

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Nežika STRMČNIK (ROSC)

**VPLIV IZVLEČKA IZ KOSTANJEVEGA LESA KOT SILIRNEGA
DODATKA NA KEMIČNO SESTAVO TRAVNE SILAŽE**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**THE EFFECT OF CHESTNUT WOOD EXTRACT AS SILAGE
ADDITIVE ON CHEMICAL COMPOSITION OF GRASS SILAGE**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2007

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija kmetijstva – zootehniko. Opravljeno je bilo na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, kjer so bile v kemijskem laboratoriju opravljene kemične analize.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Andreja Lavrenčiča.

Recenzent: prof. dr. Andrej Orešnik

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Jurij POHAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

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

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

Datum zagovora:

Naloga 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 verziji, identična tiskani verziji.

Nežika Strmčnik

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 636.084/.087(043.2)=163.6
KG	živinoreja/prehrana živali/krma/travna silaža/silirni dodatki/ kostanjev izvleček/tanini/kemična sestava
KK	AGRIS L02
AV	STRMČNIK (ROSC), Nežika
SA	LAVRENČIČ, Andrej (mentor)
KZ	SI-1230 Domžale, Groblje 3
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
LI	2007
IN	VPLIV IZVLEČKA IZ KOSTANJEVEGA LESA KOT SILIRNEGA DODATKA NA KEMIČNO SESTAVO TRAVNE SILAŽE
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	IX, 37 str., 14 pregl., 2 sl., 24 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V treh časovno ločenih poskusih smo preučevali vpliv izvlečka iz kostanjevih lesa Farmatan 75 [®] (Tanin, Sevnica) na kemično sestavo travnih silaž. V prvem poskusu smo oveli travi dodali 3, 7, 11 in 15 g kostanjevega izvlečka/kg. V drugem poskusu smo ravno tako silirali ovelo travo, pri tem pa smo uporabili enake koncentracije kostanjevega izvlečka kot v prvem poskusu, le da smo jih dodali glede na vsebnost surovih beljakovin v silirni masi. V tretjem poskusu smo sveži travi dodali 3, 15 in 30 g izvlečka kostanjevega lesa/kg. Po 90. dneh siliranja smo v silažah določili vsebnosti suhe snovi (SS), surovega pepela (SP), surovih beljakovin (SB), surove vlaknine (SV), surovih maščob (SM), brezdušičnega izvlečka (BDI) in vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu (NDV). Prav tako smo v silažah določili tudi vsebnost topnega dušika, dušika v čistih beljakovinah in dušika iz amoniaka. V vzorcih silaž smo določili tudi vsebnosti mlečne, očetne, propionske in maslene kisline. Dobljene podatke smo obdelali s statističnim paketom SAS/STAT (2000). Povečevanje koncentracije izvlečka kostanjevega lesa ni imelo nobenega vpliva na vsebnosti suhe snovi silaž. Je pa povečevanje koncentracije taninov v vseh treh poskusih zmanjšalo vsebnost SB, SM in SV, ter povečalo vsebnosti BDI in NDV. S povečevanjem količine dodanega izvlečka iz kostanjevega lesa se je vsebnost dušika v čistih beljakovinah povečevala, medtem ko sta se vsebnosti topnega dušika in dušik iz amoniaka zmanjševali. Vsebnost mlečne kisline se je s povečevanjem koncentracije izvlečka iz kostanjevega lesa kot silirnega dodatka zmanjševala, medtem ko koncentracija taninov ni imela vpliva na vsebnosti očetne, propionske in maslene kisline. Vse silaže so imele takšne pH vrednosti, ki so zagotavljale njihovo stabilnost, pri tem pa je bila pH vrednost silaž v drugem poskusu najvišja, kar ni bilo v skladu s pričakovanjem, saj smo samo tem silažam dodali sladkor.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 636.084/.087(043.2)=163.6
- CX animal husbandry/animal nutrition/feed/grass silage/silage additives/
chestnut extract/tannins/chemical composition
- CC AGRIS L02
- AU STRMČNIK (ROSC), Nežika
- AA LAVRENČIČ, Andrej (supervisor)
- PP SI-1230 Domžale, Groblje 3
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Zootechnical Department
- PY 2007
- TI THE EFFECT OF CHESTNUT WOOD EXTRACT AS SILAGE ADDITIVE
ON CHEMICAL COMPOSITION OF GRASS SILAGE
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO IX, 37 p., 14 tab., 2 fig., 24 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB In three timely different trials the effect of chestnut wood extract Farmatan 75[®] (Tanin, Sevnica) on chemical composition of grass silages was studied. In the first trial 3, 7, 11 and 15 g of chestnut wood extract was added to the wilted grass. In the second trial the silages were also prepared from the wilted grass where the same concentrations of chestnut wood extract were used as in the first trial, but they were applied according to the crude protein contents of wilted grass. In the third trial fresh grass was ensiled with 3, 15 and 30 g of chestnut wood extract/kg. After 90 days of ensiling the dry matter contents (DM), ash, crude protein (CP), crude fiber (CF), ether extract (EE), nitrogen free extract (NFE) and neutral detergent fiber (NDF) were determined in silages. In addition, also the contents of soluble, true and ammonia nitrogen were determined. In silage samples the contents of lactic, acetic, propionic and butyric acid were also determined. The obtained results were statistically elaborated with the statistical package SAS/STAT (2000). It has been established that increased concentrations of chestnut wood extract did not have any effect on dry matter contents of silages. However, with the increased concentrations of tannins in all trials the contents of CP, EE and CF decreased, while the contents of NFE and NDF increased. Increasing concentrations of added chestnut wood extract increased the contents of true protein and decreased the contents of soluble and ammonia nitrogen. The contents of lactic acid decreased with increased concentrations of chestnut wood extract as silage additive, while the amount of added chestnut extract did not affect the contents of acetic, propionic and butyric acid. pH of all silages was low enough to guarantee their stability. However in the second trial, the silages had the highest pH values, which was contrary to the expectations, because only to those silages sugar was added.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Okrajšave in simboli	IX
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 KOSTANJ	2
2.2 TANINI	2
2.2.1 Vrste taninov	3
2.2.1.1 Hidrolizirajoči tanini	3
2.2.1.2 Kondenzirani tanini	4
2.2.2 Delovanje taninov	5
2.3 SILIRNI DODATKI	7
2.3.1 Vrste silirnih dodatkov	7
2.4 VPLIV TANINOV NA KEMIČNO SESTAVO SILAŽ	8
3 MATERIAL IN METODE	14
3.1 MATERIAL	14
3.1.1 Farmatan	14
3.2 METODE	14
3.3 ANALIZE	15
3.3.1 Kemične analize vzorcev travnih silaž	15
3.3.2 Določitev amoniaka v silaži	16
3.3.3 Določitev hlapnih maščobnih kislin s plinsko kromatografijo	17
3.3.4 Določitev vsebnosti mlečne kisline	18
3.3.5 Statistična obdelava podatkov	18
4 REZULTATI	20
4.1 KEMIJSKA SESTAVA SILAŽ V PRVEM POSKUSU	20

