

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ**ЕФЕКТ НА МУЛТИЕНЗИМНИ ФИБРОЛИТИЧНИ ПРЕПАРАТИ
ВЪРХУ СЪОТНОШЕНИЕТО НА КЪСО, СРЕДНО
И ДЪЛГОВЕРИЖНИ МАСТНИ КИСЕЛИНИ В ТЪРБУХОВОТО
И ДУОДЕНАЛНОТО СЪДЪРЖАНИЕ НА ШИЛЕТА**

НАТАЛИЯ ГРИГОРОВА

Тракийски университет, Аграрен факултет - Стара Загора

Търбухът на преживните животни се населява от огромен брой разнообразни микроорганизми - бактерии, инфузории и гъбички, чиито популации са високо концентрирани (104 до 1010). Изследванията показват, че от 70 до 85% от сухото смислаемо вещество на дажбата се разгражда под влияние на ензимните системи продуцирани от микроорганизмите в търбуха (Русев, 1976). Получават се различни крайни продукти, като летливи мастни киселини, аминокиселини, амоняк, въглероден диоксид и други, а натрупаните в микробните клетки хранителни вещества са източник на нутритивни компоненти и енергия за макроорганизма. С добавянето на фибролитични ензимни препарати в дажбите на преживни животни изследователите целят да повишат оползотворяването на приетите фуражи, чрез по-пълно разграждане на влакнините от дажбата и съответно да увеличат процента на добитата продукция. Попадналите в търбуха ензимни препарати обаче влизат в сложни взаимоотношения с наличната микрофлора и фауна, като променят нейния брой и съотношение. Всеки микроорганизмов вид съдържа различни видове белтъчини, мазнини и въглехидрати. Следователно, ензимните препарати оказват не само прост хидролитичен ефект, а променят състава и количеството на хранителните източници за макроорганизма. Това ни дава основание да смятаме, че добавката на фибролитични и протеолитични ензимни препарати в дажбата на

преживни животни може да повлияе както въглехидратната и протеиновата, така и мастната обмяна на приетите хранителни вещества.

Липидите в традиционните дажби за преживни животни са сравнително малко. Препоръчаното количество от специалистите по хранене е до 7% (Jenkins, 1993; Doreau et al., 1997; National Research Council, 2001), но при нормални условия загубата на средно и дълговерижни мастни киселини в предстомашията както чрез резорбция, така и чрез катаболизирането им до летливи мастни киселини или въглероден диоксид е сравнително малко, тъй като микроорганизмите синтезират мастни киселини *de novo* от въглехидратни предшественици (Jenkins, 1993).

Именно по тази причина малките на пръв поглед вмешателства в търбуховата екосистема могат значително да повлияят съотношението на търбуховите мастни киселини. В допълнение, редица автори установяват съществени различия в мастнокиселинния профил на бактериите, инфузориите и дрождите в търбуха, както и наличие на специфични ензимни системи, вземащи участие в процеса на насищане или отнемане на водородни атоми от мастните киселини (Keeney, 1970; Devillard et al., 2004; Or-Rashid, 2007).

Целта на настоящото изследване бе да се установи ефектът на мултиензимните препарати *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху съотношението на мастните киселини с

дължина на въглеродородната верига от C4 до C18 в търбуховата течност и химус от проксималната част на дуоденума при шилета, хранени с дажби с различно протеиново и липидно ниво.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За реализиране на поставената цел проведохме опит с девет броя мъжки шилета, от Черноглава плевенска порода със средна жива маса 45.200 kg в началото на опита. Животните разделихме в три групи по три броя. Отглеждахме ги в индивидуални боксове, в закрито помещение с постоянен достъп до вода за пиене и сол за близане. Експеримента организирахме в три периода - контролен и два опитни. По време на контролния период, I група шилета изхранвахме с дажба, състояща се от 1 kg ечемик и 1 kg ливадно сено, тези от II група - 0.800 kg ечемик, 0.200 kg слънчогледов шрот и 1 kg ливадно сено, а животните от III група хранехме с дажба, съставена от 0.800 kg ечемик, 0.200 kg слънчогледов експелер и 1 kg ливадно сено. Дажбите залагахме двукратно в 8.00 и 13.00 часа. Химичният състав на използваните фуражи за трите групи животни е представен в табл. 1.

По време на първия опитен период към дажбите на трите групи животни добавяхме ензимен препарат *Hostazym C 100* в доза 1 g/kg концентриран фураж, вложен в концентратната смес 10 дни преди използването. През втория опитен период към концентрирания фураж на трите изследвани групи, десет дни преди залагането на фуража, добавихме ензимния препарат *Hostazym X 100*, също в

доза 1g/kg концентриран фураж.

Двадесет дни преди началото на опита подложихме животните на оперативна интервенция - поставяне на канюли на дорзалния мях на търбуха. На две животни от всяка група поставихме и канюли на краниалната част на дуоденума (на 4-6 cm от пилора). Използвани бяха методи по **Aliev** (1960).

Търбухово съдържание и дуоденален химус за изследване вземахме през всеки период в продължение на четири дни, двукратно - преди хранене и 2.5 h след хранене. Екстрахирането на мастните киселини осъществихме по метода на **Folch** (1957) с модификация за търбухово и дуоденално съдържание по **Димов, В.** (непубликувани данни). Метилловите естери на мастните киселини бяха анализирани чрез газов хроматограф Ray Unicam 304 с пламъчно йонизационен детектор, ръчна инжекционна система и капилярна колона ECTM WAX (30m x 0.25mm, i.d.; 0.25 mm film) при програмиран температурен режим и H₂ като носещ газ. Температурните условия на анализа бяха следните: температура на инжектора - 230°C, на детектора - 250°C, начална температура на колоната беше 130°C/1min, след което със скорост 8°C/min се повишаваше до крайна температура 220°C, където се задържаше 3 min. Процентното съотношение на отделните мастни киселини беше определено по метода на външния стандарт с помощта на интегриращо устройство Mega (Carlo Erba), като беше използвана специализирана адаптирана програма, даваща възможност за автоматизирано изчисляване на киселините.

