

KARVIŲ DIDŽIOJO PRIESKRANDŽIO TURINIO D- IR L-PIENO RŪGŠTIES IZOMERŲ ĮTAKA JŲ KONCENTRACIJAI PIENE IR ŠLAPIME

Rasa Želvytė, Jonas Laugalis, Antanas Sederevičius, Ingrida Monkevičienė, Jurgita Ramanauskienė
Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-3022 Kaunas. Tel. (8 37) 36 36 92, faksas (8 37) 36 24 17,
el. p.: rasazel@lva.lt

Santrauka. Pieno rūgšties perteklius, susidaręs atrajotojų didžiajame prieskrandyje fermentuojantis tirpiesiems angliavandeniams, gali būti pašalinamas iš organizmo su įvairiais skysčiais. Šio darbo tikslas buvo ištirti pieno rūgšties D- ir L- izomerų koncentracijos paros dinamiką karvių didžiojo prieskrandžio turinyje, piene ir šlapime.

Tyrimai atlikti tvartiniu laikotarpiu su Lietuvos juodmargių veislės karvėmis, kurios buvo šeriamos subalansuotu pagal žaliųjų proteinų ir apykaitos energijos poreikius racionu, sudarytu pagal šalyje priimtas normas. Didžiojo prieskrandžio turinio, pieno ir šlapimo mėginiai buvo imami praėjus 3 val. po rytinio šėrimo kas 3 valandas visą parą ir juose tiriama D- ir L-pieno rūgšties izomerų koncentracija.

Nustatėme, kad pieno rūgšties D- ir L-izomerų koncentracija galvijų didžiojo prieskrandžio turinyje priklauso nuo laiko, praėjusio nuo šėrimo pradžios. Pieno rūgšties L-izomero koncentracija piene priklauso nuo jo kiekio karvių didžiojo prieskrandžio turinyje. D-izomero kiekis, pasigaminęs didžiajame prieskrandyje, veikia jo išsiskyrimą su šlapimu.

Raktažodžiai: didysis prieskrandis, pienas, šlapimas, pieno rūgšties D- ir L-izomerai.

THE EFFECT OF D- AND L-LACTIC ACID ISOMERS IN THE RUMEN FLUID OF COWS ON THE CONCENTRATION IN MILK AND URINE

Summary. The excess of lactic acid, produced during the process of fermentation of soluble carbohydrates in the rumen fluid of cows, may be excreted via different liquids of organism. The aim of this study was to analyse the diurnal changes in the amount of D- and L-lactic acid isomers in the rumen fluid, milk and urine.

The investigations were carried out during the indoor period with Lithuanian Black & White cows, which were fed the ration balanced according to crude protein and metabolizable energy, formed in accordance with the standards generally accepted in Lithuania. The samples of rumen fluid, milk and urine were taken 3 hours after morning feeding and every three hours during a day, the concentration of D- and L-lactic acid isomers was analysed.

It was determined that the concentration of D- and L-lactic acid isomers in the rumen fluid of cows depends on the time passed after feeding. The concentration of L-lactic acid isomer in milk depends on its concentration in the rumen fluid. The amount of D-isomer produced in the rumen fluid effects its excretion with the urine.

Keywords: rumen, milk, urine, D- and L-isomers of lactic acid.

Įvadas. Atrajotojų didžiajame prieskrandyje vyksta angliavandenių fermentacija, užtikrinanti reikiamą energijos kiekį įvairiems organizmo procesams vykti. Pagrindinis tirpiųjų angliavandenių fermentacijos produktas – pieno rūgštis (Van't Klooster, 1994). Dalis šios rūgšties veikiant *Veillonella alcalescens*, *Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium* rūšies bakterijoms (Wallace, 1995) ir pirmuonims (Williams and Coleman, 1997) virsta lakiosiomis riebiosiomis rūgštimis (Hyldgaard-Jensen, 1994), kita dalis – rezorbuojasi į kraują (Møller, 1994; Želvytė and Sederevičius, 2001).

Daugelis autorių (Kantautaitė, 1993; Møller, 1993) galvijų didžiojo prieskrandžio turinyje tyrė tik bendro pieno rūgšties kiekio kitimą ir neatsižvelgė į jos izomerines formas. Tačiau bendras DL-pieno rūgšties kiekis tik iš dalies parodo angliavandenių skilimo procesus, dėl laktobakterijų veiklos vykstančius galvijų didžiajame prieskrandyje. Kadangi pieno rūgšties izomerų metabolinės bei rezorbcinės savybės skiriasi, didžiojo prieskrandžio turinyje reikėtų tirti D- ir L-izomerų koncentraciją (Van't Klooster, 1994).