4.2	KEMIJSKA SESTAVA SILAŽ V DRUGEM POSKUSU	22
4.3	KEMIJSKA SESTAVA SILAŽ V TRETJEM POSKUSU	24
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	27
5.1	RAZPRAVA	27
5.2	SKLEPI	32
6	POVZETEK	33
7	VIRI	35
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Pregl. 1: Kemična sestava in pH travnih silaž z dodatkom treh različnih vrst taninov v dveh različnih koncentracijah (Salawu in sod., 1999)	9
Pregl. 2: Kemična sestava silaže iz prstastega pesjaka in lucerne (Santos in sod., 2000)	10
Pregl. 3: pH vrednost in vsebnost dušika v lucernini silaži (Guo in sod., 2007)	11
Pregl. 4: Sestava lucernine silaže (Cavallarin in sod., 2002)	12
Pregl. 5: Kemična sestava lucernine silaže brez in z dodanimi količinami kostanjevega tanina (Tabacco in sod., 2006)	13
Pregl. 6: Kemična sestava travnih silaž (g/kg SS) pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa	20
Pregl. 7: Vsebnosti posameznih frakcij dušika (g/kg SS) v travnih silažah, pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa	21
Pregl. 8: Kislinska sestava (g/kg SS) in pH vrednosti travnih silaž pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (g/kg SS)	22
Pregl. 9: Kemična sestava travnih silaž (g/kg SS) pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa	23
Pregl. 10: Vsebnosti posameznih frakcij dušika (g/kg SS) v travnih silažah, pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa	23
Pregl. 11: Kislinska sestava (g/kg SS) in pH vrednosti travnih silaž pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (g/kg SB ovele trave)	24
Pregl. 12: Kemijska sestava silaž (g/kg SS) pripravljena z različnimi količinami kostanjevega tanina	25
Pregl. 13: Vsebnost različnih frakcij dušika (g/kg SS) v silažah pripravljenih z različnimi količinami kostanjevega tanina	25
Pregl. 14: Kislinska sestava (g/kg SS) in pH vrednosti travnih silaž pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (g/kg sveže trave)	26

