

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Anja ŠPARI LEBEN

**VPLIV S TANINI BOGATIH EKSTRAKTOV LESA  
PRAVEGA KOSTANJA IN KEBRAČA NA  
IZKORIŠČANJE NEKATERIH HRANIL PRI  
PITOVNIH PIŠČANCIH**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Anja ŠPARI LEBEN

**VPLIV S TANINI BOGATIH EKSTRAKTOV LESA PRAVEGA  
KOSTANJA IN KEBRAČA NA IZKORIŠČANJE NEKATERIH  
HRANIL PRI PITOJNIH PIŠČANCIH**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**THE EFFECT OF TANNIN RICH SWEET CHESTNUT AND  
QUEBRACHO WOOD EXTRACTS ON SOME NUTRIENT  
UTILIZATION IN BROILERS**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija kmetijstvo – zootehnika. Opravljeno je bilo na Katedri za prehrano, Oddelka za zootehniko, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Janeza Salobirja in za somentorico as. dr. Vido Rezar.

Recenzent: prof. dr. Andrej LAVRENČIČ

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Antonija HOLCMAN  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Janez SALOBIR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: as. dr. Vida REZAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Andrej LAVRENČIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Anja Špari Leben

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 636.5.084/.087(043.2)=163.6
KG	perutnina/pitovni piščanci/prehrana živali/krmni dodatki/pravi kostanj/ kebračo/tanin/hranila/izkoristljivost
KK	AGRIS L51/6100
AV	ŠPARI LEBEN, Anja
SA	SALOBIR, Janez (mentor)/REZAR Vida (somentorica)
KZ	SI-1230 Domžale, Groblje 3
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
LI	2009
IN	VPLIV S TANINI BOGATIH EKSTRAKTOV PRAVEGA KOSTANJA IN KEBRAČA NA PREBAVLJIVOST NEKATERIH HRANIL PRI PITOVNIH PIŠČANCIH
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	VIII, 34 str., 11 pregl., 6 sl., 33 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V poskusu smo želeli ugotoviti, ali dodatek s tanini bogatega ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača pri pitovnih piščancih vpliva na izkoristljivost in bilanco suhe snovi, organske snovi, surovega pepela, beljakovin, kalcija in fosforja. Zanimalo nas je tudi, ali izvlečka različno vplivata na vsebnost suhe snovi v izločkih. V bilančni poskus smo vključili 48 pitovnih piščancev provenience ROSS 308. Poskus smo opravili v dveh ponovitvah s po 24 živalmi, ki so bile razdeljene v pet skupin. Živali so bile na začetku poskusa stare 23 oziroma 25 dni in uhlevljene v individualne bilančne kletke. V prilagoditvenem obdobju, ki je trajal 5 dni, smo vse živali krmili s kontrolno krmo (krma brez dodatka tanina). V 5-dnevnem poskusnem obdobju smo živali razdelili v pet skupin s po 9 ali 10 živalmi. Vse so dobivale enako krmo, ki ji je bil glede na skupino primešan ekstrakt iz lesa pravega kostanja v koncentracijah 0,07 in 0,20 % (SK 0,07 oz. SK 0,20) ali ekstrakt iz lesa kebrača v koncentracijah 0,07 in 0,20 % (KE 0,07 oz. KE 0,20). Kontrolna skupina (KONT) je dobivala krmo brez dodatka. Vodo in krmo so imele živali ves čas na voljo. Rezultati kažejo, da dodatek obeh ekstraktov v različnih koncentracijah ni imel statistično značilnega vpliva na opazovane lastnosti. Zanimivo je, da noben od dodatkov ni vplival na bilanco in izkoristljivost beljakovin. Največje numerične razlike so bile izmerjene pri vsebnosti suhe snovi v izločkih, kjer se je vsebnost suhe snovi povečala predvsem v skupinah z dodatkom ekstrakta lesa pravega kostanja (za 12 oz. 9 %; pri ekstraktu lesa kebrača le za 6 oz. 3 %). Rezultati raziskave tako kažejo, da oba s tanini bogata ekstrakta pri rastočih piščancih nimata vpliva na izkoriščanje proučevanih hranil. Opazen je trend povečanja vsebnosti suhe snovi izločkov zaradi dodajanja ekstrakta lesa pravega kostanja.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn  
DC UDC 636.5.084/.087(043.2)=163.6  
CX poultry/broilers/animal nutrition/feed additives/sweet chestnut/quebracho/  
tannin/nutrients/utilization  
CC AGRIS L51/6100  
AU ŠPARI LEBEN, Anja  
AA SALOBIR, Janez (supervisor)/REZAR, Vida (co-supervisor)  
PP SI-1230 Domžale, Groblje 3  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science  
PY 2009  
TI THE EFFECT OF TANNIN RICH SWEET CHESTNUT AND  
QUEBRACHO WOOD EXTRACTS ON SOME NUTRIENT UTILIZATION  
IN BROILERS  
DT Graduation Thesis (University studies)  
NO VIII, 34 p., 11 tab., 6 fig., 33 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB The aim of our experiment was to determine the effect of tannin rich sweet chestnut and quebracho wood extracts supplementation on the dry matter, organic matter, crude ash, protein, calcium and phosphorus balance and utilisation in broilers. Additionally, we wanted to find out whether the two extracts affect the excreta dry matter content in different ways. The study comprised of 48 broilers, provenance ROSS 308. The experiment was carried out in two repetitions of 24 animals which were divided into five groups. At the beginning of the experiment the animals were 23 or 25 days old and caged in individual balance cages. In the adaptation period of five days all chickens were fed with control feed (without tannin supplement). In the five day experimental period the animals were divided in five groups each with nine or ten animals. All animals were fed with the same basic feed and a supplement of sweet chestnut in concentrations 0.07 or 0.20 % (SK 0.07 or SK 0.20), or quebracho wood tannin extract in concentrations: 0.07 or 0.20 % (KE 0.07 or KE 0.20). The control group feed contained no tannin supplement. Water and feed were *ad libitum*. The results showed that different concentrations of both supplements did not have any statistically significant effect on the studied traits, except for the dry matter content in excrements where it increased especially in the groups with the supplement of sweet chestnut wood extract (12 or 9 % and only 6 or 3 % for quebracho wood extract). Interestingly, none of the supplements had any effect on the utilisation of nitrogen or proteins. It has been concluded, that both supplements rich in tannins had no effect on the utilisation of the studied nutrients. We have only observed a trend of increased dry matter content of excreta due to the sweet chestnut wood extract supplement.

## KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key Words Documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VI
Kazalo slik	VII
Okrajšave in simboli	VIII
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>3</b>
2.1 TANINI	3
<b>2.1.1 Prisotnost taninov v naravi</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2 Uporaba taninov</b>	<b>4</b>
2.2 VRSTE TANINOV	5
<b>2.2.1 Hidrolizirajoči tanini</b>	<b>5</b>
2.2.1.1 Ekstrakt lesa pravega kostanja	7
<b>2.2.2 Kondenzirani tanini</b>	<b>8</b>
2.2.2.1 Ekstrakt lesa kebrača	9
2.3 TVORJENJE KOMPLEKSOV	10
2.4 DELOVANJE TANINOV	11
2.5 VPLIV EKSTRAKTOV TANINOV LESA PRAVEGA KOSTANJA IN KEBRAČA	13
<b>3 MATERIALI IN METODE</b>	<b>15</b>
3.1 MATERIALI	15
3.2 METODE	17
<b>3.2.1 Groba suha snov</b>	<b>17</b>
<b>3.2.2 Suha snov, surov pepel in organska snov</b>	<b>17</b>
<b>3.2.3 Fosfor</b>	<b>18</b>
<b>3.2.4 Kalcij</b>	<b>18</b>
<b>3.2.5 Dušik</b>	<b>18</b>
3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	19
<b>4 REZULTATI</b>	<b>20</b>
<b>5 RAZPRAVA</b>	<b>25</b>
<b>6 SKLEPI</b>	<b>29</b>
<b>7 POVZETEK</b>	<b>30</b>
<b>8 VIRI</b>	<b>32</b>
<b>ZAHVALA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Povzetek raziskav vpliva ekstraktov lesa pravega kostanja in kebrača pri različnih živalih	14
Preglednica 2: Sestava in izračunana ocenjena vsebnost energije in hranil v krmnih mešanicah	16
Preglednica 3: Rezultati kemijskih analiz krmnih mešanic (g/kg)	17
Preglednica 4: Skupni proizvodni rezultati v času trajanja bilance	20
Preglednica 5: Rezultati analize izločkov v času trajanja bilance	21
Preglednica 6: Rezultati analize suhe snovi v času trajanja bilance	21
Preglednica 7: Rezultati analize organske snovi v času trajanja bilance	22
Preglednica 8: Rezultati analize surovega pepela v času trajanja bilance	22
Preglednica 9: Rezultati analize dušika v času trajanja bilance	23
Preglednica 10: Rezultati analize fosforja v času trajanja bilance	23
Preglednica 11: Rezultati analize kalcija v času trajanja bilance	24

## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Molekula galne kisline	6
Slika 2: $\beta$ -1,2,3,4,6-pentagaloil-O-D-glukoza	6
Slika 3: Hamamelitanin	7
Slika 4: Molekula epikatehina (levo) in katehina (desno), oba spadata med flavan-3-ole	8
Slika 5: Molekula flavan-3-4-diola	9
Slika 6: Molekula profisetinidina	9



## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

GSS	groba suha snov
SS	suha snov
SP	surov pepel
OS	organska snov
N	dušik
Ca	kalcij
P	fosfor
C	ogljik
Da	dalton – enota za molsko maso = 1 g/mol
UV	ultra vijolično
ME	presnovljiva energija
MJ	mega joul

## 1 UVOD

Tanini so bili v prehrani živali poznani predvsem kot antinutritivne snovi. V krmilih, ki jih vsebujejo v večjih količinah (sirek, ječmen, ogrščično seme, bob, fižol, grah, leča ...), povzročajo zaradi tvorbe kompleksov predvsem z beljakovinami in ogljikovimi hidrati slabšo prebavljivost beljakovin in aminokislin ter tudi drugih hranil. Tanini se lahko vežejo tudi na črevesno sluznico, jo poškodujejo ter negativno vplivajo na izločanje prebavnih encimov (Mangan, 1988). Tako je negativni učinek vezave taninov na beljakovine povezan tudi z zaviranjem delovanja endogenih encimov in povečanjem endogenega izločanja beljakovin.

Vendar nimajo vsi beljakovinsko-taninski kompleksi v vseh koncentracijah le negativnih (antinutritivnih) lastnosti, ampak lahko tudi pozitivno vplivajo na oskrbo s hranili in zdravje živali. Ugodne lastnosti so npr. pri prežvekovalcih zaščita beljakovin pred mikrobo razgradnjo v vampu in zmanjšanje nevarnosti napenjanja (Mangan, 1988). Pri neprežvekovalcih imajo antimikroben učinek na škodljive mikroorganizme in pomagajo vzdrževati ravnotežje mikroflore v prebavilih (Schiafone in sod., 2008). S tem lahko zmanjšajo pojavnost drisk in izboljšajo zdravljenje drisk ter drugih prebavnih motenj. Lahko povečajo tudi vsebnost suhe snovi v blatu, kar lahko izboljša pogoje v hlevu in tako vpliva na proizvodne rezultate.

Tanini so tudi v tradicionalni humani medicini poznani kot naravne snovi, ki lahko pomagajo pri obrambnih mehanizmih proti mikrobnim infekcijam, kot regulatorji mikrobne populacije v prebavilih, zavirajo lahko rast in razvoj gliv, bakterij in virusov, imajo antioksidacijske lastnosti, lahko zmanjšajo tveganje za nastanek nekaterih vrst rakavih obolenj (Chung in sod., 1998b). Tudi pri živalih tanini delujejo kot naravni antioksidanti.