Maždaug 60% DL-pieno rūgšties, susidariusios didžiajame prieskrandyje, rezorbuojasi per jo epitelį

(Giesecke, 1968). Todėl manome, kad pieno rūgšties perteklius didžiojo prieskrandžio turinyje gali pasišalinti iš organizmo su įvairiais skysčiais.

Darbo tikslas. Ištirti pieno rūgšties D- ir L-izomerų koncentracijos paros dinamiką karvių didžiojo prieskrandžio turinyje, piene ir šlapime.

Medžiagos ir metodai. Tyrimai atlikti LVA Virškinimo fiziologijos ir patologijos moksliniame bei Praktinio mokymo ir bandymų centruose su Lietuvos juodmargių veislės karvėmis tvartiniu laikotarpiu. Bandymams naudotos 490 – 520 kg svorio, 3 – 5 metų amžiaus kliniškai sveikos neveršingos karvės (n=4), kurių vidutinis produktyvumas buvo 12 kg pieno per parą. Jos buvo laikomos pririštos, šeriamos individualiai, girdomos iš automatinųjų girdyklų.

Bandomosios karvės buvo šeriamos subalansuotu pagal žaliųjų proteinų ir apykaitos energijos poreikius racionu, sudarytu pagal šalyje priimtas normas (Tarvydas ir kt., 1995). 4³⁰ val. karvėms buvo duodami pašariniai runkeliai (0,8 kg SM) ir miežių miltai (1,7 kg SM), 7⁰⁰ val. – silosas, šienainis (po 3,9 kg SM), 13³⁰ val. – pašariniai runkeliai (0,7 kg SM), 16⁰⁰ val. – šienas (2,5 kg SM). Racione buvo 13,5 kg sausųjų medžiagų, 127,6 MJ

apykautos energijos, 1080,6 g virškinamųjų azotinių junginių, 3713 g žaliosios ląstelių ir 1430,2 g cukraus.

Didžiojo prieskrandžio turinys buvo imamas iš kaudoventralinės bandomų karvių didžiojo prieskrandžio dalies ryklės-stemplės zonu GDZ-1 (Sederevičius, 2000), pieno mėginiai – į mėgintuvėlius, pirmąsias pieno čiurkšles numelžiant į kitą indą, šlapimo mėginiai – pamasažavus žemiau vulvos. Visi mėginiai buvo imami praėjus 3 val. po rytinio šėrimo kas 3 valandas visą parą. Iširta mėginių pieno rūgšties D- ir L-izomerų koncentracija (Boehringer Mannheim, 1992). DL-pieno rūgšties kiekis apskaičiuotas sudėjus nustatytą D- ir L-izomerų kiekį; D-/L- izomerų santykis – D-pieno rūgšties izomero kiekį padalinus iš L-izomero kiekio.

Tyrimų duomenys įvertinti biometriškai.

Tyrimo rezultatai. Nustatytas DL-pieno rūgšties kiekis bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinyje kito 0,25 mmol/l ($P < 0,001$) ribose (1 lent.). Daugiausiai DL-pieno rūgšties susidarė praėjus 3 valandoms po šėrimo ir buvo 0,90 mmol/l; mažiausiai buvo 4 val., t.y. prieš rytinį šėrimą, ir sudarė 0,65 mmol/l.

1 lentelė. DL-pieno rūgšties koncentracija bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinyje, piene ir šlapime

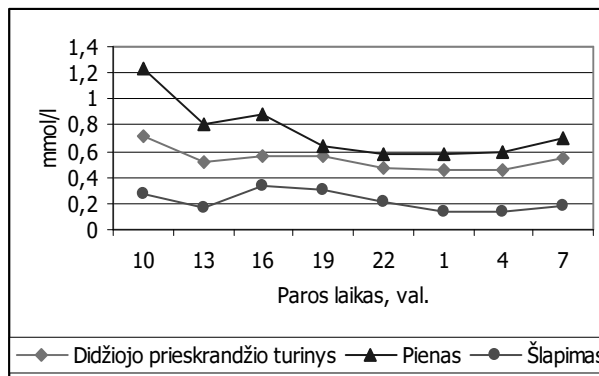
Paros laikas, val.	DL-pieno rūgšties koncentracija, mmol/l		
	turinyje	piene	šlapime
10 ⁰⁰	0,90±0,02	1,42±0,03	0,51±0,02
13 ⁰⁰	0,80±0,01	1,00±0,02	0,43±0,01
16 ⁰⁰	0,86±0,005	1,05±0,01	0,76±0,01
19 ⁰⁰	0,88±0,01	0,80±0,01	0,81±0,02
22 ⁰⁰	0,73±0,01	0,73±0,02	0,69±0,01
1 ⁰⁰	0,67±0,02	0,72±0,01	0,42±0,004
4 ⁰⁰	0,65±0,02	0,73±0,02	0,35±0,01
7 ⁰⁰	0,78±0,005	0,85±0,02	0,40±0,01