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Kemijska struktura hidrolizirajočega tanina (McSweeney in sod., 2001)	4
Slika 2: Kemijska struktura kondenziranega tanina (McSweeney in sod., 2001)	5

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

SS	suha snov
SB	surove beljakovine
SM	surove maščobe
SP	surovi pepel
SV	surova vlaknina
BDI	brezdušični izvleček
KDV	vlakna, netopna v kislem detergentu
NDV	vlakna, netopna v nevtralnem detergentu
N	dušik
NPN	nebeljakovinski dušik
AA-N	dušik iz prostih aminokislin

1 UVOD

Pridelovanje in konzerviranje krme za govedo je zahteven delovni proces. Ni namenjen samo preživetju živali. Z njim moramo ustvarjati dohodek za preživetje kmetije. Čim bolje opravimo to delo, tem bolj gospodarna sta lahko pitanje in prireja mleka (Orešnik, 1995).

Postopek siliranja so rejci uvedli iz potrebe po zagotavljanju krme za živali za čas, ko zemlja ne daje svežih pridelkov. Silažo so poznali že v antičnih časih. Prvi je v pisni obliki omenil siliranje profesor iz Cambridgea leta 1786, prvi pisni opis, kako je potekalo siliranje pa je objavil Grieswald v letu 1842 (Stekar, 1999).

Silažo pripravljamo iz krmnih rastlin v anaerobnih pogojih. Med siliranjem oziroma kisanjem navadno poteka v krmi kislo vrenje. Mlečnokislinske bakterije, ki povzročajo vrenje, tvorijo iz v vodi topnih ogljikovih hidratov mlečno in očetno kislino. Z nastajanjem kislin, zlasti mlečne, se rastlinska masa zakisa, kar preprečuje rast škodljivih mikrobov. Učinkovitost siliranja ocenjujemo z razmerji med kislinami, nastalimi med vrenji. Sestava krme, namenjene siliranju in okoljski pogoji v času siliranja niso vedno optimalni, zato so rejci začeli uporabljati silirne dodatke (Stekar, 1999).

Namen diplomskega dela je bil ugotoviti, kako izvleček iz kostanjevega lesa kot silirni dodatek vpliva na kemično sestavo travne silaže. V travni silaži, ki smo ji dodali različne koncentracije vodnega izvlečka kostanjevega lesa, smo določili vsebnost suhe snovi, surovih beljakovin, surovih maščob, brezdušičnega izvlečka, vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu, mlečne kisline, hlapnih maščobnih kislin in dušika ter izmerili pH vrednost. Želeli smo proučiti tudi ali večje razlike v koncentraciji dodanega vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (0, 3, 15 in 30 g/kg SS) povzročijo tudi večje razlike v kemični sestavi silaž.

2 PREGLED OBJAV

2.1 KOSTANJ

Pravi kostanj (*Castanea sativa Mill.*) je drevesna vrsta, katere gojenje so že antični Grki in Etruščani močno pospeševali. Ljudstva, ki so jih nasledila, so razširjanje kostanja nadaljevala, zato ga imamo danes v predelih, ki so veliko bolj severno, kot pa je meja njegove naravne razširjenosti (Kotar in Brus, 1999).

Pravi kostanj je v Sloveniji razširjen na površini 253.000 hektarjev. Večji del Slovenije se nahaja v območju naravne razširjenosti pravega kostanja. Po legi v pokrajini je kostanj najbolj razširjen na pobočjih hribov in na gričevju. Najbolj mu ustreza jarkast in valovit teren, kar je značilnost predvsem rastišč na kisljih rjavih tleh (Greccs, 2007).

