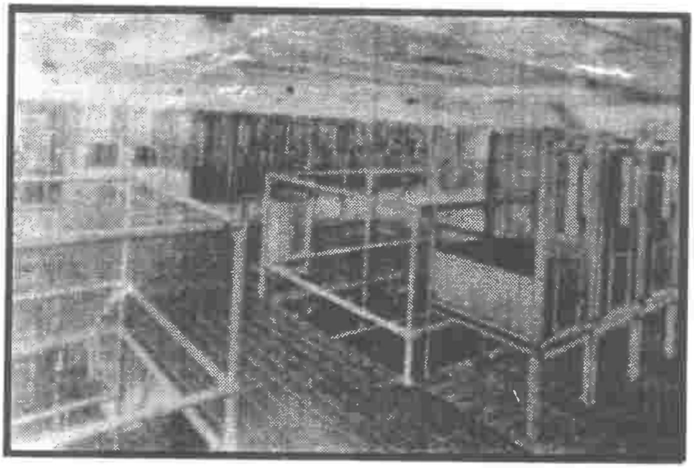
الفصل الثالث

تجارب الهضم

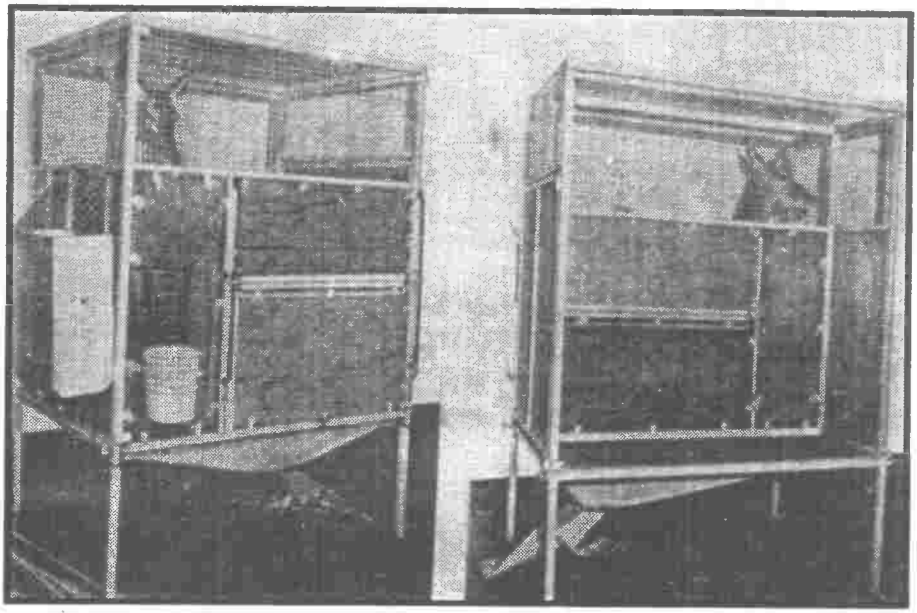
كما هو معلوم ليس المهم فقط ما تحتويه مواد العلف من عناصر غذائية ، بقدر ما هو مهم القدر المهضوم من محتواها الغذائي ، وعلى ذلك ليس المهم فقط تحليل مادة علف لمكوناتها ، بل يجب تدعيم هذه النتائج بتقييم مادة العلف من حيث معاملات هضم مكوناتها لمعرفة قيمة مادة العلف الإنتاجية . ويتم حساب معاملات الهضم Digestion Co-efficients بعمل تجارب هضم Digestion Trials على الحيوانات In vivo في صناديق الهضم Metabolic Cages سواء بالتغذية المباشرة أو غير المباشرة لمادة العلف المختبرة ، وحساب المأكول منها والخارج في الروث وحساب معاملات الهضم الظاهرية ، أو أن تقدر معملياً In vitro وهي تختلف لحد كبير أو بسيط لاختلاف ظروف المعمل عن القناة الهضمية للحيوان .