Резултатите обработихме с помощта на ком-

Таблица 1. Химичен състав на използваните фуражи, %
Table 1. Chemical composition of the fed forage, %

Фураж/Forage	СВ (DM)	Химичен състав/chemical composition (%)			
		СП (CP)	СВл (CF)	СМ (CM)	Пепел (Ash)
Ливадно сено/Meadow hay	88.2	9.03	28.3	1.9	1
Ечемик/ Barley	89.9	9.6	5	1.7	1.3
Слънчогледов шрот/ Sunfl. meal	88.8	32.5	27.5	1.5	5.7
Слънчогледов експелер/ Sunfl. expeller	89.7	31.1	16.9	8.8	6.2

пютърен пакет за статистически анализ "Statistic for Windows 7" и компютърен софтуер Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В достъпната ни литература до момента липсват данни за ефекта на екзогенни ензимни препарати върху количеството и съотношението на средно и дълговерижните мастни киселини в търбуховото съдържание и дуоденалния химус на преживни животни. Установените мастни киселини в настоящото изследване с дължина на въглеродородната верига от C4 до C18 в търбуховото и дуоденалното съдържание на шилета са маслена (C_{4:0}), валерианова (C_{5:0}), капронова (C_{6:0}), енантова (C_{7:0}), каприлова (C_{8:0}), пеларгонова (C_{9:0}), капринова (C_{10:0}), капринолеинова (C_{10:1}), ундецилова (C_{11:0}), лауринова (C_{12:0}), лауринолеиновата киселина (C_{12:1}), анти изо тридецилова (C_{13:0}), тридецилова (C_{13:0}), изо миристинова (C_{14:0}), миристинова (C_{14:0}), миристолеинова (C_{14:1}), миристолайдинова (C_{14:2}), изо пентадеканова (C_{15:0}), анти изо пентадеканова (C_{15:0}), пентадеканова (C_{15:0}), пентадеканолеинова (C_{15:1}), изо палмитинова (C^{16:0}), палмитинова (C_{16:0}), палмитолеинова (C_{16:1cis-9}), палмолайдинова (C_{16:1trans}), изо маргаринова (C_{17:0}), анти изо маргаринова (C_{17:0}), маргаринова (C_{17:0}), маргаринолеинова (C_{17:1}), изо стеаринова (C_{18:0}), стеаринова (C_{18:0}), олеинова (C_{18:1}), линолова (C_{18:2}), линоленова (C_{18:3}) и руменова (C_{18:2cla}). В табл. 2 и 3 и на фиг. 1, 2, 3 и 4 е представена обобщена информация за общия процент на късоверижните (<C6), средноверижните (<C6-C12), дълговерижните (>C12), и мастните киселини с разклонена въглеродородна верига и общ относителен процент на киселините с разклонена въглеродородна верига и нечетен брой въглеродни атоми в търбуховото и дуоденалното съдържание на изследваните животни.

Ефект на ензимните препарати *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху мастните киселини в търбуховото съдържание

Относителният дял на късоверижни маст-

ни киселини от общото количество мастни киселини в търбуховото съдържание на шилета е изключително нисък и варира от 0.00% до 2.86% в часовете преди и след хранене при трите вида дажби (табл. 2). С избрания температурен режим на работа се установяват единични хроматографски пикове. По-подробен анализ на общото количество и моларното съотношение на летливите мастни киселини в търбуховото и дуоденалното съдържание от изследваните шилета ще бъде представен в други наши публикации (непубликувани данни).

Резултатите, представени в табл. 2 показват, че изследваните ензимни препарати очертават тенденция на понижаване на късоверижните мастни киселини в първата и втората дажба, а в дажба II и дажба III *Hostazym X 100* предизвиква достоверно намаляване на изследвания показател ($P < 0.05$). Липсва съществена разлика при съпоставяне на ефекта на двата ензимни препарата в трите вида дажби.

По отношение на средноверижните мастни киселини тенденцията е противоположна. Установяваме недостоверно или слабо достоверно повишаване на общото им количество 2.5 h след хранене при добавяне в дажбата на *Hostazym 100* (с достоверна разлика при дажба I $P < 0.05$) и понижаване в същия час на изследване при *Hostazym X 100* (с достоверност $P < 0.05$ при дажба III) (табл. 2). Разликата във въздействието на двата ензимни препарата е достоверна 2.5 h след хранене в първа и трета дажба ($P < 0.05$).

Количеството на дълговерижните мастни киселини варира от 43.21% до 98.93% в различните дажби и периоди на изследването. След добавяне на ензимен препарат в първата и втората дажба, относителният процент на дълговерижните мастни киселини недостоверно нараства преди хранене и се понижава 2.5 h след хранене - достоверно при *Hostazym C 100* ($P < 0.05$ до 0.01) и недостоверно при *Hostazym X 100* (фиг. 2). Увеличаването на суровите мазнини в дажбата от 1.8 на 2.52 чрез заместването на 0.200 kg ечемик със слънчогледов експелер (дажба III) променя

Таблица 2. Влияние на *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху относителното съотношение на мастните киселини (C₄ - C₁₈) в търбуховото съдържание на шилета, хранени с дажби, съдържащи различно протеиново и липидно ниво, %.

Table 2. An effect of enzyme preparations *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* on the relative proportion of the fatty acids (C₄ - C₁₈) in rumen content of yearling rams, fed with rations, including different protein and lipid level, %.

