

ВЕЛИЧИНА ВОДНЕВОГО ПОКАЗНИКА ТА КОНЦЕНТРАЦІЯ ЛЕТКИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ВМІСТІ РУБЦЯ КОРІВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦІЇ СИЛОСУ (IN VITRO) З РІЗНИМ РІВНЕМ РОЗЩЕПЛЮВАННЯ В РУБЦІ ПРОТЕЇНУ

В. В. Дубінський

Інститут біології тварин УААН

У статті представлені результати досліджень впливу силосу злакового різнотрав'я з різним вмістом розщеплюваного в рубці протеїну на ферментативні процеси у рубці корів in vitro, зокрема величини водневого показника та концентрації летких жирних кислот. Установлено, що силос з низьким вмістом розщеплюваного в рубці протеїну (40,9 % від сирого протеїну) порівняно з контрольними пробами, у яких рівень цього протеїну був вищим (48,2 % від сирого протеїну), впродовж 28-добового експериментального періоду спричиняє вірогідне зростання концентрації летких жирних кислот та зниження рівня водневого показника.

Ключові слова: КОРОВИ, ШТУЧНИЙ РУБЕЦЬ, РОЗЩЕПЛЮВАНИЙ В РУБЦІ ПРОТЕЇН, СИЛОС, ЛЕТКІ ЖИРНІ КИСЛОТИ, рН.

Використання кормового протеїну жуйними тваринами залежить від фізико-хімічних характеристик, і насамперед, від розщеплювання мікроорганізмами рубця. Прийняте у нашій країні нормування раціонів для корів за вмістом сирого і перетравного протеїну призводить до перевитрат кормового протеїну. У країнах із розвинутим молочним скотарством розроблені системи протеїнового живлення, які враховують розщеплюваність протеїну у рубці [1]. Сирий протеїн корму (СП) складається з розщеплюваного протеїну та небілкових азотних сполук. Вміст сирого протеїну в зеленому кормі може досягати рівня 50–300 г на кг⁻¹ і коливатися у межах 65–95 % від сухої речовини [2].

Розщеплюваний протеїн, в свою чергу, поділяється на розчинний, нерозчинний та зв'язаний з рослинними клітинами протеїн. Під час силосування відбувається незначний мікробний розпад перетравного протеїну. Цей розпад можна описати як протеоліз [3]. Однак до цього часу залишаються невідомими масштаби та інтенсивність цих протеолітичних процесів. Негативом цих процесів є зниження кількості розщеплюваного протеїну [4, 5].

Метою нашої роботи було вивчити зміни величини водневого показника та продукції летких жирних кислот при інкубуванні силосу злакового різнотрав'я з різним рівнем розщеплюваного протеїну в системі «штучний рубець» in vitro.

Матеріали і методи

Дослід проводили, використовуючи інкубаційну систему «штучний рубець». Прилад складається з ферментерів поміщених у водяну баню. Ця система імітує прийом корму, скорочення рубця та підтримку сталої кількості рідини всередині ферментерів протягом тривалого періоду за рахунок надходження буферного розчину та відтоку надлишку рідини. У якості стартового інокуляту використовували вміст рубця корови.

Вміст рубця для інкубації відбирали у нелактуючої корови живою масою 600 кг, німецької чорно-рябої породи, за допомогою металевого зонда через отвір фістули, з вентрального відділу краніального мішка. У кожен ферментер вносили 500 мл фільтрату, 12 г сіна, 3,4 г комбікорму. Протягом двох хвилин проводили дегазацію приладу

вуглекислим газом для отримання анаеробних умов середовища. Підготовча фаза тривала з 1-го по 8-й день, фаза досліду — з 9-го по 19-й день, фаза відпочинку — з 20-го по 28-й день безперервної інкубації. Починаючи з 9-го дня ферментації, у контрольні ферментери замість сіна вносили силос з контрольного господарства, де рівень розщеплюваного протеїну був 48,2 %, а в дослідні ферментери — силос з рівнем розщеплюваного протеїну 40,9 % (табл. 1). Аналіз силосу проводили у інституті годівлі Вищої ветеринарної школи м. Ганновер, Німеччина. З 20-го дня замінили силос на сіно. Кожен день в однакові проміжки часу, проводили заміну мішечків з кормом на нові і відбір проб. Для визначення концентрації летких жирних кислот використовували рідину з ферментерів вільну від фракцій найпростіших та рослинних частинок. Аналіз проб здійснювали за допомогою газового хроматографа GC-9. Рівень рН визначали іономіром WTW 91.