V zadnjih letih se vse bolj proučuje pozitivne lastnosti in različne načine uporabe različnih rastlinskih ekstraktov, bogatih s tanini, v prehrani živali. Pri tem je potrebno opazovati tudi možne negativne učinke. Ker se tanini vežejo na črevesno sluznico, imajo lahko učinek tudi na absorpcijo hranil, morda tudi rudninskih snovi. To je znano predvsem za tanine, ki jih vsebujejo nekatera krmila, kakšen vpliv imajo v krmo dodani čisti tanini ali naravni

rastlinski ekstrakti, bogati s tanini, pa je slabo raziskano.

Namen raziskave je bil ugotoviti, ali dodatek s tanini bogatih ekstraktov lesa pravega kostanja in kebrača vpliva na učinkovitost izkoriščanja suhe snovi (SS), organske snovi (OS), beljakovin, surovega pepela (SP), kalcija (Ca) in fosforja (P) pri pitovnih piščanci. Poleg tega nas je zanimal možen vpliv ekstraktov na konzumacijsko sposobnost in posledično na dnevni prirast živali. Predvsem nas je zanimalo, kako obe vrsti taninov vplivata na izkoriščanje beljakovin, saj pripravka vsebujeta različne vrste taninov. Tanini lesa pravega kostanja vsebujejo predvsem hidrolizirajoče tanine, tanini lesa kebrača pa kondenzirane. V primerjavi z hidrolizirajočimi tanini tvorijo kondenzirani tanini z beljakovinami stabilnejše komplekse.

Delovna hipoteza raziskave je bila, da dodatek različnih koncentracij tanina iz pravega kostanja in kebrača zmanjša izkoriščanje beljakovin, vendar je ta učinek pri kebraču zaradi drugačne vrste taninov (kondenzirani) kot pri kostanjevem taninu (hidrolizirajoči) večji.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 TANINI

V rastlinah se kopiči mnogo različnih spojin, kot so alkaloidi, fenoli in druge, ki po večini ne delujejo v osnovnih procesih, kot sta biosinteza in biorazgradnja, temveč imajo posebno biološko aktivnost in nalogo, da s svojim značilnim trpkim okusom, antimikrobnimi in antinutritivnimi lastnostmi ščitijo rastline pred bakterijami, glivami, plesnimi, boleznimi in tudi pred rastlinojedimi živalmi (Mangan, 1988; Hagerman, 2002). Pravimo jim sekundarni metaboliti. Takšno delovanje je značilno tudi za tanine. Tanini so naravne, rastlinske polifenolne spojine, ki se nahajajo v semenih, listih, plodovih, lesu in steblih (Mangan, 1988; Jansman in Longstaff, 1993; Lavrenčič, 2001). Lahko so običajni sestavni del rastline, lahko pa nastajajo tudi kot odgovor na stresne situacije, kot so pomanjkanje vode, nerodovitna tla, visoke temperature.

V povprečju se molekulska masa taninov giblje med 500 in 3000 Da (Bate-Smith in Swain, 1969, cit. po Mangan, 1988). Tanini so na splošno topni v vodi, njihova topnost pa se s povečanjem molekulske mase zmanjšuje (Lavrenčič, 2001). Izmed mnogih lastnosti taninov je najpomembnejša sposobnost tvorbe kompleksov z beljakovinami, sposobni pa so tvoriti komplekse tudi z ogljikovimi hidrati, rudninskimi snovmi in vitamini (Mangan, 1988; Jansman, 1993), zaradi česar imajo lahko tudi antinutritivne lastnosti. Danes je poznano, da lahko zaradi razlik v kemijski strukturi taninov (hidrolizirajoči, kondenzirani, kompleksni) pričakujemo drugačne učinke ob uporabi različnih vrst in količin taninov pri živalskih vrstah. Tanini so lahko dvorezen meč; na eni strani z antimikrobnim, antikancerogenim in antimutagenim delovanjem ugodno vplivajo na zdravje organizma, na drugi strani pa njihovo zauživanje lahko povzroči raka na požiralniku, poškodbe jeter, slabši imunski sistem in slabo izkoristljivost hranil (Chung in sod., 1998b).

Živali se na zauživanje povečane količine taninov v rastlinah odzovejo na različne načine, s povečanim izločanjem beljakovin, bogatih s prolinom, v slini, ki se vežejo s tanini, s spremembo pH-ja v prebavilih, s tvorbo surfaktatov ali s spremembo zauživanja krme (Mueller-Harvey, 1999).

### **2.1.1 Prisotnost taninov v naravi**

Že opis taninov nam nakazuje, da je to zelo heterogena skupina, v kateri najdemo molekule različnih kemijskih struktur in velikosti. Poleg tega se vsebnost in struktura taninov med rastlinskimi vrstami razlikujeta. Precejšne količine taninov vsebujejo semena nekaterih pomembnih rastlin, ki se pojavljajo v prehrani ljudi in živali. Najdemo jih lahko v različnih krmilih, kot so žita (sirek, ječmen, proso), metuljnice (lucerna, plazeča in črna detelja, bob, fižol, grah, leča ...) in ogrščica (Jansman, 1993; Jansman in Longstaff, 1993; Chung in sod., 1998b). Prav tako tanine najdemo tudi v sadnih sokovih (iz jagod, grozdja, jabolk, sliv...), vinu, pivu, čajih (zeliščnih in pravih), rožičevih strokih in kakavu. Iz kakavovih zrn lahko izoliramo epikatehin, epigalokatehin pa iz zelenih čajev, kjer so prisotni tudi galokatehin, katehin in epikatehin, vsi iz skupine hidrolizirajočih taninov (Chung in sod., 1998a). Prisotnost taninov je ugotovljena v 80 % olesenelih delov dreves in v 15 % enoletnih dvokaličnic, vendar vsebnost taninov med vrstami močno variira, v povprečju se količina taninov giblje med 1,5 in 30 % suhe snovi (Mueller-Harvey, 1999).

Na vsebnost taninov v rastlinah in njihovo kemijsko strukturo vplivajo zrelost rastlin, stresni dejavniki in okolje, predvsem pa so pomembni rastni dejavniki (temperatura, količina padavin, vsebnost hranil v tleh) (Jansman, 1993).

### **2.1.2 Uporaba taninov**

Mnogi avtorji navajajo (Mangan, 1988; Haslam, 1989; Mueller-Harvey, 1999), da je uporaba taninov znana že od začetka strojenja kože. V začetku industrijske predelave kože se je uporabljal toksičen kromov sulfat, ki so ga kasneje, zaradi svoje sposobnosti tvorjenja kompleksov z beljakovinami, zamenjali tanini. Pri procesu predelave kože v usnje se tanini vežejo na kolagen, s katerim tvorijo trajne komplekse, pretvorijo kožo v usnje in s tem dosežejo trajno odpornost proti mikroorganizmom (Mangan, 1988; Mueller-Harvey, 1999). Poleg usnjarstva so tanini dolga leta oz. tisočletja nenamerno prisotni tudi v tako imenovani preventivni medicini. Nahajajo se v pripravkih za preprečevanje driske, črevesnih tumorjev, kot diuretiki, protivnetna in antiseptična sredstva (Chung in sod., 1998a; Khanbabaee in Van Ree, 2001). Med drugim so tanini udeleženi tudi pri proizvodni črnih, barv za tekstil, kot koagulanti pri predelavi gum, uporabljajo jih za

fiksacijo membran v elektronski mikroskopiji (Chung in sod., 1998a). Zadnja leta se je uporaba taninov povečala tudi v vinogradništvu, kjer jih uporabljajo kot antioksidacijska sredstva, ki imajo vpliv na grenkobo, mehko in polnost okusa ter na obstojnost barve. Kondenzirane tanine uporabljamo predvsem v začetni predelavi drozga in mošta, hidrolizirajoče pa v vinu za staranje oziroma večletno zorenje. Uporaba je priporočljiva predvsem v letnikih, ko je grozdje prizadeto od gnilobe, slabšega dozorevanja in nerazvijanja barvnih snovi (Rusjan, 2008). Z vse večjo ekološko ozaveščenostjo ljudi se ponujajo dodatne možnosti za uporabo taninov. Z uporabo rastlin, ki vsebujejo tanine, v prehrani živali dosežemo koristne spremembe. Zaradi nastanka taninsko-beljakovinskega kompleksa se izboljša izkoriščanje dušika iz krme, kar posledično vpliva na zmanjšano onesnaženost okolja (Mueller-Harvey, 1999). Prisotnost taninov v prehrani prežvekovalcev lahko pripomore tudi k zmanjšanju nastanka metana in posledično k zmanjšanju emisij tega toplogrednega plina (Waghorn in McNabb, 2003; Kos, 2007).

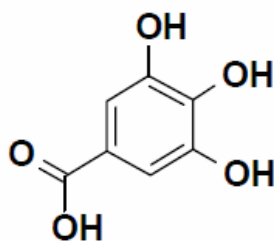
## 2.2 VRSTE TANINOV

Tanine delimo v skupine glede na vsebnost sladkorjev, stopnjo polimerizacije in esterifikacije. V grobem tako ločimo kondenzirane, hidrolizirajoče in kompleksne tanine (Aguilera-Carbo in sod., 2008). Znanstveniki so predlagali tudi delitev v štiri skupine, in sicer bi hidrolizirajoče tanine delili v galotanine in elagitanine. Natančne oziroma poenotene definicije taninov ni oziroma je le-ta preveč preprosta (Jansman, 1993; Mueller-Harvey, 1999), saj je znanih veliko primerov, kjer so v spojinah združene molekule tako kondenziranih kot hidrolizirajočih taninov (Mueller-Harvey, 1999). Osnovna struktura kondenziranih taninov je sestavljena iz flavanov, pri hidrolizirajočih pa jo sestavljajo molekule galne kisline, vezane na sladkor (Mueller-Harvey, 1999). Kondenzirani in hidrolizirajoči tanini se med seboj razlikujejo tudi po reakcijah z beljakovinami, ki so odvisne od dostopnosti fenolne skupine in prostorske konfiguracije molekul (Mangan, 1988).

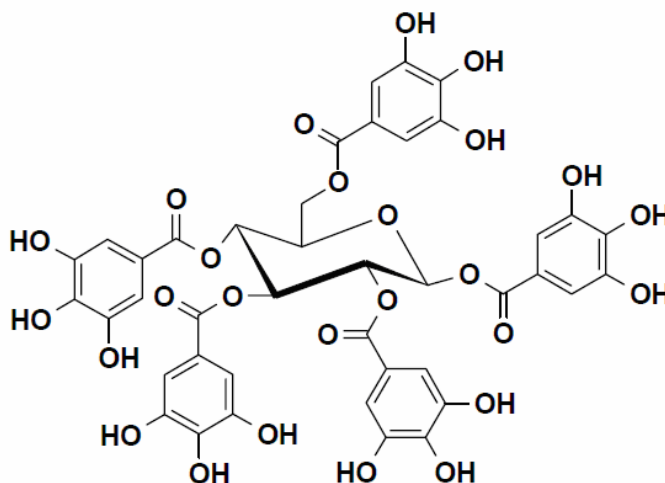
### 2.2.1 Hidrolizirajoči tanini

Hidrolizirajoči tanini so estri kislin in monosaharidov. Imajo ogljikohidratno jedro, kjer je najpogosteje prisotna D-glukoza. Ogljikohidratna jedra so združena s hidroksilnimi

skupinami, ki tvorijo estre s karboksilnimi kislinami, kot so galna (slika 1), elagna in heksahidroksidifenska. Od prisotnosti kisline je odvisno, ali nastanejo t. i. galotanini ali elagitanini. Estre z galno ali elagno kislino imenujemo galotanini, estre z heksahidroksidifensko kislino pa elagitanini (Mangan, 1988; Reed, 1995; Hagerman, 2002). Večina izomer galotaninov ima enake oz. zelo podobne molekulske mase, kar pa ne velja za kemijske lastnosti, kot sta občutljivost za hidrolizo in sposobnost preoblikovanja beljakovin, ki so odvisne od strukture galotanina (Hagerman, 2002). Taninska kislina je tipičen predstavnik hidrolizirajočih taninov. Pridobivamo jo iz hrastovih šišek in spada med galotanine, saj vsebuje od 8 do 10 molov galne kisline na mol glukoze (Mangan, 1988; Jansaman, 1993; Reed, 1995). Najenostavnejši hidroliziran tanin je preprost galotanin, imenovan pentagaloil glukoza (slika 2).