Ištyrę D- ir L-pieno rūgšties izomeras nustatėme, kad L-izomero koncentracija (1 pav.) karvių didžiojo prieskrandžio turinyje buvo didesnė nei D-izomero (2 pav.). D-/L- izomerų santykis kito nuo 0,27 iki 0,57. Didžiausias L-izomero kiekis buvo nustatytas 10 val., t.y. praėjus 3 valandoms po rytinio šėrimo, ir sudarė 78,9% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. D-izomero kiekis šiuo metu buvo mažiausias ir sudarė 21,1% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Mažiausias L-izomero kiekis buvo 1 ir 4 val., t.y. prieš rytinį šėrimą, – sudarė atitinkamai 68,7% ir 70,8% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Didžiausias D-izomero kiekis pasigamino 19 val. ir sudarė 35,2% bendro DL-pieno rūgšties kiekio.

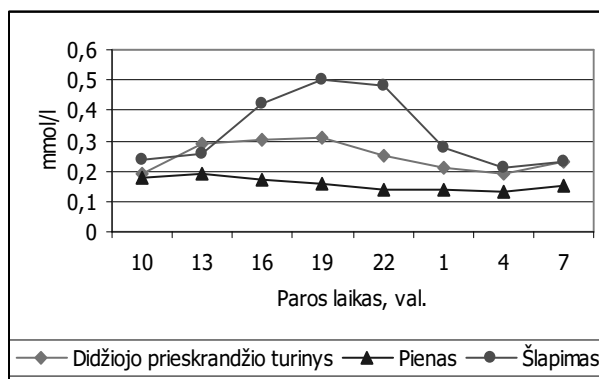
1 lentelėje pateiktuose duomenyse matome, kad DL-pieno rūgšties kiekis bandomųjų karvių piene per parą kito 0,7 mmol/l ribose ($P < 0,001$). Daugiausia DL-pieno rūgšties piene buvo 10 val., t.y. praėjus 3 valandoms po šėrimo, ir sudarė 1,42 mmol/l, o mažiausiai – 4 val. ir buvo 0,72 mmol/l.

L-pieno rūgšties izomero koncentracija (1 pav.) bandomųjų karvių piene buvo didesnė nei D-izomero (2 pav.). D-/L- izomerų santykis piene per parą kito nuo 0,14 iki 0,25. Didžiausias L-izomero kiekis, kaip ir didžiojo

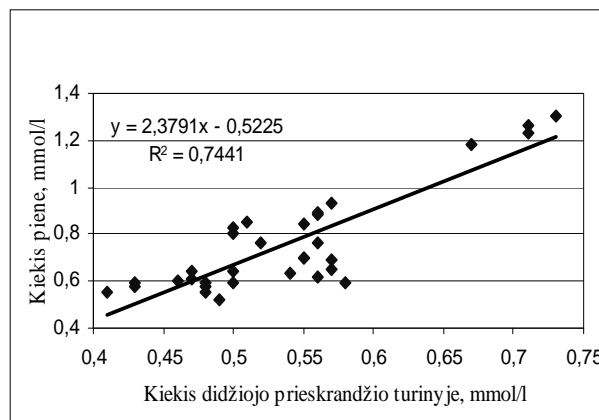
prieskrandžio turinyje, nustatytas 10 val., t.y. praėjus 3 valandoms po rytinio šėrimo ($r=0,956$; $P < 0,01$), ir buvo 1,24 mmol/l. Mažiausiai šio izomero nustatyta 1 val. ($r=0,740$; $P < 0,05$) – 0,58 mmol/l. Tai atitinkamai sudarė 87,3% ir 80,6% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Nustatyta priklausomybė (3 pav.) tarp L-izomero koncentracijos didžiojo prieskrandžio turinyje ir piene ($R^2=0,74$).