Таблиця 1

Вміст поживних речовин у 1 кг силоса

Показник	Контроль	Дослід
СР г/кг корму	341	321
СЗ г/кг корму	39,8	35,3
СП г/кг корму	59,3	55,8
ПП г/кг корму	28,6	22,8
РП % від СП	48,2	40,9
СЖ г/кг корму	11,1	11,0
СК г/кг корму	94,8	89,8
НДК г/кг корму	180	167
КДК г/кг корму	108	102
рН	4,70	4,37

Примітки: СР — суха речовина, СЗ — сира зола, СП — сирий протеїн, РП — розщеплюваний у рубці протеїн, СЖ — сирий жир, СК — сира клітковина, НДК — нейтральна детергент на клітковина, КДК — кисла детергент на клітковина

Результати й обговорення

При дослідженні водневого показника вмісту рубця у ферментерах встановлено, що у першу добу підготовчої фази ферментації він був у всіх пробах на рівні 6,6 одн. (рис. 1). Починаючи з другої доби ферментації, його значення збільшувалося пропорційно у контрольній та дослідній групах і на 9-ту добу ферментації показники були майже на одному рівні. У дослідну фазу інкубації, починаючи з 10-ї доби, рівень рН різко знижувався у дослідних групах і зберігався на такому рівні до кінця дослідної фази. Найнижчого рівня значення рН досягло на 12-ту добу ферментації ($6,62 \pm 0,026$; $p < 0,05$). Після припинення внесення досліджуваного силосу значення рН поверталось до вихідного рівня. У контрольних ферментерах значення рН протягом всього періоду ферментації у фази досліду та післядосліду залишалось на відносно стабільному рівні. Величина рН вмісту рубця — важливий показник, який характеризує кислотно-лужний баланс у рубцевій рідині та визначає стан рівноваги між важливими метаболітами: з одного боку — леткими жирними кислотами і молочною кислотою, з іншого — між аміаком, бікарбонатом і фосфатами [6]. Зниження величини рН вмісту рубця у фазу досліду може бути обумовлено зростанням бродильних процесів при розпаді вуглеводів у рубці та антиперестальтичним скороченням сичуга, внаслідок чого його кислий вміст частково повертається у передшлунки [7]. У системі «штучний рубець» рівень рН залежить від надходження буферного розчину, кислотності корму та продукування ЛЖК мікроорганізмами рубця [8, 9].



Рис. 1 Динаміка водневого показника у вмісті рубця (n=18)

У фазу переддослідду відзначали незначне коливання концентрації оцтової кислоти як у контрольних, так і у дослідних пробах (рис. 2). Проте, вище за $46,9 \pm 1,45$ ммоль/л її значення не підвищувалось. У фазу дослідду, спостерігали підвищення концентрації оцтової кислоти у дослідних зразках до $50,8 \pm 1,79$ ммоль/л. Разом з тим, відмічали тенденцію до підвищення її концентрації і у контрольних пробах. У фазу післядослідду спостерігали тенденцію до зниження концентрації оцтової кислоти у дослідних пробах.