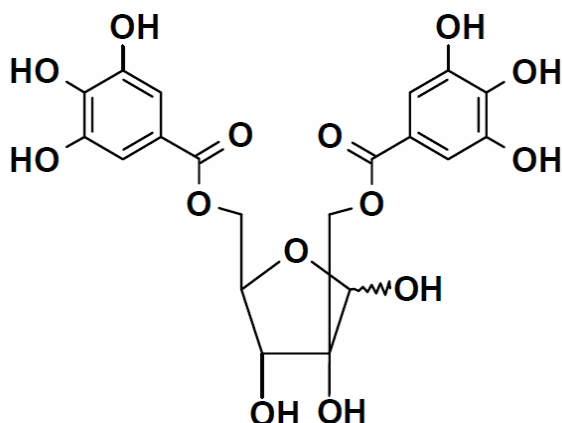
Slika 1: Molekula galne kisline (Hagerman, 2002)



Slika 2:  $\beta$ -1,2,3,4,6-pentagaloil-O-D-glukoza (Hagerman, 2002)

Galotanini se z oksidativnim združevanjem galoilnih skupin pretvorijo v elagitanine, ki so estri heksahidroksidifenske kisline. Omenjena kislina se v vodni raztopini spontano laktonizira v elagno kislino. V hrastu in kostanju, kot tudi nekaterih drugih rastlinah, se sintetizirajo številni kompleksi, kot npr. kastalagin in vaskalagin (Hagerman, 2002).

V nasprotju s kondenziranimi tanini so hidrolizirajoči tanini bolj topni v vodi (Reed, 1995).



Slika 3: Hamamelitanin (Hagerman, 2002)

Hamamelitanin je prisoten v lubju lešnika (*Hamamelis virginiana*), hrasta (*Quercus rubra*) in mnogih vrst kostanja (*Castanea sp.*) (Hagerman, 2002).

### 2.2.1.1 Ekstrakt lesa pravega kostanja

Naravni ekstrakt lesa pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.), ki je razširjen predvsem v južnem delu Evrope, je pridobljen z vodno ekstrakcijo (Farmatan).

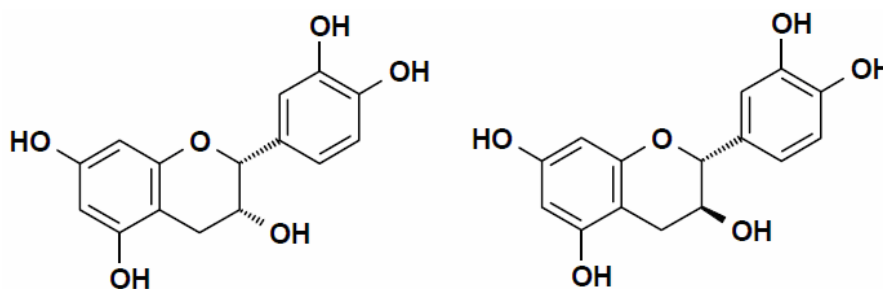
Vodotopni rastlinski polifenoli, ki imajo dolgo tradicijo uporabe v humani in živalski prehrani, predstavljajo osnovno sestavino ekstrakta lesa pravega kostanja. Polifenoli imajo sposobnost antimikrobnega delovanja na škodljive mikroorganizme, ugoden vpliv na mikrofloro, antioksidativni učinek, hkrati pa zagotavljajo boljšo absorpcijo hranil in stimulacijo imunskega sistem. Poleg polifenolov so v izvlečku prisotni še enostavni sladkorji, lignin, celuloza ter mineralne snovi. Omenjene sestavine se nahajajo tudi v vseh rastlinah, ki predstavljajo osnovo pri pridelovanju živalske krme, vendar je zaradi intenzivne predelave vsebnost osiromašena (Farmatan).



Nekatere raziskave kažejo na pozitivne učinke delovanja dodatka ekstrakta lesa pravega kostanja na parametre rasti predvsem pri mladih pticah, medtem ko na prebavljivost, kakovost mesa in bilanco N dodatek ni imel vpliva (Schiavone in sod., 2008).

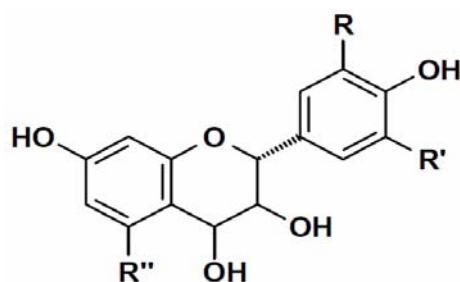
### 2.2.2 Kondenzirani tanini

Kondenzirani tanini, drugače imenovani tudi proantocianidi, so polimeri flavanov, povezani z vezmi C-C. Flavani so skupina metabolitov, ki so sestavljeni na osnovi heterocikličnega obroča, sestavljenega iz obroča fenilalanina in poliketudne biosinteze. Najbolj raziskovani so kondenzirani tanini, v katerih prevladujejo flavan-3-oli, epikatehin (negativni del) in katehin (pozitivni del) (Hagerman, 2002).



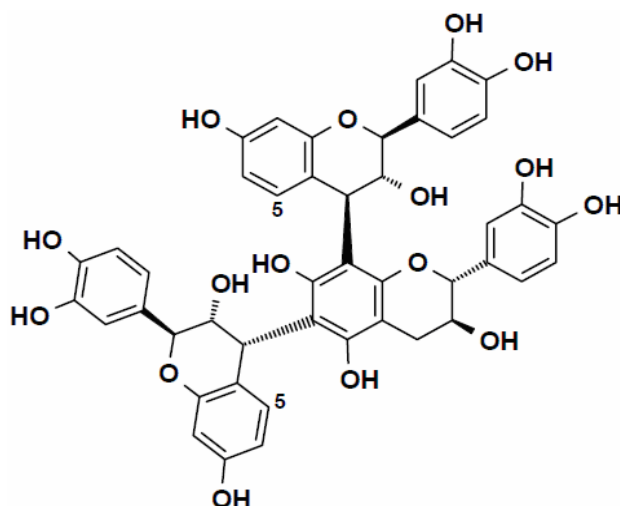
Slika 4: Molekula epikatehina (levo) in katehina (desno) (Hagerman, 2002), oba spadata med flavan-3-ole

V skupino s tremi fenoli, vezanimi na obroč fenilalanina, spadata tudi epigalokatehin in galokatehin, med manj znane pa spadajo flavan-3-oli, ki imajo na omenjen obroč vezano le eno fenolno skupino (Hagerman, 2002). Med vsemi rastlinskimi tanini, ki tvorijo različne polimere iz flavanolnih enot, so najbolj razširjeni in tipični ravno kondenzirani tanini (Mangan, 1988). Izraz kondenzirani tanini zelo na široko opisuje polifenole, ki temeljijo na flavanih, zato bi jih kemijsko bolje opisali kot proantocianide (Hagerman, 2002). Proantocianidi so spojine, ki pri oksidaciji ob prisotnosti vročih alkoholov tvorijo antocianidne pigmente (Jansman, 1993; Reed, 1995; Hagerman, 2002). Velikokrat pride do zamenjave leukoantocianidov (flavan-3-4-dioli) s proantocianidi. Flavan-3-4-dioli so monomeri flavonov, ki pri segrevanju v prisotnosti kisline tvorijo antocianide (Hagerman, 2002). Hagerman (2002) pritrjuje, da kemijska podobnost sicer obstaja, vendar slednji niso sposobni tvoriti kompleksov z beljakovinami.



Slika 5: Molekula flavan-3-4-diola (Hagerman, 2002)

Pomembno skupino kondenziranih taninov predstavljajo polimeri 5-deoksi-flavan-3-olov, med njimi so profisetinidini in prorobinetinidini, ki predstavljajo večji delež taninov, prisotnih v kebraču (Hagerman, 2002).



Slika 6: Molekula profisetinidina (Hagerman, 2002)

#### 2.2.2.1 Ekstrakt lesa kebrača

Ekstrakt lesa kebrača pridobivajo iz rdečega notranjega dela debla drevesa *Quebracho* (*Schinopsis lorentzii*), ki raste v Južni Ameriki, pretežno v Argentini in Paragvaju (Vegetable extracts ..., 2008). Ekstrakt, ki ga pridobimo iz tega lesa, spada v skupino kondenziranih taninov, bolj natančno v skupino kateholov. Ekstrakt lesa kebrača zelo hitro prodira v surove kože, zaradi česar je zelo uporaben v usnjarski industriji. Glede na relativno majhno vsebnost kislin in srednjo vsebnost soli ekstrakti iz kebrača spadajo med nežne taninske izvlečke, kar pa je mogoče oceniti tudi po vrednosti pH-ja. Kebračo je znan

kondenziran tanin, zelo uporaben v proizvodnji usnja, malo pa je podatkov o njegovem delovanju na perutnino (Marzoni in sod., 2005b).

### 2.3 TVORJENJE KOMPLEKSOV

Sposobnost taninov je tvorjenje kompleksov z beljakovinami, ogljikovimi hidrati in drugimi polimeri hrane, vendar je afiniteta do beljakovin precej večja (Van Soest in sod., 1987; Jansman in Longstaff, 1993; Jansman, 1993). Mnogi avtorji opisujejo nastanek taninsko-beljakovinskega kompleksa, ki nastane pri obarjanju beljakovin ob prisotnosti taninov (Mangan, 1988; Chung in sod., 1998b). Različne beljakovine imajo do taninov različno afiniteto, saj bolj učinkovito reagirajo pri pH-vrednosti, ki je bližje njihovi izoelektrični točki. Jansman (1993) navaja, da se tanini najraje vežejo na beljakovine slin, ki so bogate s prolinom. Povezava med tanini in beljakovinami temelji na osnovi vodikovih, hidrofobnih, ionskih in kovalentnih vezi. Vodikove vezi na beljakovini, ki so prisotne med fenolno hidroksilno in karboksilno skupino, so glavne vezi, ki stabilizirajo kompleks med taninom in beljakovino (Jansman, 1993).

Za nastanek taninsko-beljakovinskega kompleksa je zelo pomembna velikost molekule tanina. Molekula mora biti dovolj velika, da je sposobna vezave na več mest beljakovinske verige, hkrati pa mora biti dovolj majhna, da lahko med verige beljakovinske molekule sploh prodre (Chung in sod., 1998b). Isti avtorji navajajo še, da so pri hidrolizirajočih taninih za obarjanje beljakovin zadostne najmanj dve galni in ena elagna kislina, najmanjša molekulska masa tanina za učinkovito obarjanje beljakovin pa naj bi bila 350 g/mol. Po Mueller-Harvey (1999) je najmanjša molekulska masa tanina za učinkovito obarjanje beljakovin 500 g/mol.