Дажба/Ration	Час на изследване/hour of study				
	преди хранене before feeding			2.5 h след хранене after feeding	
	<i>n</i>	<i>x</i>	$\pm S_x$	<i>x</i>	$\pm S_x$
1	2	3	4	5	6
<i>Късоверижни мастни киселини/Short chain fatty acids (< C₆)</i>					
I дажба/I ration	6	1.05	0.58	1.13	0.55
I дажба/I ration + <i>Host. C 100</i>	6	0.52	0.48	1.06	0.90
I дажба/I ration + <i>Host. X 100</i>	6	0.04	0.04	0.08	0.08
II дажба/II ration	6	0.74	0.26	1.38	0.64
II дажба/II ration + <i>Host. C 100</i>	6	0.36	0.30	0.72	0.72
II дажба/II ration + <i>Host. X 100</i>	6	0.20	0.20	0.00*	0.00
III дажба/III ration	6	0.81	0.29	0.86	0.33
III дажба/III ration + <i>Host. C 100</i>	6	0.00*	0.00	2.860 ^{ab}	1.06
III дажба/III ration + <i>Host. X 100</i>	6	0.00*	0.00	0.00*	0.00
<i>Средноверижни мастни киселини/Medium chain fatty acids (C₆ - C₁₂)</i>					
I дажба/I ration	6	8.97	3.56	5.63	1.80
I дажба/I ration + <i>Host. C 100</i>	6	11.08	3.07	25.46* ^b	6.27
I дажба/I ration + <i>Host. X 100</i>	6	8.28	4.26	5.64	3.10
II дажба/II ration	6	15.07	5.85	5.99	1.60
II дажба/II ration + <i>Host. C 100</i>	6	7.51	1.18	21.47	10.50
II дажба/II ration + <i>Host. X 100</i>	6	5.33	4.96	16.32	6.72
III дажба/III ration	6	11.59	4.66	5.48	2.02
III дажба/III ration + <i>Host. C 100</i>	6	4.85	3.02	8.62 ^b	3.33
III дажба/III ration + <i>Host. X 100</i>	6	1.16*	0.03	1.07*	0.20
<i>Дълговерижни мастни киселини/Long chain fatty acids (C₁₂ - C₁₈)</i>					
I дажба/I ration	6	84.12	6.44	91.59	3.04
I дажба/I ration + <i>Host. C 100</i>	6	85.98	3.74	63.57*	10.49
I дажба/I ration + <i>Host. X 100</i>	6	91.73	4.26	89.08	7.93
II дажба/II ration	6	77.09	9.08	88.84	3.94
II дажба/II ration + <i>Host. C 100</i>	6	87.61	0.72	43.21** ^{aa}	12.54
II дажба/II ration + <i>Host. X 100</i>	6	93.46	5.87	83.28 ^b	6.90
III дажба/III ration	6	86.91	4.89	89.92	4.32
III дажба/III ration + <i>Host. C 100</i>	6	83.69	4.45	84.57	4.53
III дажба/III ration + <i>Host. X 100</i>	6	98.29* ^{bb}	0.34	98.93 ^{bb}	0.20
<i>Мастни киселини с разклонена въглеродородна верига/Fatty acids with branched hydrocarbon chain</i>					
I дажба/I ration	6	1.37	0.5	0.73	0.26
I дажба/I ration + <i>Host. C 100</i>	6	1.68	0.93	2.09	1.02
I дажба/I ration + <i>Host. X 100</i>	6	1.48	0.41	0.27 a	0.27

Продължение на табл. 2 / Continuation of table 2

1	2	3	4	5	6
II дажба/II ration	6	1.60	0.26	2.06	0.92
II дажба/II ration + <i>Host. C 100</i>	6	3.97	2.23	2.73	1.42
II дажба/II ration + <i>Host. X 100</i>	6	1.19	0.35	4.51 aa	0.71
III дажба/III ration	6	1.53	0.33	0.60a	0.23
III дажба/III ration + <i>Host. C 100</i>	6	1.57bbb	0.17	1.49	0.43
III дажба/III ration + <i>Host. X 100</i>	6	0.38*	0.10	1.79** aa	0.39

* - сравнение на резултатите между контролна и опитна дажба; a - сравнение на резултатите преди и след хранене; b - сравнение ефекта на двата ензимни препарата; *, a, b - $P < 0.05$; **, aa, bb - $P < 0.01$; ***, aaa, bbb - $P < 0.001$

* - comparison of results between control and experimentally group; a - comparison of results before and after feeding; b - comparison between both enzymatic preparations; *, a, b - $P < 0.05$; **, aa, bb - $P < 0.01$; ***, aaa, bbb - $P < 0.001$

Таблица 3. Влияние на *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху относителното съотношение мастните киселини ($C_4 - C_{18}$) в дуоденалното съдържание на шилета, хранени с дажби, съдържащи различно протеиново и липидно ниво, (%)

Table 3. An effect of enzyme preparations *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* on the relative proportion of the fatty acids ($C_4 - C_{18}$) in duodenal content of yearling rams, fed with rations, including different protein and lipid level, (%)

Дажба/Ration	Час на изследване Hour of study				
	преди хранене before feeding			2.5 h след хранене after feeding	
	<i>n</i>	<i>x</i>	$\pm S_x$	<i>x</i>	$\pm S_x$
1	2	3	4	5	6
<i>Късоверижни мастни киселини/Short chain fatty acids (<math>C_6 - C_{12}</math>)</i>					
I дажба/I ration	4	0.35	0.20	2.00 ^a	0.54
I дажба/I ration + <i>Host. C 100</i>	4	0.00	0.00	0.51	0.39
I дажба/I ration + <i>Host. X 100</i>	4	0.30	0.19	0.33*	0.17
II дажба/II ration	4	1.22	1.22	1.92	1.61
II дажба/II ration + <i>Host. C 100</i>	4	0.00	0.00	0.8	0.05
II дажба/II ration + <i>Host. X 100</i>	4	2.56	2.56	0.33	0.59
III дажба/III ration	4	1.86	1.31	1.13	0.64
III дажба/III ration + <i>Host. C 100</i>	4	0.58	0.24	0.47	0.23
III дажба/III ration + <i>Host. X 100</i>	4	0.04	0.03	0.47	0.25
<i>Средноверижни мастни киселини/Medium chain fatty acids (<math>C_6 - C_{12}</math>)</i>					
I дажба/I ration	4	1.68	0.97	0.00	0.00
I дажба/I ration + <i>Host. C 100</i>	4	6.69*	1.71	17.58	10.01
I дажба/I ration + <i>Host. X 100</i>	4	22.88*	7.98	27.18*	9.58
II дажба/II ration	4	0.57	0.22	14.59	13.57
II дажба/II ration + <i>Host. C 100</i>	4	13.57	8.01	7.25	6.31
II дажба/II ration + <i>Host. X 100</i>	4	20.93*	6.20	34.48 ^b	8.02
III дажба/III ration	4	5.94	5.17	1.24	0.97
III дажба/III ration + <i>Host. C 100</i>	4	19.45	6.83	9.21	5.00