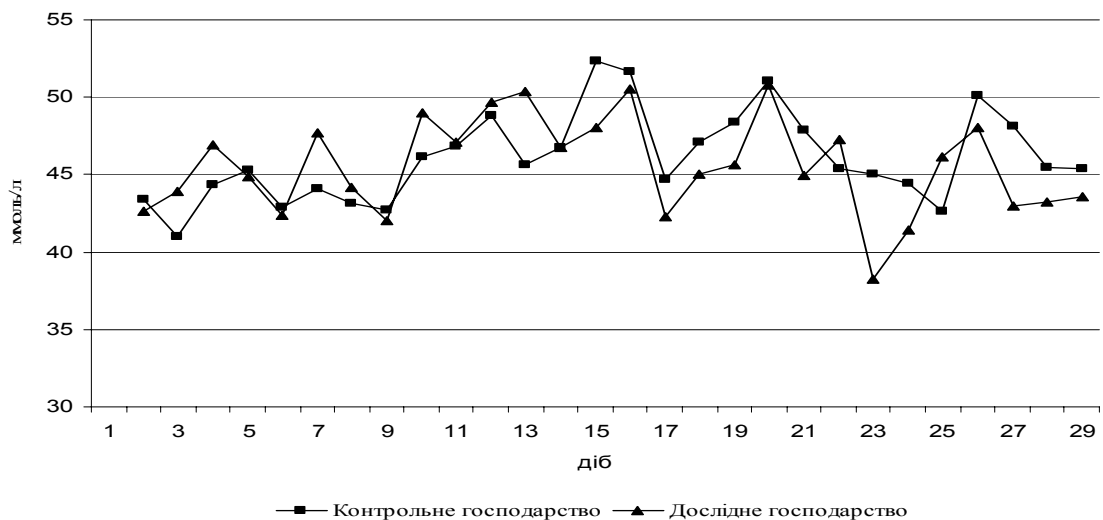


Рис. 2. Динаміка оцтової кислоти (n=18)

Починаючи з першого дня ферментації, прослідковували тенденцію до поступового і незначного зростання концентрації пропіонової кислоти у фазу переддослідду (рис. 3). Вірогідним значення було у дослідних пробах на третю добу ферментації ($21,8 \pm 0,68$; $p < 0,05$). Починаючи з 9-ї доби дослідду, концентрація пропіонової кислоти почала зростати у дослідних пробах. Найвищою концентрація була у фазу дослідду на 13-ту добу ($31,8 \pm 1,70$; $p < 0,05$) у дослідній групі. У контрольних пробах у фазу дослідду також відмічали зростання концентрації пропіонової кислоти. Після закінчення введення досліджуваного силосу у вміст рубця *in vitro*, спостерігали тенденцію до зниження концентрації пропіонової кислоти у фазу післядослідду. Проте таке зниження не було вірогідним.

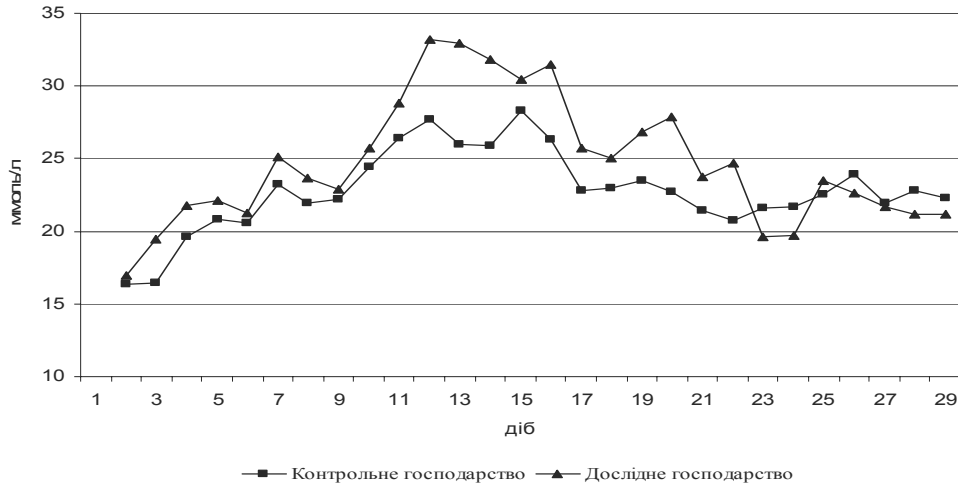


Рис. 3. Динаміка пропіонової кислоти (n=18)

У фазу переддослідду ми прослідковували однакову динаміку зростання концентрації і-масляної кислоти, починаючи з 3-ї доби дослідду (рис. 4). Після цього її концентрація зберігалась відносно сталою до кінця фази переддослідду у контрольних та дослідних пробах. У фазу дослідду відбулось вірогідне зростання концентрації і-масляної кислоти у дослідних пробах. Найвищою концентрація і-масляної кислоти була на 17-ту добу дослідду ($1,3 \pm 0,09$ ммоль/л; $p < 0,01$) у дослідній групі, порівняно до контролю. У контролі відмічали зростання концентрації і-масляної кислоти у фазу дослідду. Починаючи з першої доби фази післядослідду, концентрація і-масляної кислоти знижувалась у контрольній та дослідній групах.