1 pav. Pieno rūgšties L – izomero koncentracijos paros dinamika



2 pav. Pieno rūgšties D – izomero koncentracijos paros dinamika



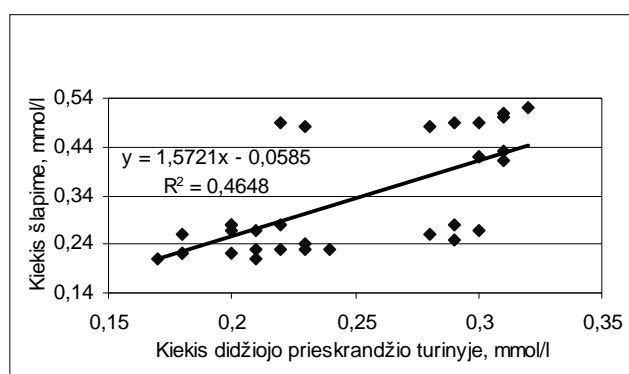
3 pav. Pieno rūgšties L – izomero koncentracijos piene priklausomybė nuo jo kiekio didžiojo prieskrandžio turinyje

Daugiausia D-izomero piene buvo 13 val., t.y. praėjus 6 valandoms po rytinio šėrimo, ir sudarė 19%, o

mažiausiai – 4 val. ir sudarė 18,06% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Tačiau patikimo koreliacijos koeficiento tarp D-izomero koncentracijos karvių didžiojo prieskrandžio turinyje ir piene nenustatėme. D-izomero kiekis didžiojo prieskrandžio turinyje šio izomero išsiskyrimą su pienu sąlygoja nežymiai ($R^2=0,14$).

Bandomųjų karvių šlapime DL-pieno rūgšties koncentracija kito nuo 0,35 iki 0,81 mmol/l (1 lent.). Didžiausias DL-pieno rūgšties kiekis šlapime buvo 19 val., o mažiausias – 4 val., sumažėjo 2,5 karto ($P<0,001$).

D-pieno rūgšties izomero koncentracija šlapime (2 pav.) buvo didesnė už L- (1 pav.), nors 10 val., t.y. praėjus 3 valandoms po rytinio šėrimo, L-izomero buvo 0,03 mmol/l daugiau ($P>0,05$). D-/L- izomerų santykis kito nuo 0,89 iki 2,28. Daugiausia D-izomero, kaip ir didžiojo prieskrandžio turinyje, buvo 19 val., t.y. praėjus 3 val. po dieninio šėrimo ($r=0,949$; $P<0,01$), ir sudarė 61,7% bendro DL-pieno rūgšties kiekio, o mažiausiai – 4 val. ir sudarė 60% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Šie duomenys patvirtina ankstesnių tyrimų rezultatus (Želvytė et al., 2001): iš organizmo su šlapimu daugiausia išskiriamas D-pieno rūgšties izomeras. 4 pav. pateikta priklausomybė tarp D-izomero koncentracijos didžiojo prieskrandžio turinyje ir šlapime ($R^2=0,46$).



4 pav. Pieno rūgšties D – izomero koncentracijos šlapime priklausomybė nuo jo kiekio didžiojo prieskrandžio turinyje

Daugiausia L-izomero buvo nustatyta 16 val.; tai sudarė 44,7% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Mažiausiai L-izomero buvo 1 ir 4 val. – sudarė atitinkamai 33,3% ir 40%. Patikimo koreliacijos koeficiento tarp L-izomero koncentracijos didžiojo prieskrandžio turinyje ir šlapime tuo paros metu nenustatėme. L-izomero kiekis didžiojo prieskrandžio turinyje šio izomero išsiskyrimą su šlapimu sąlygoja nežymiai ($R^2=0,33$).

Aptarimas ir išvados. Fermentuojantis pašarams melžiamų karvių didžiajame prieskrandyje skyla angliavandeniai ir kaupiasi pieno rūgštis, dėl to gali sutrikti fermentacijos procesai prieskrandžiuose (Sederevičius and Kantautaitė, 1993). Tačiau bendras DL-pieno rūgšties kiekis tik iš dalies parodo dėl laktobakterijų veiklos galvijų didžiajame prieskrandyje vykstančius angliavandenių skilimo procesus, nes pieno rūgšties izomerų metabolinės bei rezorbcinės savybės skiriasi.