Med kondenziranimi ter hidrolizirajočimi tanini in beljakovinami potekajo reakcije, ki so odvisne od dostopnosti reaktivne fenolne skupine in proste konfiguracije molekul (Mangan, 1988). Do povezave s kovalentnimi vezmi pride v aerobnih pogojih, ob izpostavitvi UV-sevanju in pri delovanju polifenolnih oksidaz, saj so kovalentne vezi ireverzibilne (Jansman, 1993). Vezava taninov na beljakovine ima lahko negativne učinke, ki se pojavijo zaradi zaviralnega delovanja endogenih encimov (amilaze, tripsina, lipaz) in povečanja endogenega izločanja beljakovin (Jansman, 1993).

Tanini se z ogljikovimi hidrati povezujejo z reverzibilnimi hidrofobnimi vezmi (Haslam, 1989; Reed, 1995), najpogosteje tvorijo komplekse s celulozo, hemicelulozo, škrobom in pektinom (Jansman, 1993; Reed, 1995). Z višanjem ionske jakosti in temperature se povečuje tudi delež hidrofobnih povezav. Med tanini in mikrobi potekajo reakcije v manjšem obsegu. Pri ugodnem pH-ju se mikrobi raje povezujejo z drugimi makromolekulami (Jansman, 1993). Tanini so sposobni tvoriti komplekse tudi z vitaminom A, vitaminom B<sub>12</sub> in tiaminom (Jansman, 1993).

#### 2.4 DELOVANJE TANINOV

Reed (1995) navaja, da je protimikrobno delovanje taninov že dolgo poznano, vendar kljub mnogim raziskavam mehanizmi delovanja še vedno niso v celoti raziskani. Med mnogimi razlagami, ki se pojavljajo v literaturi, je glavni cilj delovanja taninov celična stena mikroorganizmov. Posledično se lahko zaradi povezovanja taninov in sestavnih delov celične stene spremeni prepustnost membrane. Sprememba prepustnosti membrane lahko vpliva na prenos hranil v celico, posledično na rast, neposredno pa tudi na hranilno vrednost krme (Mangan, 1988). Poleg tega se zaradi prerazporeditve membrane lahko prekine tudi prenos elektrolitov in reakcij, ki so s tem povezane (Reed, 1995). Pri prežvekovalcih, navajata Mangan (1988) in Reed (1995), se na ta način zmanjša razgradljivost kompleksnih hranljivih snovi v predželodcih, ki tako postanejo bolj dostopne encimskemu razkroju v spodnjih delih prebavnega trakta. Posledično se s tem izboljša preskrbljenost živali s hranljivimi snovmi, kot so beljakovine in druge, kar je še posebej pomembno za visoko produktivne živali. Mangan (1988) navaja, da v obrokih neprežvekovalcev tanini na splošno niso zaželeni, saj je lahko prireja manjša, ker so hranljive snovi slabše dostopne.

Jansman in Longstaff (1993) navajata, da je pri perutnini in prašičih zaradi vezave taninov z beljakovinami zmanjšana prebavljivost beljakovin, aminokislin in drugih snovi. Negativne učinke na rast in izkoriščanje hranljivih snovi pri neprežvekovalcih, kot so miši, perutnina in prašiči, navaja tudi Jansman (1993). Zaradi tega so tanini pri neprežvekovalcih v veliki večini nezaželeni, kljub vsemu pa v vseh koncentracijah nimajo le negativnih (antinutritivnih) učinkov, saj so lahko vplivi na zdravje živali in njihovo oskrbo s hranili tudi pozitivni (Mangan, 1988; Jansman, 1993). Ugodna vpliva taninsko-beljakovinskih

kompleksov sta zmanjševanje nevarnosti napenjanja pri ovcah in zaščita beljakovin pred mikrobnou razgradnjo (Zelter in sod., 1970, cit. po Manganu, 1988). Singleton (1981, cit. po Jansman, 1993) navaja, da imajo tanini v primernih koncentracijah antibiotičen učinek na floro v prebavnem traktu, generalni učinek taninov pa je redukcija rasti mikroorganizmov.

Poznano je tudi, da je delovanje taninov astringentno, kar pomeni, da na površini sluznice tvorijo tanek sloj netopnih denaturiranih beljakovin. Takšno delovanje poveča izsušenost sluznice in daje krmi trpek okus, s tem pa posledično vpliva na zmanjšano zauživanje krme pri živalih (Jansman, 1993).

Poudariti je treba, navaja Jansman (1993), da so učinki, ki jih tanini lahko povzročijo, odvisni od vrste taninov in njihove količine, kot tudi od vrste in kategorije živali. Razgradni produkti hidrolizirajočih taninov se absorbirajo v kri, v nasprotju s kondenziranimi, ki se v krvni obtok ne absorbirajo, zaradi tega so hidrolizirajoči tanini bolj toksični od kondenziranih. Omenjeno delovanje lahko povzroči odmiranje ali odpoved notranjih organov oziroma vodi do zastrupitve organizma, če je vsebnost taninov, predvsem hidrolizirajočih, v obroku v prekomernih koncentracijah in če je doziranje dolgotrajno (Jansman, 1993). Betelovi orehi (*Areca catechu* L.) in zeliščni čaji, na primer, predstavljajo vir hrane, ki je bogata s tanini, njihovo prekomerno zauživanje pa je povezano z nastankom raka na požiralniku (Chung in sod., 1998b). Kljub vsemu še ni znano, ali je kancerogenost odvisna samo od taninov ali tudi od drugih molekul oziroma faktorjev, ki se z njimi povezujejo. Po Chung in sod. (1998b) se na celične makromolekule vežejo prosti kisikovi radikali, katerih nastanek sprožijo snovi, ki imajo kancerogeno in/ali mutageno aktivnost. Tanini vsebujejo določene sestavine, ki zmanjšajo mutageno/kancerogeno aktivnost različnih snovi, saj zmanjšujejo nastajanje prostih radikalov. Antioksidativnost taninov, ki je pomembna pri zaščiti celic pred oksidacijo in lipidno peroksidacijo, je hkrati povezana z antikancerogeno in antimutageno aktivnostjo taninov. Chung in sod. (1998b) še navajajo, da mnoge sestavine taninov, kot tudi polifenoli pravega čajevca, delujejo antikancerogeno. Bakteriostatična aktivnost taninov ni omejena le na vampne bakterije, temveč tudi na nekatere patogene vrste (Chung in sod., 1998b).

Znan je negativen vpliv taninov na absorpcijo vitamina A, zmanjšajo pa tudi izkoristljivost vitamina B<sub>12</sub> (Chung in sod., 1998a, b). Poleg vseh omenjenih lastnosti avtorji navajajo še fiziološke učinke, kot so: zmanjševanje serumskih lipidov in krvnega pritiska, preprečevanje nekroze jeter in strjevanja krvi ter povečanje odpornosti organizma.

## 2.5 VPLIV EKSTRAKTOV TANINOV LESA PRAVEGA KOSTANJA IN KEBRAČA

Vpliv taninov v prehrani perutnine je slabo raziskan, predvsem vpliv dodatkov ekstraktov lesa pravega kostanja in kebrača. V nadaljevanju (preglednica 1) so povzeti rezultati raziskav, s katerimi so avtorji preučevali vpliv taninskih ekstraktov lesa pravega kostanja in kebrača na perutnino (pitovne piščance, fazane, race) in nekatere druge živalske vrste (jagnjeta, podgane in krape) (Becker in Makkar, 1999; Dawson in sod., 1999; Marzoni in sod., 2005a, b; Schiavone in sod., 2008).

Preglednica 1: Povzetek raziskav vpliva ekstraktov lesa pravega kostanja in kebrača pri različnih živalih; povzeto po Becker in Makkar, 1999; Dawson in sod., 1999; Marzoni in sod., 2005a, b; Schiavone in sod., 2008

Dodatek	Vrsta in kategorija; Čas dodajanja	Konc. dodatka, %	Vpliv			Avtor
			DP, g/dan	Konz., g/dan	SS-eks, %	
Ekstrakt lesa pravega kostanja	pitovni piščanci (♂); od 14. do 56. dne	0,00	64,22	128,91	50,57	Schiavone in sod., 2008
		0,15	65,58	134,92*	52,53	
		0,20	68,28*	132,28*	49,57	
		0,25	62,40	128,96	45,23	
			DP, g/dan	Konz., g/dan	SS-eks, %	
Ekstrakt lesa kebrača	rastoči fazani (♀); od 65. do 120. dne	0	7,61	50,06	35,43	Marzoni in sod., 2005a
		2	7,55	53,54	39,34	
			DP, g/dan	Konz., g/dan	SS-eks, %	
Ekstrakt lesa kebrača	race (♂); od 42. do 84. dne	0,0	49,5	242	45,3	Marzoni in sod., 2005b
		1,5	50,3	232	47,4	
		2,5	49,8	263 <sup>×</sup>	49,0	
			DP, g/dan	Konz., g/dan	Izkor. N, %	
Ekstrakt lesa kebrača	jagnjeta zač. m. 27,3 kg	0,00	100	–	71,28	Dawson in sod., 1999
		0,05	100	–	64,18 <sup>×</sup>	
			DP, g/dan	Konz., g/dan	Izkor. N, %	
Ekstrakt lesa kebrača	podgane (♂); zač. m. 63,7 g	0,00	5,34	21,76	71,87	Dawson in sod., 1999
		0,04	4,86 <sup>×</sup>	20,51	63,77 <sup>×</sup>	
			Končna masa, g	Poraba O <sub>2</sub> , mg/kg/h		
Ekstrakt lesa kebrača	krapi; zač. m. 5,0 g	0	143,2		264,2	Becker in Makkar, 1999
		2	149,9		269,4	

V preglednici so podane povprečne vrednosti skupin na koncu poskusov.

zač. m. – začetna masa; Konc. dodatka – koncentracija dodatka; DP – dnevni prirast; Konz. – konzumacija krme; SS-eks – suha snov v ekskrementih; Izkor. N – izkoristljivost dušika;

\*Prikazuje odstopanje skupine od kontrolne (P < 0,05).

× Prikazuje odstopanje skupine od kontrolne (P < 0,01).

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 MATERIALI

V poskusnem prostoru na Rodici smo opravili bilančni poskus s pitovnimi piščanci provenience ROSS 308. Poskus smo izvedli v dveh ponovitvah s po 24 živalmi, skupaj 48 živali. Starost živali na začetku poskusa je bila 23 oziroma 25 dni. V prvem delu poskusa je bila začetna povprečna telesna masa 1336 g, v drugem delu pa 1186 g. Vse živali v obeh ponovitvah so bile individualno uhlevljene v bilančne kletke, ki omogočajo kvantitativno zbiranje izločkov.

Poskus smo razdelili na 5-dnevno obdobje prilagajanja in 5-dnevno poskusno obdobje. Živali so bile krmljene po volji. V obdobju prilagajanja smo živali krmili s KONT krmo (krma brez dodatka tanina), v poskusnem obdobju pa vsako skupino z ustrezno krmo. Vodo so imele živali ves čas na voljo. Vsakodnevno smo spremljali količino zaužite krme oz. merili eventualne ostanke. Dan pred začetkom poskusa živali niso dobile krme, prav tako so bile brez krme zadnji dan poskusnega obdobja. S tem smo zagotovili, da so bila na začetku poskusa prebavila prazna in da so se na koncu poskusa spraznila. Krma, ki so jo živali zauživale, je zagotavljala 75 % pokritja potreb po beljakovinah ter Ca in P glede na standardno krmo za pitovne piščance.