وفي التقدير على الحيوانات عادة تكون ذكورا بالغة ، وتمر بفترة تمهيدية لتفريغ القناة الهضمية من الغذاء السابق (١-٣ أسابيع في الغنم و ٤-٥ أيام في الدواجن) ، ثم بفترة أساسية (١-٢ أسبوع في الغنم و ٣-٥ أيام في الدواجن) يسجل فيها الكميات المأكولة وكمية الروث ، مع أخذ عينات من الروث (١٠-٢٥٪) للتجفيف والتحليل (من العينة المركبة لكل الفترة الرئيسية) . وقد تستخدم المرقمات Markers في أول وآخر الطور الرئيسي. وقد يجمع الروث في أكياس بعيدا عن البول .

وتحلل مادة العلف ويحلل الروث . وإذا كانت مادة العلف المختبرة لا تؤكل بمفردها فلابد من عمل تجربتي هضم ، الأولى على عليقة أساسية وتحسب منها معاملات هضمها، والثانية عليقة أساسية مع العليقة المختبرة وتحسب لهما معاملات الهضم ثم تستنتج معاملات هضم المادة المختبرة بالفرق ، وهو النظام المسمى بتجربة هضم غير مباشرة أو التغذية غير المباشرة By Difference Method or Indirect Feeding ، ومن معاملات الهضم تحسب الكمية المهضومة أو المركبات المهضومة الكلية فى العلف .



صناديق هضم فردية ومزدوجة بحاجز يمكن إزالته



(شكل ٥٠) صناديق هضم وميتابوليزم

معامل هضم أي مغذي = ١٠٠–١٠٠ $\left[\frac{\text{٪ للمرقم في العلف × ٪ للمغذي في الروث}}{\text{٪ للمرقم في الروث × ٪ للمغذي في العلف}} \right]$

وإذا أخذ في الاعتبار نسبة المعاد اكتشافه من المرقم فيكون معامل هضم أي مغذي =

$$١٠٠ - \frac{\text{٪ للمعاد اكتشافه من المرقم × ٪ للمرقم في العلف × ٪ للمغذي في الروث}}{\text{٪ للمرقم في الروث × ٪ للمغذي في العلف}} .$$

وقد تحسب معامل هضم المادة الجافة باستخدام الدليل من المعادلة التالية كذلك :

$$\text{معامل هضم المادة الجافة ٪} = ١٠٠ \times \frac{\text{٪ للمرقم في الروث − ٪ للمرقم في الغذاء}}{\text{٪ للمرقم في الروث}} .$$

وتستخدم المرقمات Markers في تغذية الحيوان ، إما لتقدير وقت مرور الكتلة الغذائية في القناة الهضمية ، أو لتقدير معاملات الهضم والحجوم للكرش، أو معدل التدفق في ٢٤ ساعة. ومن المرقمات ما هو سائل (صبغات Dyes فاستخدم بولي إيثيلين جليكول Polyethylene Glycol أو معقد إيثيلين دي أمين تترا حمض الخليك للكروم Cr EDTA ، وتم تعليم ذراتها بالنظير المشع لتتبعها، وبعدا عن الإشعاع أمكن تقدير Cr EDTA بجهاز مطياف الامتصاص الذري AAS، كما أمكن تقدير الكروم من هذا المعقد بواسطة سبكترومتر فلورسنتي بأشعة إكس). ومن المرقمات كذلك ما هو صلب (كاللجنين ، السليكا أو الرماد غير الذائب في الأحماض ، أوكسيد الحديديك ، أوكسيد الكروم Cr_2O_3 وبعض العناصر النادرة الأرضية التي لها سلوك غروي إشعاعي مثل Dysprosium والسيريوم Cerium (^{144}Ce) الذي نصف عمره ٢٨٥ يوما ، معقد ^{103}Ru مع الفينانثرولين أو مخلوط ^{51}Cr EDTA مع ^{103}Ru - Phen ، والبولي إيثيلين ، الألكانات Alkanes (كهيدروكربونات كشمع البرافين وتقدر بالكروماتوجراف الغازي ومصادرها الطبيعية في المراعي أو كإضافات وأفضلها ك٣٢ من حيث إنها تعطي أعلى اكتشاف في الروث) ، واليتربوم Ytterbium (كمركب طبيعي في المراعي يزال بمحلول المنظفات المتعادل) .