Продължение на табл. 3 / Continuation of table 3

1	2	3	4	5	6
III дажба/III ration + <i>Host. X 100</i>	4	8.30	5.14	22.37*	6.53
<i>Дълговерижни мастни киселини/Long chain fatty acids (C₁₂ - C₁₈)</i>					
I дажба/I ration	4	97.97	1.17	91.85	4.09
I дажба/I ration + <i>Host. C 100</i>	4	93.07	1.82	78.62	10.01
I дажба/I ration + <i>Host. X 100</i>	4	71.62*	10.04	57.61	14.85
II дажба/II ration	4	97.69	1.58	83.49	15.18
II дажба/II ration + <i>Host. C 100</i>	4	84.14	8.92	90.42 ^b	7.14
II дажба/II ration + <i>Host. X 100</i>	4	70.37*	8.70	47.17	12.72
III дажба/III ration	4	92.20	4.83	97.64	0.93
III дажба/III ration + <i>Host. C 100</i>	4	79.66	7.14	90.05 ^b	5.35
III дажба/III ration + <i>Host. X 100</i>	4	89.66	6.53	63.49** ^a	7.92
<i>Мастни киселини с разклонена верига и с нечетен брой въглеродни атоми Fatty acids with branched hydrocarbon chain and with odd number of carbon atoms</i>					
I дажба - контролна	4	2.43	0.34	2.77	0.08
I дажба + <i>Host. C 100</i>	4	4.69***	0.13	11.32** ^a	1.75
I дажба + <i>Host. X 100</i>	4	14.41*** ^{bbb}	0.69	11.43*	2.55
II дажба - контролна	4	5.83	2.09	2.60	0.26
II дажба + <i>Host. C 100</i>	4	7.74	1.47	5.48*	0.81
II дажба + <i>Host. X 100</i>	4	14.21	3.36	11.44*** ^{bb}	1.43
III дажба - контролна	4	9.21	2.74	3.04	0.54
III дажба + <i>Host. C 100</i>	4	6.02	1.71	3.45	0.30
III дажба + <i>Host. X 100</i>	4	5.23	1.05	9.46** ^{a bbb}	1.04

* - сравнение на резултатите между контролна и опитна дажба; a - сравнение на резултатите преди и след хранене; b - сравнение ефекта на двата ензимни препарата; *, a, b - $P < 0.05$; **, aa, bb - $P < 0.01$; ***, aaa, bbb - $P < 0.001$

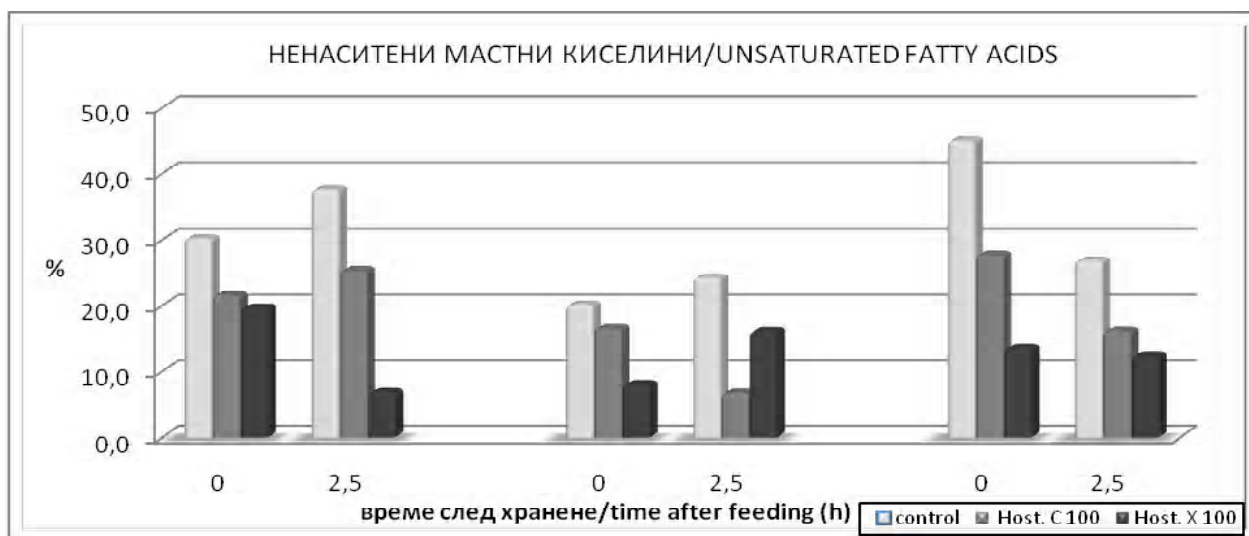
* - comparison of results between control and experimentally group; a - comparison of results before and after feeding; b - comparison between both enzymatic preparations; *, a, b - $P < 0.05$; **, aa, bb - $P < 0.01$; ***, aaa, bbb - $P < 0.001$

ефекта на ензимните препарати. *Hostazym X 100* води до увеличаване на процента на дълговерижните мастни киселини преди хранене ($P < 0.05$) и очертава тенденция за повишаване 2.5 h след хранене, докато добавянето на *Hostazym C 100* недостовърно понижава процента на дълговерижните мазнини през двата часа.

По-съществено физиологично значение, обаче, има съотношението на наситените и ненаситените мастни киселини в търбуховото съдържание, което дава пряка информация за микро екологичния статус в предстомашията на преживните животни.

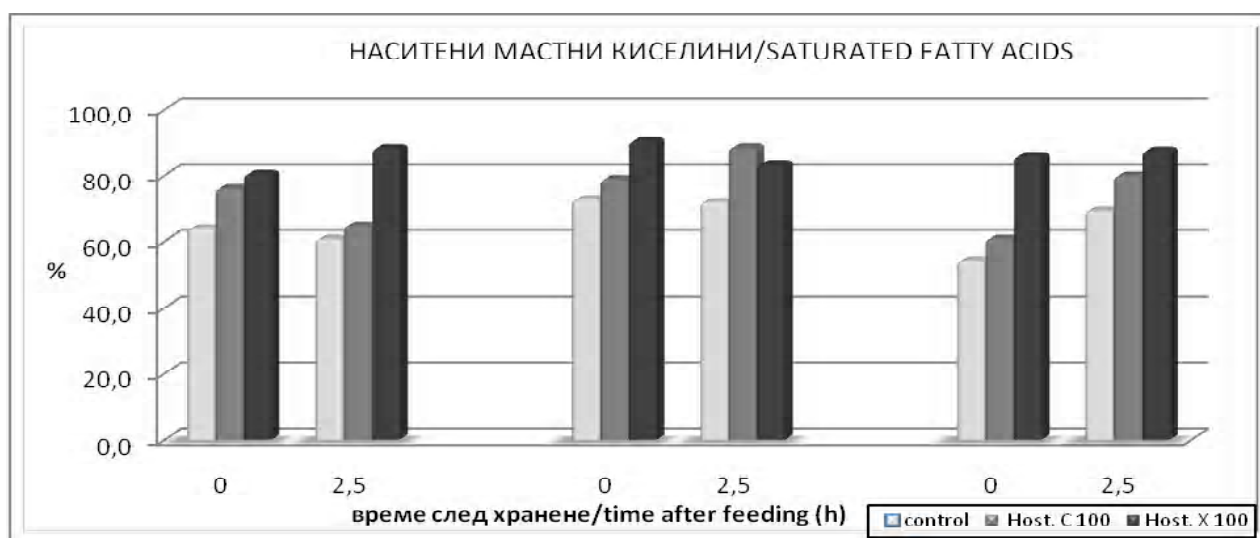
При попадане на липидите в търбуха първата стъпка на липиден метаболизъм е хидро-