Dunlop (1972) nurodo, kad L-pieno rūgšties izomeras lengvai rezorbuojasi per didžiojo prieskrandžio epitelį. Be to, L-izomeras greičiau metabolizuojamas nei D-pieno rūgšties izomeras, kadangi fermentai, oksiduojantys L-izomerą, gyvulio organizme plačiai paplitę. Tuo tarpu D-izomero metabolizmas vyksta lėčiau, nes jį oksiduojantys fermentai yra mitochondrijose, ir šis pieno rūgšties izomeras turi pereiti mitochondrijų membraną, kol tampa pasiekiamas jį oksiduojančiam fermentui (Dawson et al., 1997).

Ištyrę bandomųjų karvių didžiojo prieskrandžio turinį nustatėme, kad DL-pieno rūgšties kiekis kito nuo 0,65 iki 0,90 mmol/l ir atitiko fiziologinę normą (Counotte and Prins, 1981). Daugiausia DL-pieno rūgšties susidarė praėjus 3 valandoms po šėrimo. Tai sutampa su Counotte ir Prins (1981) teiginiu, kad karves šeriant pašarais, turinčiais lengvai skylančių angliavandenių, DL-pieno rūgšties produkcija greitai pasiekia maksimumą. Vėliau dėl mikroorganizmų, fermentuojančių pieno rūgštį, veiklos jos kiekis sumažėja (Dunlop, 1972).

Van't Klooster (1994) teigia, kad laktobakterijų veiklą galvijų didžiajame prieskrandyje išsamiau parodo pieno rūgšties izomerų koncentracija. Todėl ištyrę D- ir L-pieno rūgšties izomeras nustatėme, kad L-izomero koncentracija karvių didžiojo prieskrandžio turinyje buvo didesnė nei D-izomero ir sudarė vidutiniškai 69% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Dawson ir kt. (1997) teigia, kad L-izomero koncentracija didžiajame prieskrandyje gali siekti net 80% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Taigi nustatėme, kad pieno rūgšties gamyba karvių didžiojo prieskrandžio turinyje per parą nebuvo pastovi. Manome, kad pieno rūgšties D- ir L-izomerų koncentracija galėjo kisti dėl laiko intervalų tarp šėrimų.

Kadangi apie 60% DL-pieno rūgšties, susidariusios didžiajame prieskrandyje, rezorbuojasi per jo epitelį (Giesecke, 1968), manome, kad pieno rūgšties D- ir L-izomerai iš organizmo gali pasišalinti su pienu ir šlapimu.

Ištyrę DL-pieno rūgšties kiekį karvių piene per parą nustatėme, kad jis kito nuo 0,72 iki 1,42 mmol/l ($P<0,001$). D-pieno rūgšties izomero koncentracija karvių piene buvo mažesnė nei L-izomero. Didžiausias L-izomero kiekis, kaip ir didžiojo prieskrandžio turinyje, nustatytas po rytinio šėrimo praėjus 3 valandoms ($r=0,956$) – 1,24 mmol/l. Nors Suhren ir kt. (1980) nurodo, kad L-izomero koncentracija piene sudaro 0,5 mmol/l. Tačiau šio izomero kiekis piene gali priklausyti nuo gyvulio medžiagų apykaitos procesų intensyvumo (Želvytė ir kt., 2001). Nustatyta, kad D-izomero kiekis didžiojo prieskrandžio turinyje šio izomero išsiskyrimą su pienu sąlygoja nežymiai. Tuo tarpu L-izomero kiekis didžiojo prieskrandžio turinyje turi įtakos šio izomero koncentracijai piene.

Bandomųjų karvių šlapime DL-pieno rūgšties koncentracija kito 0,46 mmol/l ($P<0,001$) ribose. D-pieno rūgšties izomero koncentracija šlapime buvo didesnė už L- – sudarė apie 60% bendro DL-pieno rūgšties kiekio. Taigi patvirtino ankstesnių tyrimų rezultatus (Želvytė ir kt., 2001): iš organizmo su šlapimu daugiausia išskiriamas D-pieno rūgšties izomeras. Daugiausia D-izomero, kaip ir didžiojo prieskrandžio turinyje, buvo

praėjus 3 valandoms po dieninio šėrimo ($r=0,949$). Nustatyta, kad D-izomero koncentracija šlapime priklauso nuo jo kiekio didžiojo prieskrandžio turinyje, tačiau L – izomero kiekis didžiojo prieskrandžio turinyje šio izomero išsiskyrimą su šlapimu sąlygoja nežymiai.