وتمكن المرقمات Indicators عموما ، والكروم خصوصا من قياس الروث ببساطة عن وزنه فيغني ذلك عن الجمع الكمي للروث . خاصة وأن أوكسيد الكروم Cr_2O_3 يتم اكتشافه بمعدل عال يبلغ ٩١,٤ ± ٥,٧٦ ٪ (٧٢,٣ – ١١١,٦ ٪) ؛ لذلك فهو أكثر المرقمات استخداما في تقديرات معاملات الهضم .

ولتقدير أوكسيد الكروم يلزم تحضير المحاليل التالية :

مخلوط هضم :

أذب ١٠ جم موليبدات صوديوم في ١٥٠ مل ماء مقطرا ، وببطء أضف ١٥٠ مل حمض كبريتيك مركزا ، وبرد المخلوط ، وببطء أضف مع التقليب ٢٠٠ مل حمض بيركلوريك ٧٠ ٪ .

دليل ملون :

أذب ٠,٢٥ جم دي فينيل كاربازيد Diphenyl Carbazide في ١٠٠ مل محلول ماء / أسيتون (١:١) ، يحضر طازجاً يومياً .

التقدير :

زن عينة تحتوي ١٥٠ – ١٢٠٠ ميكروجرام أوكسيد كروم Cr_2O_3 في دورق كلداهل سعة ١٠٠ مل ، أضف ١٠ مل مخلوط هضم ، سخن ٣٠ دقيقة (في أول ١٥ دقيقة يتحول لون المهضوم من الأخضر إلى الأصفر أو البرتقالي) . ابعد المهضوم عن النار وبرد إلى حرارة الغرفة ، خفف إلى ٥٠٠ مل بالماء المقطر . انقل ٥ مل من المهضوم المخفف إلى أنبوبة اختبار ثم أضف ٤,٥ مل حمض كبريتيك ٠,٢٥ أساسي (عياري) ، أضف ٠,٥ مل دليل ملون بسرنجة ، اخلط واترك على الأقل ٣ دقائق لتكوين اللون الذي يقدر شدته على طول موجة ٥٤٠ نانوميتر (ميلميكرون) ضد عينة خالية Blank من ٩,٥ مل حمض كبريتيك ٠,٢٥ أساسي + ٠,٥ مل دليلا ملوناً . مع عمل منحنى قياسي Standard Curve من أوكسيد الكروم الجاف لمدة ساعتين على ١٢٠°م ويجرى عليه نفس ما أجرى على العينة من إضافة حمض الكبريتيك والدليل الملون لقياس شدة الكثافة الضوئية لتركيزات مختلفة للكروم .

كما يمكن تقدير أوكسيد الكروم بطريقة ضوئية مطورة تمكن من قياس ٤٠ عينة في اليوم ، وذلك بترميد عينات العلف أو الروث في فرن ترميد Muffle Furnace لمدة ليلة على ٤٥٠°م ، ثم تبرد ويضاف إليها ١٥ مل مخلوط هضم [مكون من ١٠ جم موليبدات صوديوم مذابة في ٥٠٠ مل مخلوطا من ماء مقطر / حمض كبريتيك مركز / حمض بيركلوريك (٧٠٪) ١٥/١٥/٢٠] ، ويتم التسخين على سخان كهربائي حرارة سطحه ٣٠٠°م حتى يتحول اللون إلى الأصفر أو الأحمر ، ويستمر التسخين بعدها ١٠–١٥ دقيقة ثم تبرد ، تنقل المحتويات المهضومة إلى دورق معياري سعة ٢٠٠ مل ويكمل للعلامة ، يؤخذ منها ١٠ مل في أنبوبة (بوليستيرين سعة ١٧×١٠٠م بغطاء بوليثيلين) ويعمل لها طرد مركزي لمدة ٥ دقائق ، وتقاس الكثافة الضوئية على ٤٤٠ نانومتر ضد عينة خاوية من الماء المقطر ، مع عمل منحنى قياسي لكميات من أوكسيد الكروم النقي متباينة (٥–٦٠ مجم) .