Za pravi kostanj lahko rečemo, da ima oziroma je imel resnično mnogonamensko rabo. Plodovi kostanja so bili pomembni tako v prehrani ljudi in živali kot tudi v zdravilne namene. Les, ki je srednje trd in precej težak, je izredno trajen na suhem in v vodi. Uporabljamo ga predvsem v mizarstvu, gradbeništvu, sodarstvu in rezbarstvu (Kotar in Brus, 1999). Kostanjev les in skorja vsebujeta 5 do 10 % taninov, od katerih prevladujejo hidrolizirajoči tanini (Pentauer, 1993).

2.2 TANINI

Tanini so zelo razširjeni v rastlinskem svetu, v živalskem svetu pa se ne pojavljajo. Izraz tanin izvira iz njegovih lastnosti, saj angleški izraz »tanning« pomeni strojenje. Danes ga na splošno uporabljamo kot naravno snov z dovolj veliko molekulsko maso, ki vsebuje veliko število hidroksilnih skupin (Kumar in Singh, 1984). So strukturni in biosintetski polimeri, katerih monomerne enote so fenoli. Hidroksilne skupine fenolov so večinoma proste. Molekulo sestavlja večje število fenolnih obročev, zato je najmanjša molekulska masa taninov okoli 500. Zgornje omejitve molekulske mase taninov ni. Odkrili so tudi tanine z molekulsko maso 20.000. Na splošno so tanini topni v vodi, čeprav naj bi njihovo topnost omejevala velika molekulska masa (Hagerman in Butler, 1991).

Tanini so naravne polifenolne spojine, ki jih delimo na kondenzirane in hidrolizirajoče. Obe vrsti taninov sta prisotni v lesu, steblih, listih, plodovih in semenih številnih vrst rastlin. Tanini ščitijo rastline pred škodljivimi žuželkami, bakterijami, virusi in plesnimi. Z beljakovinami tvorijo komplekse, kar spreminja njihovo izkoristljivost v prehrani živali (Hagerman in Butler, 1991).

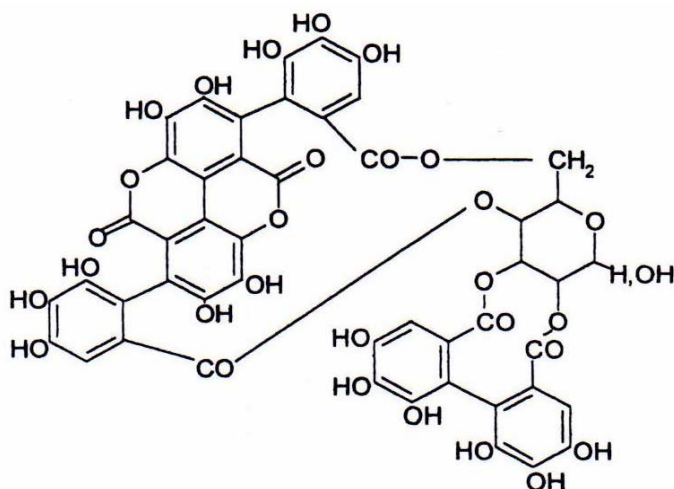
2.2.1 Vrste taninov

Tanine na splošno razvrščamo v dva razreda. Poznamo kondenzirane tanine, ki so zelo razširjeni in hidrolizirajoče tanine (Hagerman in Butler, 1991).

Reakcije hidrolizirajočih in kondenziranih taninov z beljakovinami, so odvisne od prostorske konfiguracije molekul in dostopnosti reaktivne fenolne skupine. Vsaka prostorska konfiguracija prispeva k stopnji, pri kateri različni tanini reagirajo z beljakovinami. Različne beljakovine imajo različno afiniteto za tanine in reagirajo bolj učinkovito pri pH vrednostih bliže njihovi izoelektrični točki (Mangan, 1988).