лизата на естерните връзки, съдържащи се в триглицеридите, фосфолипидите и гликолипидите. Процесът се извършва предимно от бактериите. Липсват данни за съществена роля на инфузорийните, гъбичните или растителните липази (Bowman et al, 2003). Биохидрогенацията на ненаситени мастни киселини е втората голяма трансформация, на която могат да се подложат хранителните липиди. Основните субстрати, подложени на хидрогениране, са линолова и линоленова киселина. При повечето дажби линоловата и линоленовата киселина се хидрогенират съответно до 70 - 95% и 85 - 100% (Beam et al., 2000). Търбуховите бактерии, участващи в процеса на хидрогениране са класифицирани в две гру-



*-ечемик и лив. сено; **- ечемик, сл. шрот и лив. сено; ***- ечемик, сл. експелер и лив. сено
 *barley and meadow hay; **barley, sunfl. meal and meadow hay; ***barley, sunfl. expeller and meadow hay

Фиг. 1. Влияние на *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху процента на ненаситените мастни киселини в търбуховото съдържание на шилета, хранени с дажби, съдържащи различно протеиново и липидно ниво
 Fig 1. An effect of enzyme preparations *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* on the percentage of unsaturated fatty acids in rumen content of yearling rams, fed with rations, including different protein and lipid level

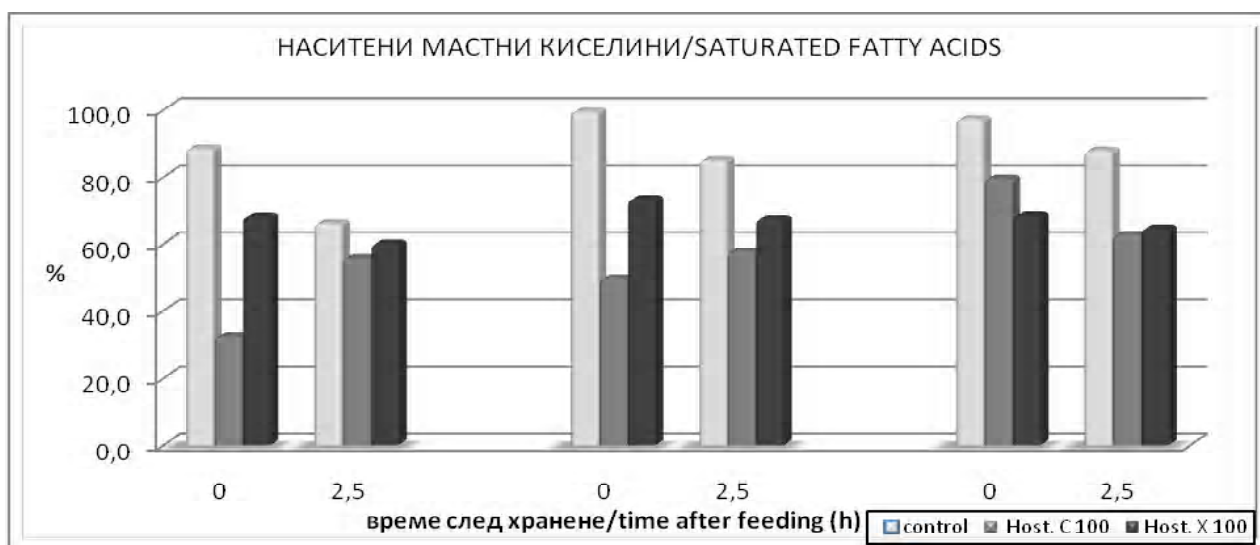


*-ечемик и лив. сено; **- ечемик, сл. шрот и лив. сено; ***- ечемик, сл. експелер и лив. сено
 *barley and meadow hay; **barley, sunfl. meal and meadow hay; ***barley, sunfl. expeller and meadow hay

Фиг. 2. Влияние на *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху процента на наситените мастни киселини в търбуховото съдържание на шилета, хранени с дажби, съдържащи различно протеиново и липидно ниво
 Fig. 2. An effect of enzyme preparations *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* on the percentage of saturated fatty acids in rumen content of yearling rams, fed with rations, including different protein and lipid level

пи - А и В, въз основа на техния метаболизъм (Kemp and Lander, 1984). За осъществяване на пълна биохирогениране на полиненаси-

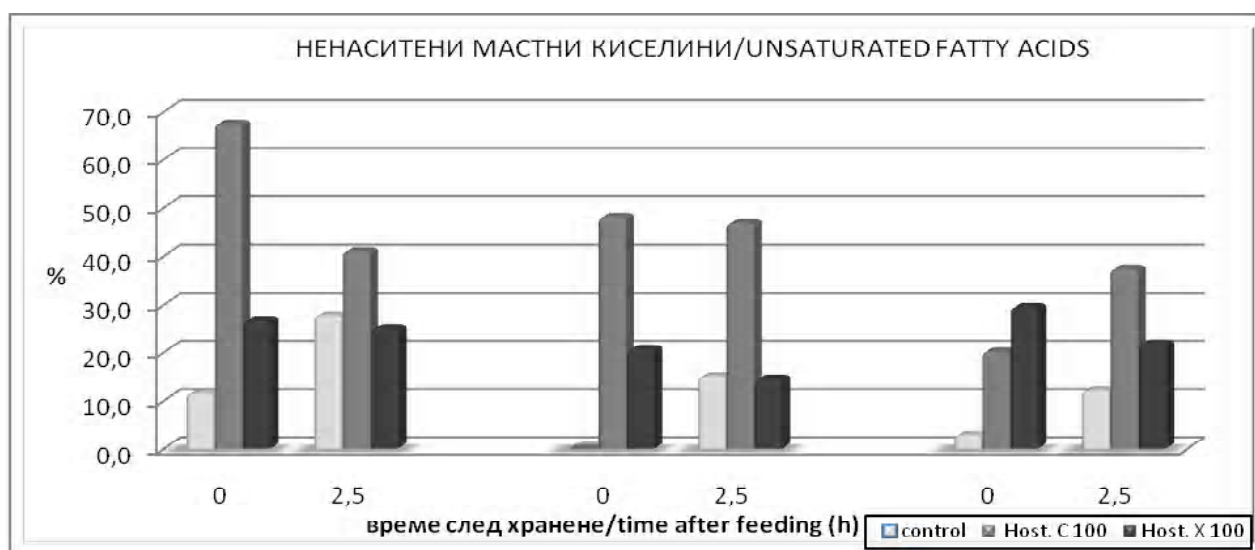
тените мастни киселини, са необходими бактерии и от двете групи. Група А е съставена от много видове бактерии, осъществяващи хид-