ولقد وجد أن المعاد اكتشافه من أوكسيد الكروم في الروث يبلغ ٨٢,٩٪ ± ١١,١٪ (في حالة إضافة الورق المشبع بأوكسيد الكروم داخل الكرش) أو ٩٤,٤ ± ٧,٩٪ (في حالة إضافة مسحوق أوكسيد الكروم المخلوط مع الشعير) أو ٩٨,٠ ± ٢,٧٪ (في حالة إضافة مسحوق أوكسيد الكروم كمعلق مع زيت الفول السوداني إلى فتحة الكرش

Cannula) ، أو ١ ,٩٤ ± ٢ ,٢ ٪ (عند خلط أوكسيد الكروم مع مطحون القش) .

ويمكن كذلك تقدير أوكسيد الكروم بطريقة بسيطة وسريعة ومتخصصة بوزن ١ جم عينة (تحتوي ٣-٧ مجم أوكسيد كروم) في دورق معياري مع إضافة ١-٥ مجم موليبدات صوديوم و ١٠ مل حمض نيتريك . ويتم الغليان ببطء حتى يصير حجم الحامض إلى النصف في حدود ١٠ دقائق . تبرد العينة ، ويضاف ٥ مل حمض بيركلوريك ٧٠٪ . يغلي مع الخلط لتمام الأكسدة في مدة ١٠ - ١٥ دقيقة . برد العينة وأكمل للعلامة بالماء . اطرد مركزيا أو اتركها لترسيب السيليكا . قدر شدة الكثافة الضوئية على ٤٤٠ نانوميتر ضد محاليل معلومة التركيز من دي كرومات بوتاسيوم لتعطي مدى من تركيزات أوكسيد الكروم ١٠-٨٠ جاما / مل .

تقدير البولي إثيلين Polyethylene :

البولي إيثلين ثابت ضد أحماض النيتريك والكبريتيك المركزان ، فبإذابة المادة العضوية بالغليان في مخلوط من هذين الحامضين ، يفصل البولي إيثلين في قمع فصل ، ويجمع في بوتقة بورسلان ويبخر البولي إيثيلين في فرن احتراق ويقدر بالوزن :

١ ـ يوزن ٢ جم عينة بالضبط في كستبان استخلاص ويضاف إليها ٢٥ مل حمض نيتريك (٦٥٪ وزن / حجم) + ١٠ مل حمض كبريتيك (٩٦٪ وزن / حجم) . اتركها ليلة قبل التسخين .

٢ ـ سخن محتويات الكستبان لمدة ساعتين في حمام ماء يغلي مع تجنب الغازات بإجراء الهضم في خزانة غازات .

٣ ـ انقل المحلول إلى قمع فصل باستخدام الماء ، واتركه حتى يطفو البولي إيثلين على السطح . اسحب المحلول خالي البولي إيثيلين بحرص ورج المتبقي المحتوى على البولي إيثلين في قمع الفصل مع ١٥ مل كلوروفورم لمدة دقيقة .

٤ ـ بعد سحب الكلوروفورم ، انقل البولي إيثيلين إلى بوتقة ترشيح بورسلان بالأسيتون، وأزل الأسيتون بالتفريغ ثم جفف البوتقة إلى ثبات وزنها (١٠٣ م لمدة ساعة) واتركها تبرد في مجفف واوزن بسرعة .

٥ ـ ضع البوتقة في فرن ترميد لمدة ١٥ دقيقة على ٦٠٠°م ، واتركها تبرد في مجفف وزنها مباشرة بسرعة .

فالفقد في الوزن بالحرق هو وزن البولي إيثيلين فيعبر عنه كنسبة مئوية .

وللتنبؤ بمعامل هضم مادة العلف معمليا فقد أجرى تعديل على نظام المنظفات بأن استخدم إنزيم الفا ـ أميلاز ، لتحويل النشا إلى سكريات ذائبة أثناء الهضم بمحلول