Na začetku in na koncu poskusa smo živali stehtali. V času bilančnega obdobja smo vsak dan ločeno zbirali izločke, jih stehtali in dnevno zamrznili.

Živali so bile v poskusnem obdobju krmljene po skupinah. Prva skupina je bila kontrolna in ni vsebovala nobenega dodatka. Preostale skupine so bile razdeljene po koncentracijah dodatka tanina v krmi, tj. dodatka pravega kostanja ali kebračo tanina:

- KONT – brez dodatka tanina.
- PK 0,07 – 0,07 % ekstrakt lesa pravega kostanja.
- PK 0,20 – 0,20 % ekstrakt lesa pravega kostanja.
- KE 0,07 – 0,07 % ekstrakt lesa kebrača.
- KE 0,20 – 0,20 % ekstrakt lesa kebrača.



Preglednica 2: Sestava in izračunana ocenjena vsebnost energije in hranil v krmnih mešanica

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20
Koruza, %	50,00	49,93	49,80	49,93	49,80
Pšenica, %	29,10	29,10	29,10	29,10	29,10
Sojine tropine, %	14,50	14,50	14,50	14,50	14,50
Sončnično olje, %	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Sol, %	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Apnenec, %	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
Monokalcijev fosfat, %	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
L-lizin, 78,8 %, %	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
DL-metionin, 98 %, %	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Treonin, 98 %, %	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Premiks-Bro, (brez kokcidostatika), %	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Ekstrakt lesa pravega kostanja, %	-	0,07	0,20	-	-
Ekstrakt lesa kebrača, %	-	-	-	0,07	0,20
ME, MJ ME/kg	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2
SB, g/kg	140,0	140,0	140,0	140,0	140,0
Preb. lizin, g/kg	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2
Preb. metionin, g/kg	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4
Preb. metionin in cistein, g/kg	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
Preb. treonin, g/kg	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9
Preb. triptofan, g/kg	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Ca, g/kg	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3
P-izkoristljivi, g/kg	3,1	3,1	3,1	3,1	3,1
Na, g/kg	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6

KONT – kontrolna skupina; PK – ekstrakt lesa pravega kostanja; KE – ekstrakt lesa kebrača

Ekstrakt lesa pravega kostanja je vseboval 75 % taninov (preparat Farmatan 75, Tanin Sevnica), ekstrakt lesa kebrača pa 72,5 % taninov (Južna Afrika).

Za krmno mešanico je bil normativ povzet po priporočilih ROSS. Da bi bil vpliv dodatkov na izkoristljivost in bilanco merljiv, je bila vsebnost preučevanih hranil manjša za 25 % od priporočil. Krmno smo analizirali po weendski analizi v laboratoriju Katedre za prehrano na Oddelku za zootehniko Biotehniške fakultete. V omenjenem laboratoriju smo opravili tudi

vse ostale analize.

Preglednica 3: Rezultati kemijske analize krmnih mešanic (g/kg)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20
Suha snov	885,73	887,94	889,93	891,77	894,41
Surove beljakovine	138,92	140,48	141,83	143,43	145,31
Surove maščobe	53,72	53,93	54,31	54,56	54,62
Surova vlaknina	29,65	30,03	30,54	30,91	31,49
Surovi pepel	39,12	39,13	38,90	38,70	38,95
Brezdušični izvleček	624,32	624,36	624,35	624,17	624,04
Dušik	22,23	22,48	22,69	22,95	23,25
Fosfor	5,44	5,49	5,50	5,60	5,68
Kalcij	6,68	6,67	6,56	6,72	6,73

V preglednici so povprečne vrednosti krmnih mešanic.

KONT – kontrolna skupina; PK – ekstrakt lesa pravega kostanja; KE – ekstrakt lesa kebrača

## 3.2 METODE

Na koncu poskusa, po petih dneh zbiranja izločkov, smo ekskreme vsake živali stehali in odtajali. Nato smo s pomočjo ročnega paličnega mešalnika izločke homogenizirali in odvzeli vzorce za nadaljnje kemijske analize.

### 3.2.1 Groba suha snov

Za določitev grobe suhe snovi (GSS) smo vzorce sušili z liofiliziranjem. Po koncu sušenja v liofilizatorju smo dobili zračno suhe vzorce, ki smo jih zmleli v prah za uporabo v kasnejših kemijskih analizah.

### 3.2.2 Suha snov, surov pepel in organska snov

V vzorcih smo z nadaljnjim sušenjem, 3 ure pri 103 °C, po weendski analizi določili količino SS (Methodenbuch 1, 1993). Poleg SS smo določili tudi SP, in sicer z žarjenjem vzorca v žarilni peči (Methodenbuch 2, 1993). Iz SP smo naredili solnokislinske izvlečke, ki so potrebni za določanje P in Ca v krmilih in drugih vzorcih. Vsebnost OS smo izračunali, in sicer smo od vsebnosti SS odšteli vsebnost SP.

### 3.2.3 Fosfor

Za določitev P smo izvlečke razredčili v razmerju 0,6 : 10 in nato s spektrofotometrično metodo določili vsebnost P v vzorcih. Ta metoda temelji na merjenju absorbance obarvane spojine, ki nastane med P in reagentom, absorbanco nastale spojine pa merimo pri 430 nm (Methodenbuch 3, 1993).

### 3.2.4 Kalcij

Vsebnost Ca v naših vzorcih izločkov in krme smo določili z metodo plamenske atomske absorpcijske spektroskopije, za kar smo potrebovali solnokislinske izvlečke, razredčene v razmerju 0,1 : 10. V tej razredčeni raztopini vzorca smo določili vsebnost Ca z merjenjem absorpcije monokromatske svetlobe pri razprševanju vzorca v plamen acetilen-zrak pri 422,7 nm (Österreichisches Methodenbuch, 1983).

### 3.2.5 Dušik

V vzorcih krme in izločkov nas je zanimala tudi vsebnost dušika (N). Analize za določitev N v vzorcih smo opravili z metodo po Kjeldahlu, ki jo sestavljajo trije osnovni koraki. Prvi korak je razklop vzorca v žveplovi (VI) kislini ob prisotnosti katalizatorja, pri čemer se organsko vezan N pretvori v amoniak. Sledi destiliranje amoniaka v primerno raztopino in nato določitev množine predestiliranega amoniaka s titracijo. Pri preračunih za vsebnost SB smo predpostavili, da vsebujejo beljakovine 16 % N.

### 3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket SAS/STAT. Osnovne statistične parametre smo izračunali s proceduro MEANS, s proceduro UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve. Pri obdelavi podatkov s statističnim modelom smo uporabili proceduro GLM (General Linear Model). Razlike med skupinami smo iz vrednotili s pomočjo linearnih kontrastov in Tukeyevega testa.

Podatke smo obdelali po statističnih modelih:

- začetna telesna masa:

$$y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + e_{ijk}$$

$S_i$  = vpliv  $i$ -te skupine;  $i = 1, 2, 3, 4, 5$

$P_j$  = vpliv  $j$ -tega poskusa;  $j = 1, 2$

$e_{ijk}$  = ostanek

- končna telesna masa, prirast, konverzija, vsebnost suhe snovi izločkov in bilance:

$$y_{ijk} = \mu + S_i + P_j + b \times (x_{ijk} - \bar{x}) + e_{ijk}$$

$S_i$  = vpliv  $i$ -te skupine;  $i = 1, 2, 3, 4, 5$

$P_j$  = vpliv  $j$ -tega poskusa;  $j = 1, 2$

$b$  = linearni regresijski koeficient za začetno telesno maso

$x$  = začetna telesna masa

$e_{ijk}$  = ostanek

## 4 REZULTATI

Naš poskus je bil izveden v dveh ponovitvah in je potekal brez posebnosti. Vse živali so bile med poskusom zdrave in ni bilo opaziti nobenih težav. Prav tako ni bilo opaziti nobenih posebnosti pri krmljenju in oskrbi z vodo. Pogoji v času trajanja poskusa so bili ves čas enaki. Povprečna temperatura v prostoru, kjer so bile naseljene živali v bilančnih kletkah, je bila 24 °C, vlažnost zraka pa 62 %.

Pri obdelavi in prikazu podatkov smo upoštevali skupne rezultate raziskave 1. in 2. ponovitve, ki so predstavljeni v preglednicah od 4 do 11. Med skupinami nismo ugotovili nobenih statistično značilnih razlik.

Preglednica 4: Skupni proizvodni rezultati v času trajanja poskusa; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Število živali	10	10	10	9	9		
Začetna telesna masa, g	1307	1217	1240	1268	1276	26,7	0,154
% od KONT	100	93	95	97	98		
Končna telesna masa, g	1592	1589	1594	1571	1575	10,7	0,414
% od KONT	100	100	100	99	99		
Zauživanje krme, g/dan	189	188	192	183	182	4,14	0,352
% od KONT	100	99	102	97	96		
Dnevni prirast, g/dan	82,7	82,1	83,4	77,5	78,4	2,67	0,414
% od KONT	100	99	101	94	95		
Konverzija, g/kg	2296	2294	2328	2372	2325	49,1	0,793
% od KONT	100	100	101	103	101		

V tabeli so rezultati skupin podani z vrednostjo LSMEAN.

KONT – kontrolna skupina; PK – ekstrakt lesa pravega kostanja; KE – ekstrakt lesa kebrača; SEM – standardna napaka; statistično značilna razlika ( $P < 0,05$ )

Rezultati naše raziskave (preglednica 4), ki smo jo opravili na pitovnih piščancih, ne kažejo nobenih statistično značilnih vplivov ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača na proizvodne lastnosti. Začetna telesna masa živali je bila v kontrolni skupini 1307 g, kar je malenkost več kot v drugih skupinah. Med poskusom so živali priraščale v skladu s pričakovanji in na koncu poskusa nismo ugotovili nobenih razlik. Končne telesne mase živali so bile od 1571 do 1594 g. Zauživanje krme je bilo v skupinah, ki sta zauživali

kebračo tanin, za 3 oz. 4 % slabše v primerjavi s kontrolno skupino, medtem ko med skupinama, ki sta zauživali dodatek ekstrakta lesa pravega kostanja, in kontrolno skupino ni bilo razlik. Tudi dnevni prirast je bil v skupinah, ki sta zauživali kebračo, za nekaj odstotkov slabši kot pri živalih, ki so bile krmljene s kontrolno krmo.

Nobenih statističnih razlik ni bilo opaziti tudi pri analizah SS izločkov (preglednica 5). Skupinama z dodatkom ekstrakta lesa pravega kostanja se je povečala vsebnost SS v izločkih za 12 oz. 10 % vendar ta razlika ni bila statistično značilna. Pri dodatku ekstrakta kebrača se je vsebnost SS v izločkih prav tako povečala, vendar je bil ta vpliv manjši (6 oz. 3 %).

Preglednica 5: Rezultati analize izločkov v času trajanja bilance; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Masa izločkov, g	920	841	902	848	856	54,4	0,788
% od KONT	100	91	98	92	93		
SS izločkov, g/kg	198	221	217	210	205	10,5	0,597
% od KONT	100	112	109	106	103		

Za obrazložitev okrajšav in razlago glej pod preglednico 4.

V preglednicah v nadaljevanju (preglednice od 6 do 11) so predstavljeni rezultati bilanc proučevanih hranil SS, OS, SP, N, P in Ca. Po koncu izvedenih analiz in statistični obdelavi podatkov nam dobljeni rezultati ne kažejo nobenega statistično značilnega vpliva na izkoriščanje beljakovin in preostalih analiziranih hranil.