*-ечемик и лив. сено; **- ечемик, сл. шрот и лив. сено; ***- ечемик, сл. експелер и лив. сено
 *barley and meadow hay; **barley, sunfl. meal and meadow hay; ***barley, sunfl. expeller and meadow hay

Фиг. 3. Влияние на *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху моларния процент на наситените мастни киселини в дуоденалното съдържание на шилета, хранени с дажби, съдържащи различно протеиново и липидно ниво

Fig. 3. An effect of enzyme preparations *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* on the percentage of unsaturated fatty acids in duodenal content of yearling rams, fed with rations, including different protein and lipid level



*-ечемик и лив. сено; **- ечемик, сл. шрот и лив. сено; ***- ечемик, сл. експелер и лив. сено
 *barley and meadow hay; **barley, sunfl. meal and meadow hay; ***barley, sunfl. expeller and meadow hay

Фигура 4. Влияние на *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху моларния процент на ненаситените мастни киселини в дуоденалното съдържание на шилета, хранени с дажби, съдържащи различно протеиново и липидно ниво

Figura 4. An effect of enzyme preparations *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* on the percentage of saturated fatty acids in duodenal content of yearling rams, fed with rations, including different protein and lipid level

рогенирането на полиненаситените мастни киселини в мононенаситени, но само няколко

вида бактерии, характеризиращи се като група В могат да осъществява пълно насищане на

мастните киселини с водородни атоми (**Harfoot and Hazlewood, 1997**). Това обяснява защо потискането на броя или/и жизнеспособността на бактериите в търбуха, като цяло предизвиква натрупване на ненаситени мастни киселини в търбуховото съдържание. Обобщените резултати от изследването, представени на фиг. 1 и 2, показват, че двата ензимни препарата, независимо от вида на изследваната дажба, понижават общото количество на ненаситените мастни киселини и повишават нивото на наситените киселини в търбуховото съдържание на изследваните животни (от недостовърно до $P < 0.001$), което е показател за засилена биохидрогенация в търбуховата течност и предполага наличието на по-голямо количество микробна маса в търбуха, след добавяне на ензимните препарати.

В табл. 2 са представени и данни за общия дял на мастните киселини с разклонена въглеродна верига, който варира от 0.27 до 4.51% в трите изследвани дажби. Включването на *Hostazym C 100* води до недостовърно повишаване на процента им както преди, така и 2.5 h след хранене. *Hostazym X 100* понижават количеството на мастните киселини с разклонена въглеродна верига преди хранене при втора (недостовърно) и трета дажба ($P < 0.01$) и увеличават процента им 2.5 h след хранене (от недостовърно до $P < 0.05$).

Независимо от малкото им количество, наличието на мастни киселини с разклонена въглеродна верига в търбуховото съдържание се приема като показател за по-голямото разнообразие на протичащите ферментационни процеси. Разклонените средно- и дълговерижни мастни киселини се синтезират от търбуховите бактерии от изобутират, изовалериат и 2-метилбутират, които са крайни продукти предимно от въглехидратната ферментация (**Emmanuel, 1978**). Повишаването на количеството им в търбуха е свидетелство за засилено разграждане на въглехидрати.

Ефект на ензимните препарати *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* върху мастните киселини в търбуховото съдържание

Липидите, достигащи дуоденума имат раз-

личен произход - една част от тях са приети с фуража, а друга - от разградените в абумазуса микроорганизми.

Относителното количество на късоверижни мастни киселини в дуоденалния химус варира от 0.00 до 2.56% (табл.3) и не се променя достовърно от добавянето на ензимните препарати *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* към трите вида дажби.

Добавянето на двата ензимни препарата в първата дажба води до повишаване на относителното количество на средноверижните мастни киселини, спрямо контролния период ($P < 0.05$). *Hostazym X 100* предизвиква и достовърно повишаване на изследвания показател преди хранене във втората дажба и 2.5 h след хранене в дажба III ($P < 0.05$) (табл. 3).

И при трите дажби *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* предизвикват понижаване на относителния процент на дълговерижните мастни киселини (от недостовърно до $P < 0.01$) (табл. 3).

За разлика от резултатите, получени при анализа на мастните киселини в търбуховата течност, в дуоденалното съдържание установяваме повишаване на относителния процент на ненаситените мастни киселини и понижаване този на наситените мастни киселини (табл. 3). Достовърни разлики отчитаме преди хранене ($P < 0.05 - 0.001$).

Хранителните продукти от преживни животни играят първостепенна роля в общата консумация на мазнини при човека (**Givens and Shingfield, 2004**) и е известно, че приемането на по-голямо количество ненаситени мастни киселини има благоприятен ефект върху човешкото здраве (**Williams, 2000**). По тази причина полученият от нас резултат е изключително полезна информация за потенциалния консуматор. Днес все повече изследователи предизвикват увеличаване на ненаситените мастни киселини при преживните животни с добавянето в дажбата на различни видове мазнини, като по този начин потискат процеса на микроорганизмовата биохидрогенация (**Lee et al., 2005; Looor et al., 2005**). Доказва се, че дажби, предизвикващи

ниско рН също инхибират финалната стъпка в биохидрогенацията и предизвикват акумулация на *trans* 18:1 мастни киселини, макар че обхватът на инхибиция в този случай е много по-малък, в сравнение с редуцирането на хидролизата в търбуха от мазнинни добавки (**Van Nevel and Demeyer**, 1996).

В нашето изследване относителното количество на наситени мастни киселини в търбуховата течност се увеличава, а на ненаситените - намалява след добавяне на ензимните препарати във фуража. Това ни дава основание да смятаме, че *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* не възпрепятстват биохидрогенацията на постъпилите с дажбата липиди. Получените резултати в дуоденалното съдържание отдаваме отново на ефекта на ензимните препарати върху микробната популация.