Taigi remdamiesi gautais rezultatais galime padaryti šias išvadas:

1. Pieno rūgšties D- ir L-izomerų koncentracija galvijų didžiojo prieskrandžio turinyje priklauso nuo laiko, praėjusio nuo šėrimo pradžios – didžiausias šių izomerų kiekis nustatytas praėjus 3 val. po šėrimo.

2. Pieno rūgšties D- ir L-izomerų kiekis ir jo kitimas didžiojo prieskrandžio turinyje turi įtakos jų koncentracijai piene ir šlapime:

- kintant L-izomero kiekiui didžiojo prieskrandžio turinyje keičiasi šio izomero koncentracija ir piene;
- D-izomero kiekis, pasigaminęs didžiajame prieskrandyje, veikia šio izomero koncentracijos kitimą šlapime.

Literatūra

1. Boehringer Mannheim. Enzymatic Bioanalysis, Food Analysis, D- and L-lactic acid. 1992. 4 p.
2. Counotte G.H.M. and Prins R.A. Regulation of lactate metabolism in the rumen. Vet. Res. Commun. 1981. Vol. 5. No. 1. P. 101-115.
3. Dawson K.A., Rasmussen M.A. and Allison M.J. Digestive disorders and nutritional toxicity. The rumen microbial ecosystem. Hobson P.N. and Stewart C.S. 2nd ed. London: Blackie academic and professional, 1997. P. 633 - 635.
4. Dunlop R.H. Pathogenesis of ruminant lactic acidosis. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 1972. Vol. 16. P. 259-302.
5. Giesecke D. Ueber die eliminierung von milchsäure aus dem pansen. Zentralblatt Vet. Med. 1968. Vol. 15. P. 656.

6. Hyldgaard-Jensen, J. Role of ruminant lactic acid in the cow's adaptation to high energy intake early in lactation. Proceedings of Lactate seminar. Copenhagen, 1994. 2 p.

7. Kantautaitė J. Karvių didžiojo prieskrandžio ūmios acidozės etiopatogenezė ir gydymas fermentiniu preparatu amilosubtilinu. Dr. disertacija. Kaunas, 1993. 119 p.

8. Møller P.D. Absorbtion and fate of L- and D- lactic acid in ruminants. Proceedings of Lactate seminar. Copenhagen, 1994. 2 p.

9. Møller P.D. Acidosis in dairy cows. Acta Vet. Scand. 1993. Suppl. 89. P. 111 - 112.

10. Sederevičius A. Diagnostiniai ir gydomieji zondai galvijams. Kaunas, 2000. P. 3 - 9.

11. Sederevičius A. and Kantautaitė J. Different forms of rumen dystonia in dairy cows. Acta Vet. Scand. 1993. Suppl. 89. P. 119 - 124.

12. Suhren G., Heeschen W., Tolle A. Kieler Milchwirtschaftliche Forshugsberichte. 1980. Vol. 32. No. 3. S. 165-185.

13. Tarvydas V., Bendikas P., Mankevičius R. ir Uchockis V. Šėrimo normos, pašarų struktūra ir sukaupimas galvijams. Vilnius, 1995. 27 p.

14. Van't Klooster A.Th. Concentrate composition and L- and D-lactate in rumen fermentation studies. Proceedings of Lactate seminar. Copenhagen. 1994. 1 p.

15. Wallace R.J. Biochemistry and microbiology in the rumen. Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids. Cummings J.H., Rombeau J.L. and Sakata T. Cambridge: University Press, 1995. P. 57 - 59, 64 - 65.

16. Williams A.G. and Coleman G.S. The rumen protozoa. The rumen microbial ecosystem. Hobson P.N. and Stewart C.S. 2nd ed. London: Blackie academic and professional, 1997. P. 73 - 139.

17. R.Želvytė and A.Sederevičius. The dependence of D- and L-lactic acid isomers concentration on their production in cattle rumen fluid. Hypocalcaemia, acidosis and calcium homeostasis. Meeting documents of Abildgaard symposium. Copenhagen, 2001. P. 197.

18. R.Želvytė, A.Sederevičius, J.M.D.Enemark and R.J.Jorgensen. D- and L- lactic acid analysis in urine and milk of cows before and after calving. Veterinarija ir zootechnika. ISSN 1392-2130. Kaunas: LVA. 2001. T. 13(35). P. 52-55.

2002 10 24