je inkubiran u šest umjetnih buraga dok smo za svaki ispitivanu supstrat provodili dvije inkubacije.

Inkubaciju smo vršili s trideset različitih buragovih sokova. Trajanje inkubacije je bilo 24 h kod temperature od 39°C uz konstantno miješanje. Koncentraciju vodikovih iona (ph) smo određivali pomoću automatskog pehametra pisačem.

Nakon završene inkubacije preostale bjelančevine smo određivali primjenom precipitacije triklorocentnom kiselinom.

Prilikom određivanja količine razgrađenih bjelančevina nakon inkubacije uzimamo u obzir i količinu proteina (bjelančevina) prisutnih za vrijeme inkubacije u buragovom soku.

U namjeri da se spriječi mikrobiološka sinteza bjelančevina, inkubiranjem buragovom soku ne dodaju se nikakve supstance izuzevši spomenutog supstrata (HENDERICKS i MARTIN 1961).

Određivanje topljivosti proteina u buragovom soku smo vršili primjenom modificirane metode po LYMAN-u i suradnicima 1953. Uz određivanje količine razgrađenih proteina u buragovom soku mi smo istovremeno vršili određivanje i promjene koncentracije amonijaka (NH_3).

Rezultate istraživanja koncentracije amonijaka (NH_3) u buragovom soku prikazat ćemo u jednom od slijedećih radova.

REZULTATI I DISKUSIJA

Inetenzitet razgradnje bjelančevina u odnosu na njihovu topljivost u buragovom soku je prikazan u grafikonu broj 1.

Na osnovu prikazanih rezultata jasno se uočava ovisnost razgradnje bjelančevina o njihovoj topivosti u buragovom soku. Nakon inkubacije došlo je do razgradnje 73,32% kazeina (topljivost kazeina u istom buragovom soku je iznosila 93,93% kod bjelančevina biljnog porijekla (lucerne) razgradnja je iznosila 26,73% (topljivost u buragovom soku je iznosila 58,73%). Usporedbom razgradnje bjelančevina lucerne i kazeina je utvrđena statistički opravdana razlika.

Najviši stupanj razgradnje bjelančevina je utvrđen kod sjemenki graha gdje je iznosio 21,94%, a topivost u buragovom soku 27,09%. Razlike između stupnja topivosti i intenziteta probavljavosti ispitivanih supstrata su signifikantne.

Opadanjem topivosti proteina u buragovom soku opada i intenzitet njihove razgradnje (disimilacije). Prema tome, vidljivo je, da između stupnja topljivosti i intenziteta razgradnje bjelančevina postoji direktna korelacija.

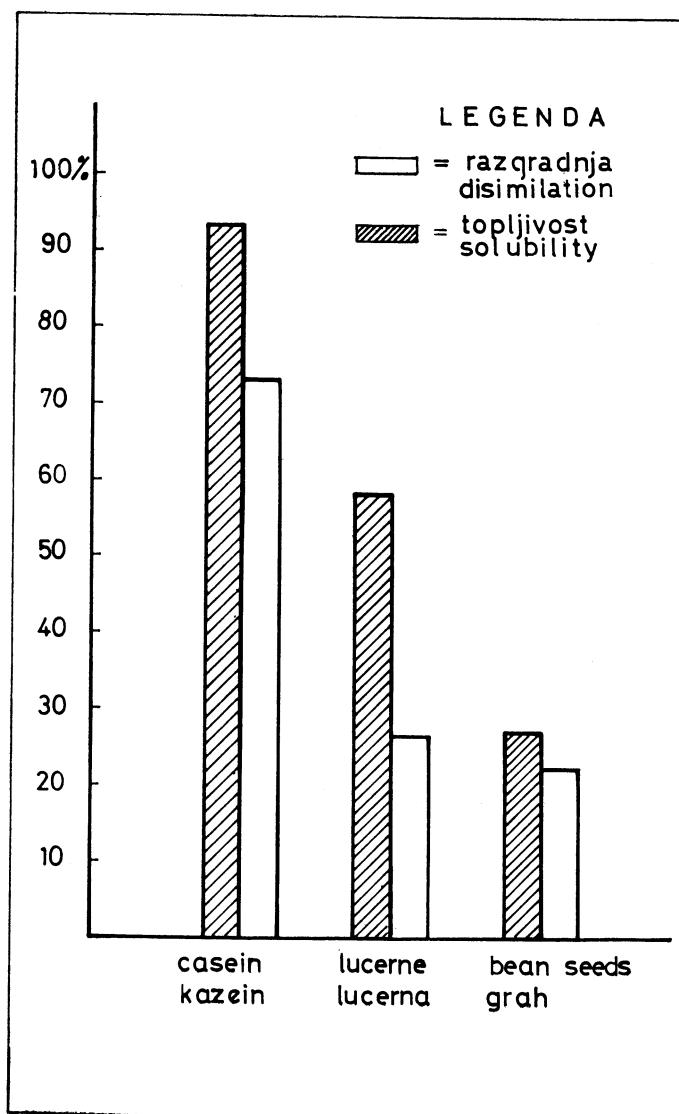
Statističkom analizom je uočeno istovremeno odvijanje procesa razgradnje (disimilacije) i otapanja bjelančevina u buragu. Međutim, ova pretpostavka ne važi u svakom slučaju.