2.2.1.1 Hidrolizirajoči tanini

Hidrolizirajoči tanini (slika 1) so sestavljeni iz ogljikohidratnega jedra (ponavadi je to D-glukoza) s hidroksilnimi skupinami in te tvorijo estre s karboksilnimi kislinami, kot so galna, elagna in heksahidroksidifenska kislina. Hidrolizirajoče tanine razdelimo na galotanine (estri galne in elagne kisline) in elagitanine (estri heksahidroksidifenske kisline in D-glukoze) (Mangan, 1988). McSweeny in sod. (2001) predpostavljajo, da so rastline, ki vsebujejo hidrolizirajoče tanine, strupene. Te rastline naj bi bile iz vrst: *Clidemia*, *Quercus*, *Terminalia* in *Ventillago*.

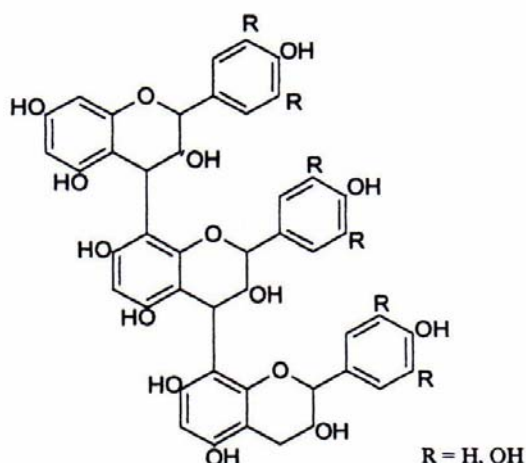


Slika 1: Kemijska struktura hidrolizirajočega tanina (McSweeney in sod., 2001)

2.2.1.2 Kondenzirani tanini

Kondenzirani tanini (slika 2) so najbolj razširjeni in tipični med vsemi rastlinskimi tanini (Mangan, 1988). Rastlinski kondenzirani tanini imajo pozitivne in negativne učinke na prebavljivost in izkoristljivost krme, ki so odvisni od količine in biološke aktivnosti prisotnih taninov (Schofield in sod., 2001).

Kondenzirani tanini so oligomeri in polimeri flavanoidnih enot povezanih z C-C vezmi, ki niso dovzetne za hidrolizo. Kondenzirane tanine imenujemo tudi proantocianidini, ker pri segrevanju z dodatkom kisline in kovinskih ionov v sledovih, tvorijo barvne antocianidine. Nastanek antocianidinov v kislem mediju uvršča flavan-3,4-diole med leukoantocianidine. Leukocianidine, leukopelargonidine in leukodelfinidine uvrščamo med flavan-3,4-diole. Flavan-3-oli, pogosto jih imenujemo katehini. Tvorijo štiri izomere (Hagerman in Butler, 1991).



Slika 2: Kemijska struktura kondenziranega tanina (McSweeney in sod., 2001)

2.2.2 Delovanje taninov

Splošno znano je, da tanini zavirajo rast mikroorganizmov. Tanini reagirajo s celično steno bakterij in izločenimi izvenceličnimi encimi. Lahko zavirajo transport hranljivih snovi v celico in upočasnijo rast organizma. Rast proteolitičnih bakterij (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminobacter amylophilus* in *S. bovis*) se upočasnijo ob prisotnosti kondenziranih taninov, medtem ko je *Prevotella ruminicola* tolerantna nanje. Na zaviralni učinek taninov so manj občutljive vampne kvasovke kot celulolitične bakterije (McSweeney in sod., 2001). Interakcije med prostimi tanini in mikroorganizmi v predželodcih so manjše od pričakovanih, ker tanini tvorijo tudi komplekse s polisaharidi, beljakovinami in rudninskimi snovmi (Jansman, 1993, cit. po McSweeney in sod., 2001). Obstojnost vezi v taninsko-beljakovinskem kompleksu je odvisna od lastnosti taninov, lastnosti beljakovin, kot so molekulska masa, terciarna struktura, izoelektrična točka in kompatibilnost mest za vezavo. Kondenzirani in hidrolizirajoči tanini imajo veliko število prostih fenolnih skupin, ki oblikujejo ogljikove vezi z beljakovinami in ogljikovimi hidrati (Silanikove in sod., 2001).