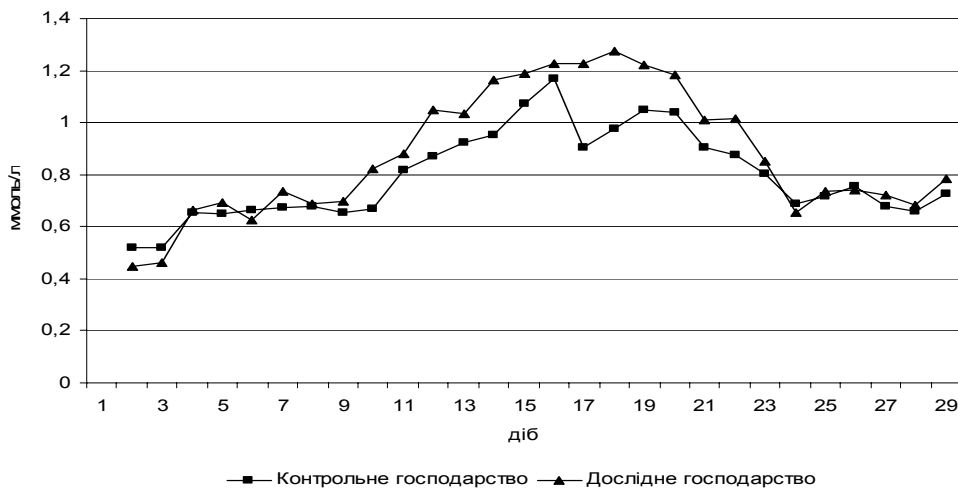


Рис. 4. Динаміка і-масляної кислоти (n=18)

На початку експерименту концентрація n-масляної кислоти у контрольних та дослідних пробах була відносно однаковою і утримувалась на такому рівні до кінця фази переддослідду (рис. 5). У фазу дослідду було відмічено зростання концентрації n-масляної кислоти у дослідній та контрольній групах і найвищого значення вона досягла на 14-ту добу дослідду ($15,8 \pm 1,07$ ммоль/л). У контрольних пробах її зростання було незначним. У фазу післядослідду спостерігали зниження концентрації n-масляної кислоти у всіх групах. При цьому зниження її концентрації до вихідного значення відбулось не одразу, а починаючи з 24-ї доби дослідду. Проте таке зниження не було вірогідним.

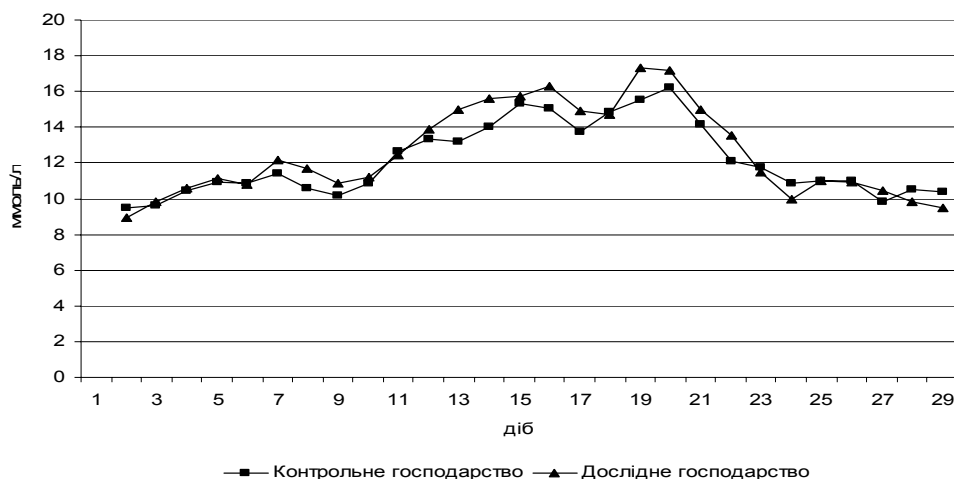


Рис. 5. Динаміка п-масляної кислоти (n=18)