Vrijednost koreacionog koeficijenta između stupnja topivosti i intenziteta razgradnje kazeina u buragovom soku iznosi $r = -0,098$ što nam jasno govori o nepostojanju korelacije. Veći koreacioni koeficijent između topivosti i intenziteta razgradnje smo utvrdili kod biljnih bjelančevina i to kod bjelančevina sjemena graha $r = +0,311$ i kod bjelančevina lucerke $r = +0,416$.

Utvrđena je pozitivna korelacija između razgradnje bjelančevina biljaka (lucerne i sjeme graha $r = +0,488$).

Nikakva korelacija nije utvrđena između biljnih bjelančevina i kazeina. Budući da nije sasvim dokazan odnos između topivosti i intenziteta razgradnje bjelančevina u buragovom soku naše stajalište o tom pitanju nije u suprotnosti sa rezultatima istraživanja LITTLE-a i surad. 1963.

Grafikon br. 1/V



S obzirom da spomenuti autori ne daju rezultate statističke analize, nemoguće je utvrditi u kojoj mjeri su njihovi rezultati u skladu s našima.

U literaturi nismo našli podatke za proteine lucerne i zrna graha, stoga nam je nemoguće izvršiti komparaciju rezultata drugih autora s našima.

LITTLE i suradnici 1963. su istraživali odnos između topivosti i intenziteta razgradnje bjelančevina kod različitih biljki koje se upotrebljavaju u

ishrani domaćih životinja. Rezultati istraživanja ovih autora nisu usporedivi s rezultatima naših istraživanja s obzirom da su se njihova istraživanja odnosila na proteine drugih biljaka (zein, sojin protein itd.). Najuži odnos između topivosti i intenziteta razgradnje je utvrđen kod bjelančevina lucerne.

Unatoč činjenice da je korelacioni koeficijent relativno nizak ($r = +0,416$) njegova kritična vrijednost P je niža od 0,01. Intenzitet razgradnje proteina lucerne pored topivosti u buragovom soku ovisan je i o nizu drugih faktora koje smo dokazali tokom naših pokusa.

Redukcijom topivosti bjelančevina lucerne u buragovom soku možemo nepovoljno utjecati na procese razgradnje u buragu. Ovaj nalaz je značajan zato jer se u obrocima preživača nalazi veliki dio bjelančevina porijeklom iz lucerne.

U našim dalnjim istraživanjima smo utvrdili da odnosi između topljivosti i intenziteta razgradnje bjelančevina (proteina), u buragovom soku, ne ovisi samo o svojstvu buragovog soka već i o svojstvu bjelančevina (proteina) koje su sastavni dio hrane.

Prema tome možemo zaključiti, da ocjena hranjive vrijednosti bjelančevina proteina na osnovu njihove topivosti u buragovom soku i drugim otapalima nije pouzdano mjerilo za kvalitet hrane. Prema tome, ovaj je metod upotrebljiv za donošenje relativnih ocjena hranidbene vrijednosti bjelančevina u stočnoj hrani i upotrebljava se samo u svrhu donošenja orientacionih sudova.