Kompleksi kondenzirajočih taninov in beljakovin zmanjšujejo dostopnost dušika mikroorganizmom v predželodcih. Najpogostejša razlaga razgradnje kompleksov med hidrolizirajočimi tanini in beljakovinami je, da encimi cepijo esterske vezi med glukozo in

fenolnimi podenotami. Tanini lahko zmanjšujejo prebavljivost vlaknine s povezovanjem z lignocelulozo in oviranjem mikrobne prebave z neposrednim zaviranjem delovanja celulolitičnih mikroorganizmov ali z obojim istočasno. Vsebnost taninov v krmi naj bi bila manjša od 3 % suhe snovi obroka, da bi na ta način lahko učinkovito zaščitili beljakovine pred razgradnjo v predželodcih, pri tem pa naj ne bi vplivali na učinkovitost mikrobne prebave. V nekaterih primerih pa premočna zaščita beljakovin s tanini zmanjša količino amoniaka v predželodcih pod nivo, ki je potreben za optimalno mikrobno razgradnjo voluminozne krme. Populacije bakterij v predželodcih, ki so bolj prilagojene na krmo, ki vsebuje tanine, so bolj učinkovite pri prebavi beljakovin in ogljikovih hidratov (McSweeney in sod., 2001).

Antinutritivni učinek taninov je povezan z njihovo sposobnostjo za tvorbo kompleksov z beljakovinami in ogljikovimi hidrati, kot so celuloza, hemiceluloza in pektin ter minerali. Tanini lahko tudi zavrejo prebavo s povezovanjem z izločenimi encimi in endogenimi beljakovinami. McSweeney in sod. (2001) so dokazali strupenost taninov. Produkti razgradnje flavonoidov v predželodcih so očetna kislina, maslena kislina, di- in monohidroksifenoli ter floroglucinoli.

Antikancerogene in antimutagene lastnosti taninov pri ljudeh naj bi bile povezane z antioksidativnimi sposobnostmi, ki so pomembne za zaščito celice pred oksidativnimi poškodbami, tudi lipidno peroksidacijo. Tanini naj bi zavirali nastanek prostih radikalov in podobnih snovi. Tanini naj bi imeli tudi fiziološke učinke kot so: preprečevanje strjevanja krvi, zmanjševanje krvnega pritiska, zmanjševanje nivoja serumskih lipidov, preprečevanje nekroze jeter in povečevanje odpornosti organizma (Chung in sod., 1998).

Tanini delujejo v naravi v rastlinskem svetu zaščitno proti najrazličnejšim povzročiteljem bolezni rastlin in živali, kot so bakterije, plesni in virusi pa tudi rastlinski škodljivci. V pogojih naravne prehrane si živali tanine oskrbe iz rastlin, kjer se nahajajo v različnih oblikah in koncentracijah. V pogojih intenzivne reje pa lahko tanine same ali v kombinaciji uspešno uporabljamo v reji živali kot dodatek h krmi (Farmatan ..., 2007).

2.3 SILIRNI DODATKI

Siliranje trave, travno deteljnih mešanic in detelj je zamenjalo postopek sušenja zaradi možnega boljšega izkoristka pridelanih hranljivih snovi. Pri sušenju so izgube hranljivih snovi praviloma večje kot pri siliranju (Orešnik, 1995).

Pri siliranju rejci in kmetijski strokovnjaki pogosto uporabljajo silirne dodatke. Množica silirnih dodatkov, ki so danes na voljo, pa uporabnike sili, da morajo temeljito premisliti, preden se za katerega odločijo. V današnjem času so uporabniki do silirnih dodatkov zahtevnejši, saj dajejo prednost dodatkom, ki ne onesnažujejo okolja. Želijo si, da dodatek izboljša hranilno vrednost silaže in zmanjša izgube suhe snovi (Stekar, 1999).

Za kakovostno silažo sta najpomembnejša pravilno siliranje in ustrezni silirni dodatki. Potrebno je preprečiti segrevanje silaže, ki vodi v izgubo suhe snovi in hranljivih snovi. Silirni dodatki izboljšajo proces fermentacije in zmanjšajo aerobno razgradnjo. Stimulirajo hitro zakisanje silirne mase s pomočjo tvorbe očetne kisline in zaviranja rasti nezaželenih (škodljivih) mikroorganizmov (Lád in sod., 2006).