У першу добу переддослідду вірогідне значення концентрації і-валеріанової кислоти у дослідних пробах становило ($0,84 \pm 0,055$ ммоль/л; $p < 0,05$). До кінця фази переддослідду її концентрація не перевищувала 4 ммоль/л і була на майже однаковому рівні у всіх досліджуваних пробах (рис. 6). У фазу дослідду її концентрація зросла у дослідних пробах ($4,9 \pm 0,34$ ммоль/л; $p < 0,05$). Зростання концентрації і-валеріанової кислоти продовжувалось протягом всієї фази дослідду і найвищого значення досягло на 15-ту добу ($6,3 \pm 0,32$ ммоль/л; $p < 0,001$). У контрольних пробах зростання концентрації було мінімальним. У фазу післядослідду концентрація і-валеріанової кислоти знизилась у дослідній групі до $5,9 \pm 0,36$ ммоль/л ($p < 0,01$).

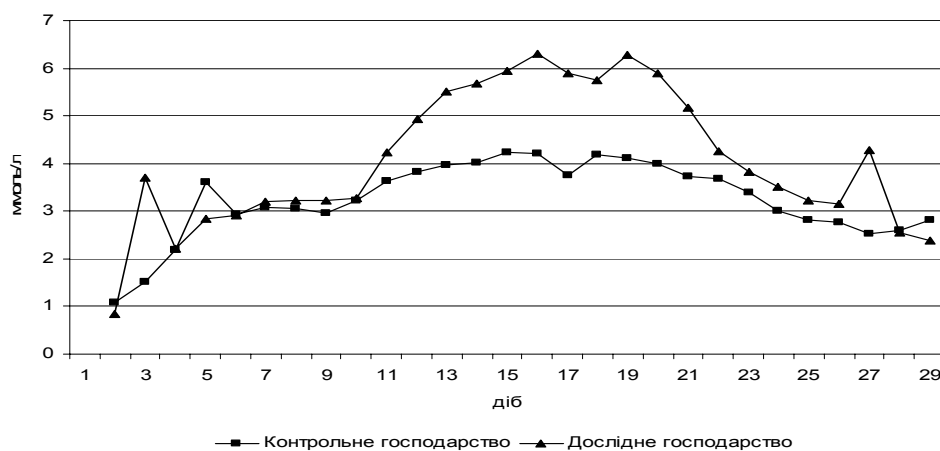


Рис. 6. Динаміка і-валеріанової кислоти (n=18)

Концентрація п-валеріанової кислоти у фазу переддослідду у дослідних пробах становила на 6-ту добу $2,77 \pm 0,080$ ммоль/л ($p < 0,05$), на 7-му добу $2,73 \pm 0,101$ ммоль/л ($p < 0,01$) (рис. 7). Протягом фази переддослідду концентрація п-валеріанової кислоти зростала однаково пропорційно у всіх групах. Після введення досліджуваного силосу концентрація кислоти почала зростати у обох групах проб. Найвищого значення вона досягла у дослідній групі на 19-ту добу ($5,1 \pm 0,3$ ммоль/л; $p < 0,01$). У контролі відмічали тенденцію до зростання концентрації кислоти. У фазу післядослідду її концентрація знизилась у дослідних пробах ($4,5 \pm 0,34$ ммоль/л; $p < 0,05$). До кінця фази післядослідду концентрація кислоти продовжувала знижуватись у всіх досліджуваних пробах.