U radovima koji istražuju ovisnost razgradnje bjelančevina u stočnoj hrani i njihovu topljivost autori nisu istraživali korelaciju između topljivosti i intenziteta razgradnje bjelančevina (proteina) u buragovom soku.

Prema tome su svi zaključci izvršeni na temelju podataka razgradnje bjelančevina.

Ako primijenimo ovu metodiku u našim istraživanjima doći ćemo do istih zaključaka, no međutim razlika u odnosima topivosti i intenziteta razgradnje pojedinih bjelančevina (iz hrane) u buragovom soku je posljedica vrlo složenog procesa koji se odvija pod utjecajem niza faktora čije djelovanje ima različiti učinak na proces razgradnje.

Ukoliko želimo uspješno regulirati proces razgradnje proteina i utjecati na iskorištenje iz hrane neophodno je poznavati sve faktore koji su uključeni u proces razgradnje bjelančevina.

ZAKLJUČAK

Kazein i dvije biljne bjelančevine (iz lucerne i zrna graha) su podvrgnuti inkubaciji s nesteriliziranim buragovim sokom u umjetnom buragu. Nakon 20-satne inkubacije razgrađeno je 73,32% kazeina (prosječna topivost kazeina u istom buragovom soku je iznosila 93,93%).

Intenzitet bjelančevina lucerne pod istim uvjetima je bio signifikantno niži 26,73% (topljivost 58,73%).

Najniži intenzitet razgradnje bjelančevina je primijećen kod zrna graha iznosio je 21,94% (topljivost 27,09%).

Ovi nam rezultati ukazuju na postojanje korelativnih odnosa između topivosti i intenziteta razgradnje bjelančevina u sadržaju buraga.

Na osnovu statističke obrade utvrđeno je da ova pretpostavka ne vrijedi u svim slučajevima.

Utvrđeno je da između topljivosti i intenziteta razgradnje kazeina u buragovom soku nema korelacije ($r = -0,098$). Viši koreacioni koeficijenti su utvrđeni za bjelančevine zrna graha ($r = +0,311$), a najviši za bjelančevine lucerne ($r = +0,416$).

Rezultati dobiveni na osnovu ovih eksperimenata ukazuju nam na činjenicu na se procjena hranjive vrijednosti proteina (bjelančevina) na osnovu njihove topljivosti u buragovom soku mogu upotrebljavati samo u orijentacione svrhe.

Faktori koji reduciraju topljivost bjelančevine djeluju nepovoljno na intenzitet njihove razgradnje u buragu (ovo je osobito uočljivo kod obroka s lucernom).

Dr. M. Prokšová

Central research institute of animal production
Uhříněves ČSSR

SUMMARY

Casein as well as two plant proteins (lucerne and bean-seeds proteins) were incubated with non-sterilized rumen fluid in an artificial rumen. After 20 hours lasting incubation 73,32% of the casein was breakdown on the average (the mean solubility of casein in the same rumen fluids was 93,93%), the dissimilation of lucerne protein under the same conditions was significantly smaller, i. e. 26,73% (the solubility 58,73%) and the lowest dissimilation was found for the proteins from bean seeds (21,94%, the solubility 27,09%). It would appear that between the intensity of solubility of proteins in the rumen juice and the intensity of their breakdown in the rumen content existed a direct correlation. The statistical evaluation shows, however, that this presumption does not hold good in all cases. Between the solubility and dissimilation in rumen fluid does not exist any provable correlation ($r = -0,098$).

Higher values of correlation coefficients were ascertained for the solubility and breakdown of bean-seeds proteins ($r = +0,311$) and the closest relation was detected between the solubility and breakdown of lucerne proteins ($r = +0,416$, critical value $P < 0,01$).

The results obtained by these experiments prove that the assessment of the nutritive value of proteins for ruminants on base of thier solubility in the rumen juice can be used mainly for a rough evalauation of the feeds-tuffs proteins for orientation purposes. The factors with a reducing effect upon solubility, at least partly (especially in the rations with lucerne) influence unfavourably also their breakdown in the rumen.