Preglednica 6: Rezultati analize suhe snovi (SS) v času trajanja bilance; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Zaužita SS, g	673	670	686	652	647	14,8	0,332
% od KONT	100	100	102	97	96		
Izločena SS, g	183	183	187	172	174	7,77	0,602
% od KONT	100	100	102	94	95		
Bilanca SS, g/dan	122	122	125	120	118	2,74	0,520
% od KONT	100	99	102	98	97		
Izkoristljivost SS, %	73,0	72,7	72,7	73,6	73,1	0,821	0,929
% od KONT	100	100	99	101	100		

Za obrazložitev okrajšav in razlago glej pod preglednico 4.

Preglednica 7: Rezultati analize organske snovi (OS) v času trajanja bilance; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Zaužita OS, g	644	639	655	623	619	14,1	0,354
% od KONT	100	99	102	97	96		
Izločena OS, g	162	161	166	151	153	7,23	0,590
% od KONT	100	100	102	94	95		
Bilanca OS, g/dan	121	119	122	118	116	2,72	0,584
% od KONT	100	99	101	98	97		
Izkoristljivost OS, %	75,2	74,8	74,7	75,7	75,3	0,828	0,909
% od KONT	100	100	99	101	100		

Za obrazložitev okrajšav in razlago glej pod preglednico 4.

Pri analizi bilance SS in OS tako kot pri predhodnih rezultatih ni bilo nobenih statistično značilnih razlik med skupinami. Rezultati sicer kažejo manjša odstopanja pri obeh skupinah z dodatkom kebrača, predvsem pri količini izločene SS in OS, vendar, kot smo že omenili, razlike med skupinami niso bile statistično značilne. Skupini s kebračem sta zaužili za 3 oz. 4 % manj SS in OS, prav tako sta ju manj tudi izločili (6 oz. 5 %).

Preglednica 8: Rezultati analize surovega pepela (SP) v času trajanja bilance; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Zaužit SP, g	29,1	29,4	30,4	29,1	28,5	0,702	0,435
% od KONT	100	101	104	100	98		
Izločen SP, g	21,3	22,1	21,5	20,9	20,8	0,747	0,742
% od KONT	100	104	101	98	98		
Bilanca SP, g/dan	1,96	1,83	2,22	2,05	1,93	0,107	0,102
% od KONT	100	93	113	105	98		
Izkoristljivost SP, %	26,8	24,6	29,4	28,4	26,8	1,47	0,191
% od KONT	100	92	110	106	100		

Za obrazložitev okrajšav in razlago glej pod preglednico 4.

Glede na rezultate analiz SP so živali iz skupine PK 0,07 najslabše izkoriščale SP, in sicer za 8 % manj kot živali iz kontrolne skupine. Boljšo bilanco in izkoriščanje SP sta imeli skupini z višjo koncentracijo ekstrakta lesa pravega kostanja in nižjo koncentracijo ekstrakta lesa kebrača. Pri slednji je bilo odstopanje 5 oz. 6 %, pri pravem kostanju pa 13 oz. 10 %. Kljub vsemu se skupine niso statistično značilno razlikovale.

Preglednica 9: Rezultati analize dušika (N) v času trajanja bilance; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Zaužit N, g	17,1	17,1	17,6	16,7	16,6	0,387	0,396
% od KONT	100	100	103	98	97		
Izločen N, g	7,29	7,49	7,51	7,14	7,27	0,222	0,747
% od KONT	100	103	103	98	100		
Bilanca N, g/dan	2,45	2,39	2,52	2,40	2,32	0,062	0,236
% od KONT	100	98	103	98	95		
Izkoristljivost N, %	57,5	56,2	57,3	57,4	56,2	0,783	0,561
% od KONT	100	98	100	100	98		

Za obrazložitev okrajšav in razlago glej pod preglednico 4.

Rezultati bilance dušika niso pokazali statistično značilnega odstopanja med skupinami. Bilanca N je bila v skupini z višjo koncentracijo kebrača 5 % slabša v primerjavi s kontrolno skupino. Stopnja izkoristljivosti N je imela pri skupini PK 0,07 in KE 0,20 minimalna odstopanja.

Preglednica 10: Rezultati analize fosforja (P) v času trajanja bilance; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Zaužit P, g	4,23	4,27	4,17	4,07	4,04	0,089	0,292
% od KONT	100	101	99	96	95		
Izločen P, g	2,80	2,89	2,75	2,70	2,68	0,088	0,466
% od KONT	100	103	98	96	96		
Bilanca P, g/dan	0,359	0,345	0,355	0,343	0,340	0,013	0,817
% od KONT	100	96	99	96	95		
Izkoristljivost P, %	33,8	32,3	33,9	33,7	33,7	1,27	0,882
% od KONT	100	96	100	100	100		

Za obrazložitev okrajšav in razlago glej pod preglednico 4.

Živali, krmljene z dodatkom kebrača, so zaužile 4 oziroma 5 % manj P, prav tako so ga manj izločile (4 %). Posledično je pri obeh skupinah za 4 oziroma 5 % slabša tudi bilanca P. Za 4 % je bilo slabše izkoriščanje P pri skupini PK 0,07 v primerjavi s kontrolno skupino.



Preglednica 11: Rezultati analize kalcija (Ca) v času trajanja bilance; (KONT = 100 %)

	KONT	PK 0,07	PK 0,20	KE 0,07	KE 0,20	SEM	P
Zaužit Ca, g	5,05	5,14	4,81	5,11	4,94	0,113	0,207
% od KONT	100	102	95	101	98		
Izločen Ca, g	3,56	3,67	3,31	3,34	3,30	0,167	0,392
% od KONT	100	103	93	94	93		
Bilanca Ca, g/dan	0,373	0,367	0,374	0,443	0,410	0,034	0,455
% od KONT	100	98	100	119	110		
Izkoristljivost Ca, %	29,3	28,5	31,2	34,5	33,4	2,72	0,477
% od KONT	100	97	106	118	114		

Za obrazložitev okrajšav in razlago glej pod preglednico 4.

Najslabšo bilanco Ca je imela skupina z manjšo vsebnostjo ekstrakta lesa pravega kostanja. Večje odstopanje od kontrolne skupine oziroma boljšo bilanco sta imeli obe skupini z dodatkom kebrača, in sicer za 19 oz. 10 %. Pri skupini PK 0,07 je bila najslabša tudi izkoristljivost omenjenega minerala, preostale tri skupine pa so pozitivno odstopale od kontrolne. Skupina PK 0,20 je imela za 6 % boljšo izkoristljivost, skupini kebrača pa za 18 oz. 14 %. Razlike med skupinami kljub odstopanju niso bile statistično značilne.

Na podlagi dobljenih rezultatov je razvidno, da tako ekstrakt lesa pravega kostanja kot tudi kebrača v koncentracijah 0,07 in 0,20 % ne povzroča nobenega neugodnega vpliva na izkoriščanje beljakovin in preostalih analiziranih hranil.

## 5 RAZPRAVA

S prebavljivostnim poskusom na pitovnih piščancih smo želeli ugotoviti, ali dodatka različnih koncentracij (0,07 in 0,20 %) ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača vplivata na učinkovitost izkoriščanja SS, OS, SP, beljakovin in rudninskih snovi, kot sta Ca in P. Poglavitni namen je bil ugotoviti vpliv dodanih ekstraktov na bilanco in izkoristljivost hranil, vpliv na konzumacijo in dnevni prirast. Zanimalo nas je predvsem, ali med vrstama taninov obstaja razlika v vplivu na izkoriščanje beljakovin iz krme in vsebnosti SS v izločkih.

Tanini so v prehrani živali na eni strani poznani kot antinutritivne snovi, ki zaradi tvorbe kompleksov, predvsem z beljakovinami in ogljikovimi hidrati, slabšajo prebavljivost beljakovin in aminokislin ter tudi drugih hranil. Na drugi strani pa lahko beljakovinsko-taninski kompleksi pozitivno vplivajo na oskrbo s hranili in zdravje živali.

Tanine delimo v skupine glede na vsebnost sladkorjev, stopnjo polimerizacije in esterifikacije in tako v grobem ločimo kondenzirane, hidrolizirajoče in kompleksne tanine (Aguilera-Carbo in sod., 2008). Tanini lesa pravega kostanja vsebujejo predvsem hidrolizirajoče tanine, tanini lesa kebrača pa kondenzirane. Kondenzirani tanini so sestavljeni iz večjih in bolj kompleksnih molekul in v bioloških sistemih ne hidrolizirajo, prav tako pa se ne absorbirajo v krvni obtok (Becker in Makkar, 1999). V primerjavi z hidrolizirajočimi tanini kondenzirani tanini z beljakovinami tvorijo stabilnejše komplekse. Zaradi strukturne raznolikosti taninov so raziskave o njihovih prehranskih učinkih zelo zapletene, ta težava pa je pripeljala do precejšnje zmede v literaturi pri določanju njihovih koristnih ali škodljivih učinkov (Mueller-Harvey, 2006).

V zadnjih letih se vse bolj proučuje pozitivne lastnosti in različne načine uporabe različnih rastlinskih ekstraktov, bogatih s tanini, v prehrani živali. Pri tem je treba opazovati tudi možne negativne učinke. Ker se tanini vežejo na črevesno sluznico, imajo lahko učinek tudi na absorpcijo hranil, morda tudi rudninskih snovi. To je poznano predvsem za tanine, ki jih vsebujejo nekatera krmila, kakšen vpliv imajo v krmo dodani čisti tanini ali naravni rastlinski ekstrakti, bogati s tanini, pa je slabo raziskano.

V literaturi lahko najdemo kar nekaj raziskav s področja prehrane perutnine in dodatkov rastlin (predvsem žit), ki vsebujejo tanine, med njimi je najbolj pogosto omenjen sirek (King in sod., 2000; Hassan in sod., 2003; Garcia in sod., 2004). Naši podatki s temi raziskavami niso popolnoma primerljivi, saj so na beljakovine, ki jih vsebuje sirek, vezane tudi druge snovi, ne samo tanini, ki lahko spremenijo absorpcijo hranil iz krme in tako vplivajo na rezultate. Uporaba čistih taninov in s tanini bogatih rastlinskih ekstraktov v prehrani perutnine še ni dobro raziskana, našli smo le tri raziskave (Marzoni in sod., 2005a; Marzoni in sod., 2005b; Schiavone in sod., 2008).

V naši raziskavi so rezultati pokazali, da tako ekstrakt lesa pravega kostanja kot tudi kebrača ni imel nobenega značilnega vpliva na proizvodne lastnosti, na konzumacijo krme in na dnevne priraste živali. V nasprotju z našimi raziskavami so Schiavone in sod. (2008) v raziskavi ugotovili statistično značilen vpliv dodatka ekstrakta lesa pravega kostanja. Poskus so opravili na pitovnih piščancih moškega spola, ki so jih razdelili v 4 skupine z različnimi koncentracijami (0 %, 0,15 %, 0,20 % in 0,25 %) dodatka ekstrakta lesa pravega kostanja. Skupina z 0,20 % dodatka je imela značilno večji povprečni dnevni prirast v primerjavi s kontrolno skupino. Dnevno zauživanje krme je bilo v primerjavi s kontrolno skupino večje pri živalih, ki so zauživale krmo z 0,15 in 0,20 % dodatka. Podobno so pri rastočih racah moškega spola (*Cairina moschata*) Marzoni in sod. (2005b) ugotovili značilen vpliv dodatka kebrača na dnevno zauživanje krme. Več krme so zaužile živali, ki so bile krmljene s dodatkom kebrača v koncentraciji 2,5 %. Dnevni prirasti so pri vseh skupinah med poskusom zelo variirali. Pri podganah je dodatek ekstrakta kebrača, v koncentraciji 0,04 %, imel značilen vpliv na dnevni prirast (Dawson in sod., 1999).