Рис. 7. Динаміка п-валеріанової кислоти (n=18)

Концентрація гексанової кислоти у фазу переддослідку у контрольній та дослідній групах була на відносно однаковому рівні і до кінця фази переддослідку не перевищувала 1 ммоль/л (рис. 8). У фазу дослідку відмічали зростання її концентрації у дослідній групі. Найвищою концентрація гексанової кислоти була у дослідній групі на 18-ту добу ($2,0 \pm 0,32$ ммоль/л; $p < 0,05$). У контролі зростання концентрації було мінімальним. У фазу післядослідку відмічали тенденцію до зниження концентрації гексанової кислоти у дослідній групі ($0,7 \pm 0,11$ ммоль/л). До кінця фази післядослідку прослідковували подальше зниження її концентрації.



Рис. 8. Динаміка гексанової кислоти (n=18)

Сума легких жирних кислот показує динаміку зміни їх концентрації залежно від фази дослідку. Аналізуючи зміни концентрації ЛЖК у фазу переддослідку, встановлено коливання її концентрації (рис. 9). В цілому, у фазу переддослідку концентрація ЛЖК у всіх групах не перевищувала 93 ммоль/л. Чітке зростання концентрації відмічали, починаючи з першого дня фази дослідку. Тенденція до зростання концентрації ЛЖК спостерігалась і у контрольних пробах. Проте таке зростання завжди було незначним і не перевищувало значень у дослідній групі. У фазу післядослідку спостерігалась тенденція до зниження концентрації суми легких жирних кислот як у контрольних, так і у дослідних пробах.

Оцтова, пропіонова та масляна кислоти складають більше 95 % утворених мікрофлорою рубця ЛЖК [10]. Фізіологічні значення суми ЛЖК у рубці корів становлять 60–120 ммоль/л [11]. Основними продуцентами легких жирних кислот у рубці є *Butyrivibrio fibrisolvens* [12], таким чином припускається активуючий вплив досліджуваного силосу на популяції цих мікроорганізмів. Встановлено, що споживання тваринами кормів із зниженим рівнем розчинності перетравного протеїну призводило до зростання протеолітичної активності мікроорганізмів та зростання вмісту ЛЖК у вмісті рубця [13]. Зростання

розгалужених жирних кислот і-масляної, і-валеріанової може бути пов'язано із менш інтенсивним синтезом розгалужених амінокислот і із більш інтенсивним розпадом протеїну раціону [14].



Рис. 9. Динаміка суми летких жирних кислот (n=18)

Висновки

Дослідження проведені в системі «штучний рубець» показали вірогідне зростання концентрації летких жирних кислот та зниження рівня водневого показника у вмісті рубця корів під впливом трав'яного силосу з низьким рівнем розщеплюваного в рубці протеїну (40,9 % від сирого протеїну), порівняно з контрольними, у яких кількість розщеплюваного протеїну була вищою (48,2 % від сирого протеїну). Це дозволяє зробити припущення про негативний вплив силосу зі зниженим рівнем перетравного протеїну на ферментативні процеси в рубці корів.

Перспективи подальших досліджень. Передбачається дослідження впливу різних кормових чинників на утворення вільних амінокислот мікроорганізмами у вмістимому рубця корів *in vitro*.

V. V. Dubinskiy

RESULTS OF THE CHROMATOGRAPHY OF FLYING FAT ACIDS AT THE FERMENTATION OF THE SILO WITH DIFFERENT LEVEL OF PROTEIN IN VITRO

Summary

In article the presented results of researches of influence of a silo with different contents a protein on fermentation processes in a hem of cows *in vitro*, in particular sizes of a hydrogen indicator and concentration of flying fat acids. It is established that on an extent the 28-days experimental period authentic growth of concentration of flying fat acids and decrease in level of a hydrogen indicator under the influence of a silo with level a protein of 40,9 % from a crude protein was observed. At the same time, in control tests where level a protein made 48,2 % from a crude protein, changes of noted indicators were insignificant.