2.3.1 Vrste silirnih dodatkov

Obstajajo različne razvrstitve silirnih dodatkov. Razdelimo jih na tiste, ki pospešujejo vrenje in omogočajo mlečnokislinskim bakterijam prevlado med kisanjem in tiste, ki ovirajo ali preprečujejo vrenje. Delovanje mlečnokislinskih bakterij lahko pospešimo z dodajanjem energije v obliki topnih ogljikovih hidratov in surovin, ki jih vsebujejo (melasa, sladkorji, žita, sirotka, suhi pesni rezanci, krompir, ostanki sadja) ali z dodajanjem encimov (celulolitični, hemicelulolitični), ki razkrajajo sestavine rastlinskih celičnih sten. Dodatki za zaviranje vrenja so mineralne kisline (klorovodikova, fosforjeva, žveplova), organske kisline (mravljična, maslena, očetna, propionska) in njihove soli (natrijev klorid) ter kisline mešane s formalinom. Poznamo tudi biološke dodatke (vodni ekstrakti lesa – tanini, mlečnokislinske bakterije), ki so varnejši za uporabo in za okolje. Z njimi lahko pospešimo vrenje ali povečamo koncentracijo mlečne kisline v silirni masi (Henderson, 1993; Stekar, 1999).

2.4 VPLIV TANINOV NA KEMIČNO SESTAVO SILAŽ

Salawu in sod. (1999) so poročali o učinkih kondenziranih taninov na vsebnost hranljivih snovi v silažah in kakovost le-teh. V poskusu so uporabili tri različne vrste komercialnih kondenziranih taninov (mimoza, mirabolam, kebračo) v dveh različnih koncentracijah (5 in 50 g taninov/kg suhe snovi). Rezultati poskusa so podani v preglednici 1.

Silirali so trpežno ljuško, ki je imela ob siliranju v povprečju 200 g suhe snovi na kg. Med siliranjem se je vsebnost suhe snovi zmanjšala, vendar med samimi silažami po korekciji na količino dodanih taninov, ni bilo velikih razlik v vsebnosti sušine. S tanini (kebračo, mirabolam in mimoza) pripravljene silaže so imele manjšo vsebnost v vodi topnih ogljikovih hidratov kot kontrolna silaža. Salawu in sod. (1999) so domnevali, da bi vzrok temu lahko bile interakcije med tanini in celično steno rastlin. Večja količina vodotopnih ogljikovih hidratov pri kontrolni silaži pa bi lahko bila posledica povečane hidrolize polisaharidov, ki so sestavni del celičnih sten.

Preglednica 1: Kemična sestava in pH travnih silaž z dodatkom treh različnih vrst taninov v dveh različnih koncentracijah (Salawu in sod., 1999)

	Dodatek taninov v g/kg SS						
	Kontrola	Mimoza		Mirabolam		Kebračo	
		5	50	5	50	5	50
SS (g/kg)	183	182	186	185	193	179	185
Vodotopni ogljikovi hidrati (g/kg SS)	20,3	7,2	8,2	6,4	14,2	11,3	9,3
pH (po 32 dneh siliranja)	4,9	5,6	5,4	5,5	5,3	5,6	5,4
Mlečna kislina (g/kg SS)	27,5	2,1	17,3	8,2	28,0	1,5	5,9
Ocetna kislina (g/kg SS)	11,2	43,8	17,9	33,4	16,9	46,9	30,6
Maslena kislina (g/kg SS)	34,9	18,5	1,3	20,5	9,0	17,2	4,2
Skupni N (g/kg SS)	28,1	28,8	28,6	28,3	29,3	29,1	29,5
NH ₃ -N (% skupnega N)	12,6	20,3	12,5	22,5	12,4	17,3	13,8
Topni N (% skupnega N)	57,2	54,5	43,9	56,7	47,1	53,8	42,5

Salawu in sod. (1999) menijo tudi, da večje količine taninov (nad 50 g/kg suhe snovi) lahko pripomorejo k zmanjšani aktivnosti silažnih bakterij in plesni. Prav tako naj bi preprečili konverzijo mlečne kisline v očetno, masleno kislino in etanol.