LITERATURA

1. Danke R. J., Sherrod L. B., Nelson E. C. and Tillman A. D.: Effect of autoclaving and steaming of cottonseed meal for different lengths of time on nitrogen solubility and retention in sheep. *J. Anim. Sci.* 25, 181, 1966.
2. Dehority B. A. and Johnson R. R.: Cellulose solubility as an estimate of cellulose digestibility and nutritive value of graff. *J. Anim. Sci.* 22, 222, 1963.
3. Dehority B. A. and Johnson R. R.: Estimation of the digestibility and nutritive value of forages by cellulose and dry matter solubility methods. *J. Anim. Sci.* 23, 203, 1964.
4. Hendericks H. and Martin J.: La dégradation de caillé dans la rumen. *Festschrift zum VIII. Intern. Tierzuchtkongress in Hamburg. II. Nutrit. Physiol. in the rumen* 44, 1961.
5. Hendericks H. and Martin J.: In vitro study of the nitrogen metabolism in the rumen. *Comptes Rendus de Recherches I. R. S. I. A.*, Bruxelles, 31, 1963.
6. Glimp H. A., Karr M. R., Little C. O., Woolfolk K. V., Mitchell G. E. Jr., and Hudson L. W.: Effect of reducing soybean protein solubility by dry heat on the protein utilization of young lambs. *J. Anim. Sci.* 26, 858, 1967.
7. Hudson L. W., Glimp H. A., Little C. O. and Woolfolk P. G.: Effect of level solubility of soybean protein on its utilization by young lambs. *J. Anim. Sci.* 28, 279, 1969.
8. Jančářík A. and Prokšová M.: The breakdown of proteins in the rumen in relation to the physical and chemical characters of the rumen juice. *Excerpta Medica* (in press) 1970.
9. Jayasinghe J. P.: Determination of salt-peptizibility of nitrogen in some concentrate meals as a technique for preliminary assessment of protein values for ruminants. *Ceylon Vet. Res.* 11, 41, 1963.
10. Kay M., Preston T. R., Mac Leod N. A. and Philip Euphemia A. B.: Nutrition of the early-weaned calf. IX. Nitrogen retention from different protein sources in calves fed ad libitum. *Anim. Prod.* 8, 43, 1966.
11. Little C. O., Burroughs W. and Woods W.: Nutritional significance of soluble nitrogen in dietary proteins for ruminants. *J. Anim. Sci.* 22, 358, 1963.
12. Lyman C. M., Chang W. T. and Couch J. R.: Evaluation of protein quality in cottonseed meals by chick growth and by a chemical index method. *J. Nutrit.* 49, 679, 1953.
13. Preston T. R. and Whitelaw F. G.: The effect of solubility and amino acid composition on the utilization of protein by weaned calves. *Festschrift zum VIII. Intern. Tierkongress in Hamburg. Themě: Ernährung* 256, 1961.
14. Prokšová M.: Změny rozpustnosti některých rostlinných bílkovin v báchorové štavě. *Zivočišná výroba* 12 (XL), 405, 1967.

15. Prokšová M.: Rozpustnost rostlinných bílkovin v bachorové štavě při různé koncentraci vodíkových iontů. Věd. práce ÚVÚŽV 10, 131, 1969.
16. Prokšova M.: Lösbarkeit pflanzlicher Eiweisstoffe in der Pansenflüssigkeit und in den Pufferlösungen bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Ztschr. f. Tierphysiologie, Tierernährung u. Futtermittelkunde 24, 152, 1968.
17. Sherrod L. B. a. Tillman A. D.: Effects of varying the processing temperature upon the nutritive values for sheep of solvent extracted soybean and cottonseed meals. J. Anim. Sci. 21, 901, 1962.
18. Tagari H., Ascarelli I. a. Bondi A.: The influence of heating on the nutritive value of soya-bean meal for ruminants. Brit. J. Nutr. 16, 237, 1962.
19. Whitelaw F. G., Preston T. R. a Mac Leod N. A.: The nutrition of the early weaned calf. VII. The relative value of four different fish meal products as the major protein source in the diet. Anim. Prod. 6, 25, 1964.