V. V. Дубинский

ВЕЛИЧИНА ВОДОРОДНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ И КОНЦЕНТРАЦИЯ ЛЕТАЧИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В СОДЕРЖИМОМ РУБЦА КОРОВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ СИЛОСА (IN VITRO) С РАЗНЫМ УРОВНЕМ РАСЩЕПЛЯЕМОГО ПРОТЕИНА

Аннотация

В статье представлены результаты исследований влияния силоса злакового разнотравья с разным содержанием расщепляемого протеина на ферментативные процессы в

рубце корів *in vitro*, в частині величини водородного показателя и концентрації летучих жирних кислот. Установлено, що на протязі 28-добового експериментального періода відбувся достовірний ріст концентрації летучих жирних кислот и зниження рівня водородного показателя під впливом силосу з рівнем розщеплюваного протеїна 40,9 % від сирого протеїна. Разом з тим, в контрольних пробах, де рівень розщеплюваного протеїна становив 48,2 % від сирого протеїна, зміни позначених показателів були незначительними.

1. *Невоструєва І. В.* Перетравлення поживних речовин в шлунково-кишковому тракті корів при зниженні в раціоні кількості розщеплюваного в рубці протеїну / Невоструєва І. В., Вудмаска І. В. // Біологія тварин. — 2008. — Т. 10, № 1, 2. — С. 205–210.
2. *Jeroch H.* Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. / Jeroch H., Drochner W., Simon O. // Stuttgart : Verlag Eugen Ulmer, 1999. — С. 56–89.
3. *McDonald P.* The Biochemistry of Silage / McDonald P., Henderson A. // Cambrian Printers Ltd, Aberystwyth, second edition. — 1991. — С. 254–299.
4. *Licitra G.* Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feed // Anim. Feed Sci. Technol. — 1996. — P. 347–358.
5. *Shannak K.* Estimating ruminal crude protein degradation with *in situ* and chemical fraction procedures / Shannak K., Sudekum H., Susenbeth A. // Anim. Feed Sci. Tec. — 2000. — P. 195–214.
6. *Чуб О. В.* Показники вмісту рубця у телят при вирощуванні на молоці та грубих концентрованих кормах / Чуб О. В. // Вісник БДАУ. — 2005. — Вип. 33. — С. 272–277.
7. *Влізло В. В.* Зміщення сичуга вправо / Влізло В. В. // Вет. Медицина України. — 1999. — № 12. — С. 32–33.
8. *Raaz A.* Aktivitaetsaenderungen (in vitro) von Pansensaft des Rindes in Abhaengigkeit von Art und Dauer extraruminalen Lagerung // Diss., Tieraerztl. Hochsch. Hannover — 1993. — S. 102–103.
9. *Krakow L.* Untersuchungen RUSITEC-System zum Einfluss von Magnesiumoxid auf Fermentationsvorgaenge im Panseninhalt des Rindes // Diss., Tieraerztl. Hochsch. Hannover. — 1992. — S. 56–98.
10. *Scheunert A.* Lehrbuch der Veterinär-Physiologie / Scheunert A., u. A. Trautmann // Verlag Parey, Berlin, Hamburg. — 1987. — S. 84–119.
11. *Dirksen G.* Verdauungsapparat / G. Dirksen, H. Gruender u. M. Stoeber // Die klinische Untersuchung des Rindes, 3. Auflage. Verlag Parey, Berlin, Hamburg. — 1990. — S. 288–400.
12. *Russel J. B.* Energy yielding and consuming reactions. in: P. N. Hobson / Russel J. B., u. R. J. Wallace // The rumen microbial ecosystem. Elsevier Applied Science, London, New York. — 1988. — S. 185–216.
13. *Камбур М. Д.* Рубцева ферментація та забезпеченість молочної залози попередниками для синтезу складових компонентів молока залежно від рівня надходження поживних речовин / Камбур М. Д. // НТБ. — 2007. — Вип. 8, № 1, 2. — С. 237–243.
14. *Невоструєва І. В.* Вплив екструзії зернових кормів і обробки формальдегідом соняшникової макухи на ферментативні процеси у рубці корів / Невоструєва І. В., Галяс Г. М., Вудмаска І. В. // Наук.-техн. бюлетень ІБТ УААН. — 2008. — Вип. 9, № 1, 2. — С. 116–120.

Рецензент: завідувач лабораторії обміну речовин, к. б. н. Ю. Т. Салига.