Pri reji perutnine ima velik pomen tudi vsebnost suhe snovi v blatu oz. izločkih. Večja vsebnost suhe snovi v izločkih pri perutnini izboljša kakovost nastila in s tem posledično celotno higieno v hlevu, prav tako ima lahko vpliv na splošno zdravstveno stanje in počutje živali. Manjša vsebnost vode v izločkih lahko zaradi boljše higiene izboljša tudi kakovost klavnih trupov in zdravstveno stanje živali. Zaradi tega nas je zanimal vpliv obeh dodatkov na delež suhe snovi v izločkih. Naši rezultati kažejo povečano vsebnost SS v izločkih, pri dodatku ekstrakta lesa pravega kostanja za 12 oz. 9 %, pri ekstraktu kebrača pa je vpliv nekoliko manjši (6 oz. 3 %), vendar ti učinki niso statistično značilni. Tudi Schiavone in

sod. (2008) so opazili neznačilen vpliv ekstrakta lesa pravega kostanja na SS v izločkih. Vendar je bila, za razliko od naših raziskav, vsebnost SS v skupinah z dodatki manjša, kar avtorji pripisujejo astringentnemu delovanju taninov. Marzoni in sod. (2005b) so analizirali tudi vpliv ekstrakta kebrača na vsebnost SS v izločkih rac, v katerih je bila vsebnost SS malenkost (od 2 do 4 %) večja od kontrolne skupine, vendar razlike niso bile značilne. Isti avtorji so analize opravili tudi na fazanih v fazi rasti. Dodatek kebrača je povečal vsebnost suhe snovi v izločkih za 4 %, vendar vpliv tako kot pri nas ni bil statistično značilen (Marzoni in sod., 2005a).

Naš namen je bil ugotoviti, ali izbrana dodatka različno vplivata na bilanco in izkoristljivost dušika oziroma surovih beljakovin pri pitovnih piščancih. Vsebnost surovih beljakovin oziroma N v krmi je bila v skupinah z dodatkom kebrača malce večja, in sicer za 3 oz. 5 %. Kljub temu vsebnost N v krmi ni spremenila vpliva dodatkov v našem poskusu na prebavljivost beljakovin. Res je, da so živali, ki so bile krmljene z dodatkom kebrača, zaužile nekoliko manj krme, vendar pa je le ta vsebovala malenkost več N, tako da pri izkoristljivosti N med skupinami ni bilo nobenih statističnih razlik. Shiovone in sod. (2008) v svojih raziskavah niso ugotovili nobenega vpliva dodatka kostanjevega tanina na izkoristljivost surovih beljakovin. Prav tako dodatek ni imel značilnega vpliva na bilanco N pri piščancih v primerjavi s kontrolno skupino. Avtorji so ugotovili le značilno manjšo vsebnost skupnega N pri skupini z 0,15 in 0,20 % ekstrakta lesa pravega kostanja. Dawson in sod. (1999) so pri poskusu na ovcah, krmljenih z dodatkom kebrača v koncentraciji 0,05 %, ugotovili statistično značilne razlike v navidezni prebavljivosti N. Enake rezultate so dobili pri podganah, krmljenih z enakim dodatkom v koncentraciji 0,04 %. Nobenih razlik med skupinami, ne pri prebavljivosti N ne pri dnevnem prirastu ali porabi kisika, nista opazila Becker in Makkar (1999) pri krapih (*Cyprinus carpio* L.), krmljenih z dodatkom kebrača v koncentraciji 2 %. Ista avtorja sta izvedla poskus tudi s taninsko kislino, ki pa so ga zaradi zavračanja krme in značilnega vpliva kisline na rast prekinili.

Poznano je, da se tanini vežejo na črevesno sluznico in imajo lahko zato negativne učinke na absorpcijo hranil, morda tudi rudninskih snovi. Na prebavljivost P in Ca tako kot pri preostalih rezultatih dodana izvlečka nista imela značilnega vpliva. Izkoristljivost P je bila v našem poskusu, razen pri skupini PK 0,07, povsod 100-odstotna. Pri skupini PK 0,07 je

bilo izkoriščanje P za 4 % slabše. Kljub odstopanju pri analizah Ca, in sicer od 7 do 19 %, vpliv taninskih ekstraktov ni bil statistično značilen. Omeniti moramo odstopanja pri obeh skupinah KE, bilanca Ca je bila boljša za 19 oz. 10 %, izkoristljivost Ca pa višja za 18 oz. 14 %. Odstopanja so bila tudi pri skupinah PK. Izkoristljivost Ca je bila slabša pri skupini PK 0,07 (3 %), bolje pa ga je izkoristila skupina PK 0,20 (6 %). Razlog za razlike med skupinami bi lahko bila vsebnost rudninskih snovi v samem ekstraktu, vendar podrobne analize (vsebnost rudninskih snovi v ekstraktu kebrača) niso bile dostopne. Vemo le to, da je bila vsebnost Ca v krmni mešanici pri vseh skupinah skoraj enaka. Opravljenih analiz o vplivu taninskih dodatkov na prebavljivost oziroma absorpcijo rudninskih snovi pri perutnini nismo zasledili. Omenimo lahko le, da so Hassan in sod. (2003) ugotovili statistično značilen vpliv sirka z veliko vsebnostjo tanina (1,36 %). Absorpcija Ca, P in še nekaterih drugih rudninskih snovi je bila slabša v primerjavi s skupino, ki je bila krmljena s sirkom z manjšo vsebnostjo taninov (0,28 %). Zaradi sestave sirka in drugačnega delovanja taninov analiz ne moremo direktno primerjati z našim poskusom.

Naši rezultati zavračajo postavljeno hipotezo na začetku poskusa. Kakor smo ugotovili, noben dodatek ekstrakta nima značilnega vpliva na bilanco in izkoriščanje hranil, ki smo jih preučevali, prav tako pa kebračo nima drugačnega vpliva kot ekstrakt lesa pravega kostanja.

V prihodnje bi bilo smiselno učinek pravega kostanja in kebrača na izkoriščanje SS v izločkih in Ca preveriti na večjem številu živali in z drugačnimi koncentracijami ekstraktov v krmi. Prav tako bi se rezultati mogoče razlikovali od dobljenih, če bi vpliv dodatkov na bilanco proučevanih hranil opazovali v različnih starostnih obdobjih in dalj časa. S tem bi mogoče dobili jasnejši odgovor na vprašanje o povezavi med prisotnostjo taninov v prehrani perutnine in vsebnostjo suhe snovi v izločkih živali. Zanimivo bi bilo preveriti, ali imajo taninski dodatki vpliv na delovanje encimov, ki so dodani v krmo, saj encimi spadajo med beljakovine. Zaradi tega obstaja verjetnost, da se vežejo s tanini in s tem zmanjšajo njihovo učinkovitost. Pri prašičih je že bilo ugotovljeno (Salobir in sod., 1997), da kostanjev tanin ne vpliva na učinkovitost delovanja fitaze, v večjih koncentracijah le nekoliko zmanjša prebavljivost beljakovin.

## 6 SKLEPI

- Dodatka ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača v koncentracijah 0,07 % in 0,20 % nista pokazala nobenega statističnega značilnega vpliva na proizvodne lastnosti pitovnih piščancev oz. na dnevni prirast in konzumacijo krme.
- Dodatka ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača prav tako nista imela nobenega značilnega vpliva ne na količino suhe snovi v izločkih ne na bilanco in izkoristljivost proučevanih hranil: surovega pepela, organske snovi, dušika, kalcija in fosforja.
- Dodatka ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača sta povečala vsebnost suhe snovi v izločkih živali, vendar vpliv ni statistično značilen.
- Pomembno je tudi, da tako dodatek ekstrakta lesa pravega kostanja kot tudi kebrača pri uporabljenih koncentracijah ni vplival na izkoristljivost organske snovi, pepela, kalcija in fosforja.
- Dodajanje ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača v proučevanih koncentracijah ni imelo nobenega neugodnega vpliva na stopnjo izkoriščanja beljakovin in drugih proučevanih hranil, zato lahko rečemo, da ju lahko brez strahu uporabljamo za oskrbo živali s hranili oz. da pri njuni uporabi pri računanju sestave krmnih mešanic ni treba upoštevati varnostnih pribitkov.
- Opazen je trend povečanja vsebnosti suhe snovi v izločkih oz. blatu pitovnih piščancev zaradi dodajanja ekstrakta lesa pravega kostanja.
- Naši rezultati tako zavračajo postavljeno hipotezo, saj izvlečka nista vplivala na izkoristljivost proučevanih hranil, prav tako pa ekstrakt lesa kebrača ni imel večjega vpliva od ekstrakta lesa pravega kostanja.

## 7 POVZETEK

V prehrani živali so prehranski dodatki zelo pogosto uporabljajo. Vpliv taninskih dodatkov s potencialno ugodnimi učinki je še slabo raziskan.

V našem poskusu smo želeli ugotoviti, ali ekstrakta lesa pravega kostanja in kebrača pri pitovnih piščancih vplivata na izkoriščanje hranil, kot so suha snov, organska snov, surov pepel in minerala kalcij in fosfor. Prav tako nas je zanimalo, ali izvlečka različno vplivata na vsebnost suhe snovi v izločkih živali in na bilanco ter izkoriščanje dušika oziroma beljakovin. Tanini lesa pravega kostanja vsebujejo predvsem hidrolizirajoče tanine, tanini lesa kebrača pa kondenzirane. V primerjavi s hidrolizirajočimi tanini kondenzirani tanini tvorijo z beljakovinami stabilnejše komplekse.

V bilančni poskus smo vključili 48 pitovnih piščancev ROSS 308. Poskus smo opravili v dveh ponovitvah s po 24 živalmi, ki so bile razdeljene v pet skupin. Živali so bile na začetku poskusa stare 23 oziroma 25 dni in v prvem delu poskusa težke povprečno 1336 g, v drugem delu pa 1186 g.

V prilagoditvenem obdobju, ki je trajal 5 dni, smo vse živali krmili s kontrolno krmo (krma brez dodatka tanina). V 5-dnevnem poskusnem obdobju so bile živali krmljene po skupinah s po 9 ali 10 živalmi. Prva skupina je bila kontrolna (KONT) in ni imela dodatkov tanina. Druga (PK 0,07) in tretja (PK 0,20) skupina sta bili krmljeni z dodatkom ekstrakta lesa pravega kostanja v koncentracijah 0,07 in 0,20 %. Četrta (KE 0,07) in peta (KE 0,20) skupina pa z dodatkom ekstrakta lesa kebrača v enakih koncentracijah (0,07 in 0,20 %). Ekstrakt lesa pravega kostanja je vseboval 75 % taninov (preparat Farmatan 75, Tanin Sevnica), preparat tanina kebrača pa 72,5 % taninov (Južna Afrika). Vodo in krmo so imele živali ves čas na voljo. Količino zaužite krme smo spremljali dnevno, prav tako smo dnevno pobirali, tehtali in zmrzovali izločke. Živali smo stehali pred začetkom in na koncu poskusa.