В нашето изследвания установяваме, че *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* предизвикват повишаване на общия брой на инфузориите при трите изследвани дажби (непубликувани данни). Търбуховите инфузории съдържат по - голямо количество ненаситени мастни киселини, в сравнение с бактериите (**Devillard et al.**, 2004). **Or-Rashid et al.** (2007) установяват, че 18:1 *trans*-11 мастните киселини са в голямо количество в протозойната фракция и изказват предположението, че търбуховите инфузории вероятно притежават делта - дезатуразна активност, позволяваща трансформирането на 18:0 в 18:1 *trans*-11. От 7.5 до 15% от липидите, представени в търбуховото съдържание, са с протозоен произход (**Keeney**, 1970). По тази причина инфузориите представляват потенциален източник на липиди за животното гостоприемник (**Katz and Keeney**, 1967).

Общото липидно съдържание на бактериената суха маса в търбуха варира от 10 до 15% (**Bauchart**, 1990). От тях около 15-20% са мононенаситените мастни киселини, които се синтезират по анаеробен път. Микробните мастни киселини с нечетен брой въглеродни атоми се образуват чрез съединяване на пропигонат или валериат (**Kaneda**, 1991).

Една от микробните трансформации в тър-

буха е синтезата на мастни киселини с разклонена въглеродна верига и верига с нечетен брой въглеродни атоми (**Kim et al.**, 2005). Тези киселини се възприемат като важен компонент на микробните липиди (**O'Kelly and Spiers**, 1991) за поддържане оптималната втеченост на микробната клетъчна мембрана. Мастните киселини с разклонена въглеродна верига с бактериен произход могат да съставят 1.0-3.0% от липидите в млякото (**Alonso et al.**, 1999) и месото (**Bas and Morand-Fehr**, 2000). Тези киселини се синтезират чрез съединяване на разклонени летливи мастни киселини (**Garton**, 1977). Според **Bas et al.** (2003) синтезата на дълговерижни мастни киселини с разклонена въглеродна верига от късоверижните разклонени киселини вероятно води до съхраняване на енергията от дажбата. Мастни киселини с нечетен брой въглеродни атоми и мастни киселини с разклонена въглеродна верига почти изцяло отсъстват във фуражите (**Diedrich and Henshel**, 1990). **Keeney et al.** (1962) предполагат, че голяма част от тези киселини в месото и млякото са с бактериен произход и могат да се използват като маркери за количеството на бактериената маса, живееща в търбуха. **Dewurst et al.** (2000) също допускат, че количеството на тези мастни киселини в дуоденалния химус и млякото може да послужи за описание на съотношението на различни класове микроби живеещи в търбуха.

В условията на настоящото изследване добавянето на *Hostazym C 100* в дажба I предизвиква повишаване на мастните киселини с разклонена въглеродна верига и с нечетен брой въглеродни атоми от 2.43 на 4.69% преди хранене ($P < 0.001$) и от 2.77 на 11.32% 2.5 h след хранене ($P < 0.01$). *Hostazym X 100* повишава относителния процент на изследвания показател до 14.41% преди хранене ($P < 0.001$) и до 11.43% 2.5 h след хранене ($P < 0.05$) (табл. 3).

Промените, настъпващи след добавянето на ензимните препарати във втора дажба са подобни, като не отчитаме достоверност на получените разлики преди хранене. Два и по-

ловина часа след хранене увеличението е от 2.60 до 5.48% при *Hostazym C 100* ($P < 0.05$) и до 11.44% при *Hostazym X 100* ($P < 0.001$) (табл. 3).

По-високото липидно ниво в дажба III отново понижава ефекта на екзогенно внесените ензимни препарати. Добавянето на *Hostazym C 100* и *Hostazym X 100* при този вид дажба очертава тенденция на намаляване относителния процент на мастните киселини с нечетен брой атоми и разклонени въглеродородни вериги, и увеличаване два и половина часа след хранене (недостовърно и $P < 0.001$, съответно) (табл. 3).

ИЗВОДИ

Hostazym C 100 и *Hostazym X 100* понижават достоверно нивото на ненаситените мастни киселини в търбуховото съдържание на шилетата, хранени с дажба, съдържаща 2.52% липиди (ечемик, слънчогледов експелер и ливадно сено) ($P < 0.01-0.001$) и недостовърно в дажбите с липидно ниво 1.8% (ечемик и ливадно сено, и ечемик, слънчогледов шрот и ливадно сено).

Hostazym X 100 повишава количеството на наситените мастни киселини в търбуховото съдържание на изследваните шилета, преди хранене в трите дажби и 2.5 h след хранене в дажба I (ечемик и ливадно сено) и III (ечемик, слънчогледов експелер и ливадно сено) ($P < 0.05-0.001$).

Изследваните ензимни продукти увеличават относителното количество на ненаситените киселини и понижават нивото на наситените киселини, преди хранене, в дуоденалното съдържание на шилета, хранени с равно съотношение концентриран и груб фураж, независимо от протеиновото и липидно ниво в дажбата (от недостовърно до $P < 0.001$).

Hostazym C 100 и *Hostazym X 100* предизвикват повишаване на общия процент на мастните киселини с нечетен брой въглеродни атоми и киселините с разклонена въглеродородна верига в дуоденалния химус, два и половина часа след хранене (от недостовърно до $P < 0.001$).