المنظفات المتعادل ، لاستخلاص الألياف المتعادلة ، التي تغسل بالماء الساخن ، وتهضم بإنزيم السليولاز ، وبعدها تجمع المادة غير المهضومة لتقدير مادتها العضوية ، مع تقدير الرماد الكلي في العينة لحساب النسبة المئوية للمادة العضوية المهضومة بمحلول المنظفات المتعادل والسليولاز (NCD) ، وفى هذا التكنيك ينزع الدهن من العينة (٠,٥ جم) ، ثم تطحن لتمر من منخل ١ م. تنقل العينة الجافة هوائيا ومستخلصة الدهن إلى قابلة ١٥٠مل ، ويضاف إليها ٢٥ مل محلول منظفات متعادلا + ٠,٥ مل محلول مانع للفوران (٢,٥ مل سليكون ترج مع ٢٥٠ مل ماء) . توصل القابلة بمكثف عاكس ، ويغلي ٠,٥ ساعة. أطفئ السخان وأضف ٢٥ مل محلول منظفات متعادلا باردا + ٢ مل محلول الفا-أميلاز (٢ جم تذاب في ٩٠ مل ماء ، وترشح ويضاف إلى الراشح ١٠ مل ٢- اثوكسي إيثانول وتحفظ على ٥°م) اغل ٠,٥ ساعة . رشح واغسل (٣ مرات × ٢٠ مل) بالماء الساخن . ينقل الراسب إلى قابلة مع ٢٥ مل ماء ساخنا (٨٠°م) + ٢ مل محلول إلفا - أميلاز واخلط جيداً واتركها ١٥ دقيقة . رشح وخذ الراسب مع ٣٠ مل محلول سليولاز يحضر يومياً بإذابة ٢٠ جم سليولاز + ٠,١ جم كلورامفينيكول + لتر محلول منظم (١,٣٦ جم خلات صوديوم + ٥٠٠ مل ماء + ٠,٦ مل حمض خليك ثلجيا وأكمل إلى لتر) ، هز وحضن على ٤٠°م لمدة ساعة على الأقل) واغلق الآنية ، وهز لخلط الألياف مع السليولاز. حضن على ٤٠°م ± ٢°م لمدة ٢٤ ساعة مع الرج صباحاً ومساء . رشح واغسل مع سحب الراشح بالتفريغ ، ثم اغسل الألياف غير المهضومة بماء ساخن ثم بالأسيتون ٢٠ مل مرتين. جفف المتبقي لمدة ليلة على ١٠٠ ± ٢°م وبرد واوزن . احرق على ٥٥٠°م لمدة ٤ ساعات وبرد وأعد الوزن ، واحسب النسبة المئوية للمادة العضوية غير المهضومة على أساس المادة الجافة وتقدر الرماد الكلية في عينة من هذه المادة العلفية المدروسة ، وتنسب كذلك للمادة الجافة . فتكون النسبة المئوية للمادة العضوية المهضومة بالمنظفات المتعادلة والسليولاز = ١٠٠ - (٪ مادة عضوية غير مهضومة + ٪ رماد كلي) .

هذا وقد طُورت طريقة مماثلة للتنبؤ بمعامل الهضم والقيمة الحرارية (القابلة للتمثيل والصافية) للأعلاف المخلوطة في وقت أقل من السابقة وبنفس دقتها وشديدة الارتباط بالقيم البيولوجية المأخوذة على الحيوانات ، إلا أنها توفر الوقت (عن التجارب البيولوجية على الحيوان أو التجارب المعملية الأخرى)، والمال (لا تحتاج لحيوانات أو سائل كرش)، وتحافظ على صحة الحيوان (لعدم الحاجة لعمل فتحة كرش مستديمة) ، كما أنها بسيطة وقليلة العمل وسهلة التكرار فتصلح للعمل الروتيني في تقييم الأعلاف . وهذه الطريقة تتم على ثلاث خطوات :

١ - هضم بالببسين في حمض هيدروكلوريك على ٤٠° لمدة ٢٤ ساعة .

٢ ـ تحلل مائي للنشا في نفس المحلول على ٨٠°م لمدة ٤٥ دقيقة .

٣ ـ هضم إنزيمي بالسليولاز من Trichoderma viride على ٤٠°م لمدة ٢٤ ساعة .

ويجرى التقدير كالتالي :

١ ـ يذاب ٢ جم ببسين (١ : ١٠٠٠٠) في لتر حمض هيدروكلوريك (٠,١ عياري).

٢ ـ يحضر محلول منظم خلات PH ٤,٨ من :

أ ـ ٥,٩ مل حمض خليك مركزاً في ماء إلى لتر .