Po končanem bilančnem poskusu smo v laboratoriju analizirali krmne mešanice in zbrane izločke. Krmo smo analizirali po weendski analizi. Izločke smo odtajali, jih homogenizirali in sušili v liofilizatorju, da smo določili vsebnost grobe suhe snovi. Z nadaljnjim sušenjem

(3 ure pri 105 °C) smo po weendski analizi določili vsebnost suhe snovi. Po žarjenju vzorca v žarilni peči smo dobili rezultate vsebnosti surovega pepela, po preračunavanju pa smo določili tudi vsebnost organske snovi. Iz surovega pepela smo pripravili solnokislinske izvlečke, ki smo jih potrebovali za nadaljnje analize določevanja vsebnosti kalcija in fosforja. Kalcij smo določili z metodo plamenske atomske absorpcijske spektroskopije, fosfor pa s spektrofotometrično metodo. Analize za določitev vsebnosti dušika v vzorcih smo opravili z metodo po Kjeldahlu, pri preračunavanju vsebnosti surovih beljakovin pa smo predpostavili, da vsebujejo beljakovine 16 % dušika.

Kljub razlikam med skupinami rezultati v nobenem primeru niso bili statistično značilni. Noben ekstrakt, ki smo ga uporabili v krmnih mešanicah, ni pokazal statistično značilnih razlik med skupinami. Dodatka nista imela značilnega vpliva na proizvodne lastnosti, za 3 oziroma 4 % sta odstopali skupini kebrača pri dnevni konzumaciji krme, prav tako sta imeli obe skupini manjši dnevni prirast (6 oz. 5 %), vendar je bila konverzija krme pri vseh skupinah z dodatkom v primerjavi s kontrolno 100 % in več. Ugotovili smo neznačilno večjo vsebnost suhe snovi v izločkih pri dodatku ekstrakta lesa pravega kostanja za 12 oz. 9 % ter pri kebraču za 6 oz. 3 %. Večja vsebnost suhe snovi v izločkih bi bila pri perutnini koristna, saj izboljša klimatske razmere v hlevu in lahko zmanjša težave s kožo pri živalih. Fosfor je malenkost slabše (4 %) izkoriščala skupina PK 0,07. Izkoriščanje kalcija je bilo v vseh skupinah z dodatkom boljše v primerjavi s kontrolno skupino. Razlike niso bile statistično značilne, čeprav je bilo odstopanje pri dodatku ekstrakta lesa pravega kostanja 3 oz. 6 %, pri kebraču pa 18 oz. 14 %.



## 8 VIRI

- Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L.A., Favela-Torres E., Aguilar C.N. 2008. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 78, 2: 189–199
- Becker K., Makkar H.P.S. 1999. Effects of dietary tannic acid and quebracho tannin on growth performance and metabolic rates of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 175: 327–335
- Chung K.T., Wong T.W., Wei C.Y., Huang Y.Y., Lin Y.Y. 1998a. Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38, 6: 421–464
- Chung K.T., Wei C.Y., Johnson M.G. 1998b. Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends in Food Science and Technology*, 9: 168–175
- Dawson J.M., Buttery P.J., Jenkins D., Wood C.D., Gill M. 1999. Effects of dietary quebracho tannin on nutrient utilisation and tissue metabolism in sheep and rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1423–1430
- Garcia R.G., Mendes A.A., Sartori J.R., Paz I.C.L.A., Takahashi S.E., Pelicia K., Komiyama C.M., Quinteiro R.R. 2004. Digestibility of feeds containing sorghum, with and without tannin, for broiler chickens submitted to three room temperatures. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 6, 1: 55–60
- Farmatan, kostanjev ekstrakt za živalsko prehrano. Tanin Sevnica. [http://www.tanin.si/podstrani\\_slo/prehrana\\_zivali/farmatan.php](http://www.tanin.si/podstrani_slo/prehrana_zivali/farmatan.php) (17. mar. 2009)
- Hagerman A.E. 2002. Tannin chemistry. (20. mar. 2002)  
<http://www.users.muohio.edu/hagermae/tannin.pdf> (7. mar. 2009)
- Haslam E. 1989. Plant polyphenols: vegetable tannins revisited. Cambridge University Press. Cambridge, Great Britain: 230 str.  
[http://books.google.si/books?id=Zyc9AAAIAAJ&dq=haslam,+vegetable+tannin&printsec=frontcover&source=bl&ots=uNbnZHgsna&sig=uxgi5sJSq3ezl7g4\\_DtJIQRPNCU&hl=sl&ei=1g--SzvwM5SpsAaR6fXqDg&sa=X&oi=book\\_result&resnum=1&ct=result](http://books.google.si/books?id=Zyc9AAAIAAJ&dq=haslam,+vegetable+tannin&printsec=frontcover&source=bl&ots=uNbnZHgsna&sig=uxgi5sJSq3ezl7g4_DtJIQRPNCU&hl=sl&ei=1g--SzvwM5SpsAaR6fXqDg&sa=X&oi=book_result&resnum=1&ct=result)  
(13. mar. 2009)
- Hassan I.A.G., Elzurbeir E.A., El Tinay A.H. 2003. Growth and apparent absorption of minerals in broiler chicks fed diets with low or high tannin content. *Tropical Animal Health and Production*, 35: 189–196
- Jansman A.J.M. 1993. Tannins in feedstuff for simple-stomached animals. *Nutrition Research Reviews*, 6: 209–236

- Jansman A.J.M., Longstaff M. 1993. Nutritional effects of tannins and vicine/convicine in legume seeds. V: Recent advantages of research in antinutritional factors in legume seeds. Wageningen, Pudoc: 95–106
- Khanbabaee K., Van Ree T., 2001. Tannins: classification and definition. Natural Product Reports, 18, 6: 641–649
- King D., Fan M.Z., Ejeta G., Asem E.K., Adeola O. 2000. The effect of tannins on nutrient utilisation in the white pekin duck. British Poultry Science, 41: 630–639
- Kos T. 2007. Vpliv taninov na tvorbo kratkoverižnih maščobnih kislin in metana pri *in vitro* fermentaciji v vampnem soku. Diplomaska naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 66 str.
- Lavrenčič A. 2001. Razgradljivost beljakovin v predželodcih prežvekovalcev. V: Uporaba kostonjevega tanina v prehrani živali. 9. tradicionalno posvetovanje, Podčetrtek, 22. mar. 2001. Sevnica, Tanin Sevnica: 39–47.
- Mangan J.L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. Nutrition Research Reviews, 1: 209–231
- Marzoni M., Castillo A., Romboli I. 2005a. Dietary inclusion of Quebracho (*Schinopsis lorentzii*) tannins on productive performances of growing pheasant females. Italian Journal of Animal Science, 4, 2: 507–509
- Marzoni M., Castillo A., Romboli I. 2005b. Performance of growing Muscovy ducks fed on diets supplement with quebracho tannin powder. V: XVII European symposium on the quality of poultry meat, Doorwerth, Netherlands, 23–26 maj 2005: 336–341. <http://www.animalscience.com/uploads/additionalFiles/QualityOfPoultryMeat/110.pdf> (10. mar. 2009)
- Methodenbuch (1). 1993. Band III. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung. 3.1 Feuchtigkeit, Wasser, Bestimmung der Feuchtigkeit. Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Methodenbuch (2). 1993. Band III. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung. 8.1.1 Rohasche, Bestimmung von Rohasche, Amtliche methode. Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Methodenbuch (3). 1993. Band III. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung. 10.6.1 Bestimmung von Gesamtphosphor, Amtliche methode. Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Mueller-Harvey I. 1999. Tannins: their nature and biological significance. V: Secondary plant products. Caygill J.C., Mueller-Harvey I. (eds.). Nottingham, Nottingham University Press: 17–39
- Mueller-Harvey I. 2006. Review: Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86: 2010–2037

- Österreichisches Methodenbuch Für die Untersuchung von Futtermitteln. 1983. Futterzusatzstoffen und Schadstoffen. 7.08. Bestimmung von Calcium. Wien, ALVA.
- Reed J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science*, 73: 1516–1528
- Rusjan T. Kmetija.si – Vinogradništvo. Trgatev, grozdje, mošt letnik 2008. (29. sept. 2008) <http://www.kmetija.si/new/content/view/298/46/> (17. mar. 2009)
- Salobir J., Salobir K., Štruklec M., Kostanjevec B. 1997. Vpliv tanina na učinkovitost delovanja fitaze pri prašičih pitancih. V: Zbornik predavanj posvetovanja o prehrani domačih živali »Zadravčevi-Erjavčevi dnevi«, Radenci, 27–28 okt. 1997. Murska Sobota, Živinorejsko-veterinarski zavod za Pomurje: 49–56
- SAS/STAT User's guide. 1994. Version 6. Fourth edition. Cary, SAS Institute: 1686 str.
- Schiavone A., Guo K., Tassone S., Gasco L., Hernandez E., Denti R., Zoccarato I. 2008. Effects of a natural extract of chestnut wood on digestibility, performance traits, and nitrogen balance of broiler chicks. *Poultry Science*, 87: 521–527
- Van Soest P.J., Conklin N.L., Horvath P.J. 1987. Tannins in foods and feeds. V: Proceedings 1987, Cornell nutrition conference for feed manufacturers. A report research of the Cornell University agricultural experiment station, Syracuse Marriott, 26–28 okt. 1987: Ithaca, New York State College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University: 115–122
- Vegetable extracts, quebracho. Otto Dille. (20. avg. 2008) <http://www.otto-dille.de/english/quebracho.html> (14. mar. 2009)
- Waghorn G.C., McNabb W.C. 2003. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62: 383–392

## ZAHVALA

Če bi mi leto dni nazaj nekdo rekel, da bom pred drugim rojstnim dnevom svoje hčerke diplomirala, bi se mu nasmehnila in rekla: »To je popolnoma nemogoče«.

To misijo nemogoče, drugače povedano del mojih sanj, ste mi pomagali uresničiti vi vsi. Brez vas, vaših spodbud, koristnih nasvetov, potrpežljivosti, lepih besed, vašega prostega časa in še mnogo prijetnih trenutkov, mi ne bi uspelo.

Hvala, ker ste verjeli vame in mi stali ob strani:

- \* mentorju prof. dr. Janezu Salobirju za strokovne nasvete, potrpežljivost in uro slovenščine
- \* somentorici as. dr. Vidi Rezar za vso prijaznost, strokovnost, potrpežljivost in vzpodbudo na poti do cilja
- \* prof. dr. Andreju Lavrenčiču za strokovno recenzijo diplome, koristne popravke in napotke
- \* prof. dr. Antoniji Holcman za hiter in strokoven pregled diplomskega dela
- \* mladi raziskovalki Tini Trebušak in tehničnemu sodelavcu Marku Kodri za pomoč pri analizah in kopico dobre volje med delom v laboratoriju
- \* dr. Nataši Siard za pomoč pri oblikovanju in pregledu literature ter gospe Karmeli Malinger za pregled angleškega izvlečka
- \* vsem zaposlenim na Katedri za prehrano za pomoč in prijaznost
- \* hvala gospe Sabini Knehtl, brez katere bi bil celoten študij mnogo težji
- \* Maji Prevolnik za prevod izvlečka in nasvete
- \* hvala Tini in Nataši za vse zapiske, brez katerih izpiti ne bi bili tako hitro opravljeni in seveda za vse pozitivne besede in nasmejane trenutke na faksu
- \* Anji Horvat za pomoč pri zaključevanju
- \* tašči Albini za varstva in spodbudne besede

Posebna zahvala gre mojima staršema. Hvala, da sta mi vsa ta leta stala ob strani, verjela vame in mi nudila vso podporo, ki sem jo še kako potrebovala. Hvala vama.

In seveda, hvala mojim sončkom Vasji, Žanu in Sari, da ste takšni kot ste in mi polepšate vsak trenutek mojega življenja ter dajete še dodaten lesk in čar vsem doseženim ciljem.

Hvala tudi vsem ostalim, ki ste kakorkoli pripomogli k nastanku te diplome.