ЛИТЕРАТУРА

1. **Русев., В.**, 1976. Физиология на храносмилането на селскостопанските животни. Издателство Земидат. 222 стр.
2. **Aliev, A., A.**, 1960. A modification of the fistula method for study of digestion in the divisions of the ruminant stomach, *Fiziol. Zh SSSR*, 46:1505-1509.
3. **Alonso, L., J. Fontecha, L. Lozada, M. J. Fraga, and M. Juarez**, 1999. Fatty acid composition of caprine milk: Major, branched-chain, and trans fatty acids. *J. Dairy Sci* 82: 878-884.
4. **Bas, P., and P. Morand-Fehr**, 2000. Effect of nutritional factors on fatty acid composition of lamb fat deposits. *Livest. Prod. Sci* 64: 61-79.
5. **Bas, P., H. Archimede, A. Rouzeau and D. Sauvant**, 2003. Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: Effect of concentration and type of forage. *J. Dairy Sci* 86: 2940-2948.
6. **Beam, T., M., T. C. Jenkins, P. J. Moate, R. A. Kohn and D. L. Palmquist**, 2000. Effects of amount and source of fat on the rates of lipolysis and biohydrogenation of fatty acids in ruminal contents. *J. Dairy Sci* 83:2564-2573.
7. **Devillard, E., F. M. McIntosh, K. Young, M. Castet, R. J. Wallace, and C. J. Newbold**, 2004. Conjugated linoleic acid composition of rumen bacterial and protozoal populations. *Reprod. Nutr. Dev.* 44 (Suppl.1) : S60. (Abstr.).
8. **Dewhurst, R., J., D. R. Davies, and R. J. Merry**, 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Anim. Feed Sci Technol.* 85: 1-21.
9. **Diedrich, M., and K. P. Henschel**, 1990. The natural occurrence of unusual fatty acids. 1. Odd numbered fatty acids. *Nahrung* 34: 935-943.
10. **Doreau, M., D. I. Demeyer, and C. J. Van Soest**, 1997. Transformation and effects of unsaturated fatty acids in the rumen: consequences on milk fat secretion. In: R. A. S. Welch, D. J. W. Burns, S. R. Davis, A. I. Popay, and C. G. Prosser (Eds.) *Milk Composition, Production and Biotechnology*. pp. 73-92. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK.
11. **Emmanuel, B.**, 1978. The relative contribution of propionate, and long-chain even-numbered fatty acids to the production of long-chain odd-numbered fatty acids in rumen bacteria. *Biochim.*

- Biophys. Acta 528: 239-246.
12. **Folch, J. M., Less and G. H. Sloane Staley**, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, 226(1), 497-507.
 13. **Garton, G. A.**, 1977. Fatty acid metabolism in ruminants. Page 337- 370 in *Biochemistry of Lipids II*. T. W. Goodwin, ed. Univ. Park Press, Baltimore, MD
 14. **Givens, D. I., and Shingfeld, K. J.**, 2004. Food derived from animals: the impact of animal nutrition on their nutritive value and ability to sustain long-term health. *NutrBull* 29, 325-332.
 15. **Harford C. G. and G. P. Hazlewood**, 1997. Lipid metabolism in the rumen. In: P. N. Hobson and C. S. Stewart (ed.). *The Rumen Microbial Ecosystem*. Pp 382-426. Chapman & Hall, London, UK.
 16. **Jenkins, T.**, 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J Dairy Sci* 76:3851-3863.
 17. **Kaneda, T.**, 1991. Iso-and anteiso-fatty acids in bacteria: Biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.* 55: 288-302.
 18. **Katz, I., and M. Keeney**, 1967. The lipids of some rumen holotrich protozoa. *Biochim. Biophys. Acta* 144:102-112.
 19. **Keeney, M., I. Katz, and M. J. Allison**, 1962. On the probable origin of some milk fat acids in rumen microbial lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 39: 198-201.
 20. **Kemp, P. and D. J. Lander**, 1984. Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130:527-533.
 21. **Lee, M. R. F., J. K. S. Tweed, A. P. Moloney and N. D. Scollan**, 2005. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. *Anim Sci* 80, 361-367.
 22. **Loor, J. J., K. Ueda, A. Ferlay, Y. Chilliard and M. Doreau**, 2005. Intestinal flow and digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *Anim Feed Sci Technol* 119, 203-225.
 23. **National Research Council**, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. National academy of Sciences, Washington, DC.
 24. **O'Kelly, J. C., and W. G. Spiers**, 1991. Influence of host diet on the concentrations of fatty acids in rumen bacteria from cattle. *Aust J. Agric. Res.* 42: 243-252.
 25. **Or-Rashid, M. M., N. E. Odongo and B. W. McBride**, 2007. Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and add-chain and branched-chain fatty acids. *J Anim Sci* 85:1228-1234.
 26. **Van Nevel, C. J., and D. I. Demeyer**, 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reprod. Nutr. Dev.* 36:53-63.
 27. **Williams, C. M.**, 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann Zootech* 49, 165-180.

PROPORTION OF THE SHORT, MEDIUM AND LONG - FATTY ACIDS IN THE RUMEN AND DUODENAL CONTENT OF YEARLING RAMS

N. Grigorova

Thrakia University, Faculty of Agriculture - Stara Zagora

SUMMARY

The purpose of the study is to determine the effect of the multienzymatic preparations *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* on the proportion of fatty acids with the length of hydrocarbon chain from C4 to C18 in rumen fluid and chyme from cranial part of duodenum in yearling rams, fed with rations including different

protein and lipid level. It has been conducted an experiment with nine male fistulated yearling rams, Black-head Plevan breed, with average live weigh of 45.200 kg at the beginning of the trial. The animals are raised three into groups and housed in individual stalls. The study was organized into three periods - control and two experimental. During the control period, the first group yearling rams was fed ration consist of 1 kg of barley and 1 kg of hay meadows, the second group - of 0.800 kg of barley, 0.200 kg of sunflower meal and 1 kg of hay meadow and the third group - with a diet consisting 0.800kg of barley, 0.200 kg of sunflower expeller and 1 kg of meadow hay. During the first trial period to the rations of the three groups of animals was added enzyme preparation *Hostazym C 100* at a dose 1 g/kg concentrated feed, mixed with concentrate 10 days before feeding. In the second trial period to the concentrated feed in the three groups tested was added enzyme preparation *Hostazym X 100*, at the same dose and route of administration. It has been found, that *Hostazym C 100* and *Hostazym X 100* decreased the amount unsaturated fatty acids in rumen content of yearling rams, fed with rations consist 2.52% lipids (barley, sunfl. expeller and meadow hay) ($P < 0.05 - 0.001$). In the thee exanimated rations *Hostazym X 100* increased the percentage of the saturated fatty acids in the rumen fluid of the yearling rams before feeding ($P < 0.05 - 0.001$). The enzyme preparation caused the same effect two and a half hours after feeding in ration I (barley and meadow hay) and in ration III (barley, sunfl. expeller and meadow hay) ($P < 0.05 - 0.001$). The researched enzymatic preparations increased relative amount of the unsaturated fatty acids, decreased the quantity of the saturated fatty acids before feeding and caused increasing of the total percentage of the fatty acids with odd number of carbon atoms and with branched hydrocarbon chain 2.5 h after feeding in the duodenal content of the yearling rams, fed with the equal proportions of concentrate and roughage, regardless of protein and lipid levels (from unreliable to $P < 0.001$).

Key word: *exogenous enzymes, fatty acids, rumen, duodenum, yearling rams*