ب ـ ١٣,٦ جم خلات صوديوم ثلاثي الماء في ماء إلى لتر .

ويخلط ٤٠٠ مل من (أ) مع ٦٠٠ مل من (ب) وينظم PH فإن زاد يقلل من المحلول (أ) وإن قل PH يزاد المحلول (ب) .

٣ ـ يذاب السليولاز (حسب مصدره) ٣,٣ – ١٣,٥ جم / لتر محلول منظم خلات.

٤ ـ تؤخذ ٠,٣ جم عينة جافة هوائية تمر من منخل ١ م ، ويضاف إليها ٣٠ مل محلول ببسين سبق تسخينه . حضن على ٤٠°م لمدة ٢٤ ساعة ، مع تقليب المحتويات بعد ٥ ساعات .

٥ ـ انقل الأواني إلى حمام ماء على ٨٠°م لمدة ٤٥ دقيقة بالضبط ثم رشح .

٦ ـ يضاف للعينة المتبقية ٣٠ مل محلول سليولاز سبق تسخينه ، ويعاد تحضين الأواني لمدة ٢٤ ساعة على ٤٠°م ، مع تقليبها بعد ٥ ساعات .

٧ ـ المتبقي بعد الترشيح والغسيل يتم تجفيفه ليلة في فرن على ١٠٣°م ، ويوزن ثم يحرق على ٥٥٠°م لمدة ١,٥ ساعة ، ويعاد الوزن .

٨ ـ حاصل الطرح للوزنتين الأخيرتين هو غير المهضوم من المادة العضوية ويعبر عنه كنسبة مئوية تطرح من ١٠٠ للحصول على معامل هضم المادة العضوية بالسليولاز (CDOM) ، وبضرب الأخيرة في محتوى المادة الجافة من مادة عضوية نحصل على المادة العضوية المهضومة بالسليولاز من المادة الجافة Cellulase Digestible Organic Matter in the Dry Matter (CDOMD) .

٩ ـ من معادلات ارتداد يتم التنبؤ بمعاملات الهضم والطاقة الميتابوليزمية والطاقة الصافية لمواد العلف شديدة الشبه بما يمكن الحصول عليه من التجارب البيولوجية على الحيوانات ، حيث إن :

In vivo DOMD = 0.973 CDOMD - 2.49

وهي العلاقة بين المادة العضوية المهضومة من المادة الجافة بيولوجيا (in vivo DOMD) ومعمليا بالسليولاز (CDOMD) ($r^2 = 0.93$) .

$$ME = 0.15\ CDOMD + 0.241\ EE - 0.99\ (r^2 = 0.96)$$

$$NEL = 0.112\ CDOMD + 0.159\ EE - 2.37\ (r^2 = 0.96)$$

$$= 0.118\ CDOMD + 0.5\ GE - 0.02\ CP^2 - 10.41\ (r^2 = 0.95)$$

حيث EE ، CP كنسب مئوية للدهن والبروتين في المادة الجافة ، ME ، NEL ، GE طاقة ميتابوليزمية وصافية وكلية بالميجاجول في الكيلو مادة جافة على الترتيب .

المراجع

- Anok. (1979) Can. J. Anim. Sci. 59 : 631 .
- Chamberlain, D. G. & Thomas, P. C (1983) Anim. Prod., 36 : 155 .
- Close, W. & Menke, K. H. (1986) Selected topics in animal nutrition. Deutsche stiftung fur Internationale Entwicklung, Feldafing, Germany .
- Cottrill, B.R. & Evans, P. J. (1984) A R C Technical Review (Wp / Ra 7 / 0178 / SH) .
- De Boever , J. L. et a . (1986 & 1988) Anim . Feed Sci . Technal., 14 : 203 & 19 : 247 .
- Dowman, M. G. & Collins, F. C. (1982) J. Sci. Food Agric. 33 : 689.
- Mac Rae, J. C. (1974) Proc. Nutr . Soc., 33 : 147 .
- Menke, K. H. & Steingass, H. (1988) Anim. Res. Devlop., 28 : 7 .
- Schneider, B. H& Flatt, W. P . (1975) The evalution of feed through digestibility experiments . The Univ. of Georgia Press .