Santos in sod. (2000) so določili vpliv dodajanja taninske kisline (21 utežnih %) na potek fermentacije silaže iz prstastega pesjaka (*Cynodon dactylon*) in lucerne (*Medicago sativa*). Silirni masi so dodali očetno kislino (4 g/kg zelene silirne mase) kot konzervans. Delež suhe snovi je bil v primerjavi z ostalimi silažami statistično značilno večji pri silaži iz prstastega pesjaka, ki so mu dodali taninsko kislino. Vsebnosti suhe snovi so bile podobne v lucernini silaži z in brez dodatka taninske kisline in kontrolni silaži pripravljene s prstastim pesjakom. pH vrednost je bila značilno večja v lucernini silaži. Dodatek taninske kisline ni vplival na pH vrednost silaž. Lucernina silaža je vsebovala več surovih beljakovin kot silaža iz prstastega pesjaka. Dodatek taninske kisline ni vplival na vsebnost surovih beljakovin v lucernini silaži ali silaži iz prstastega pesjaka. Amonijskega dušika je bilo več v silaži iz lucerne, kjer je dodatek taninske kisline celo povečal njegovo vsebnost, medtem ko je taninska kislina vsebnost amonijskega dušika v silaži iz prstastega pesjaka zmanjšala (preglednica 2).

Preglednica 2: Kemična sestava silaže iz prstastega pesjaka in lucerne (Santos in sod., 2000)

Silaža	Lucerna		Prstasti pesjak	
	Kontrola	Taninska kislina	Kontrola	Taninska kislina
SS (%)	22,9	22,8	23,3	25,9
pH	6,22	6,22	4,63	4,75
SB (%)	20,1	19,5	15,3	15,8
NH ₃ -N (% skupnega N)	37,4	52,1	21,8	14,9
KDV (% skupnega N)	37,8	38,4	39,6	37,5

Guo in sod. (2007) so proučevali vpliv dodatka mravljične kisline, formaldehida in dveh različnih koncentracij taninske kisline na spremembe v porazdelitvi dušika in aktivnosti rastlinskih encimov med fermentacijo lucerne (*Medicago sativa*). Lucernino silažo (300 g SS/kg) so pripravili brez dodatkov (kontrola) ali z dodatki mravljične kisline (4 g/kg SS), formaldehida (1 g/kg SS) ali z dvema različnima koncentracijama taninske kisline (20 in 50 g/kg SS). Razgradnja beljakovin v prvih sedmih dneh fermentacije je bila bolj zavrta z uporabo mravljične kisline kot z ostalimi dodatki. Taninska kislina je bila učinkovitejša pri zaviranju tvorbe nebeljakovinskega dušika, amonijskega dušika in dušika iz prostih aminokislin v primerjavi z mravljično kislino in formaldehidom. Koncentracije nebeljakovinskega dušika in dušika iz prostih aminokislin v silaži so se povečevale od prvega do 35. dne fermentacije. Le-te so bile manjše v silaži, pripravljene z večjo koncentracijo taninske kisline kot v kontrolni silaži oziroma v silažah, ki so jim dodali formaldehid ali mravljično kislino.

Guo in sod. (2007) poročajo tudi, da je dodatek mravljične kisline takoj znižal pH vrednost silaže. Ta silaža je imela najnižji pH med celotnim potekom fermentacije. Silaže z dodatkom formaldehida in taninske kisline so imele višji pH kot kontrolna silaža v času fermentacije. pH vrednost v silaži z dodatkom formaldehida se je počasneje zniževala kot pri silažah z drugimi dodatki. Po 35. dneh fermentacije je silaža z dodatkom mravljične kisline imela statistično značilno ($p < 0,05$) nižjo pH vrednost kot kontrola in silaže z ostalimi dodatki (preglednica 3). Med kontrolno silažo in silažama z dvema različnima koncentracijama taninske kisline ni bilo razlik v pH vrednosti. Silaža z dodatkom formaldehida pa je imela statistično značilno višjo pH vrednost kot ostale silaže ($p < 0,05$).

Preglednica 3: pH vrednost in vsebnost dušika v lucernini silaži (Guo in sod., 2007)

Silirni dodatek	pH vrednost	Sestava skupnega dušika (g/kg skupnega N)			
		Skupni NPN	NH ₃ -N	AA-N	N iz peptidov
Kontrola	4,43	633,8	72,7	391,0	164,4
Formaldehid	4,91	428,5	51,9	173,2	180,2
Mravljična kislina	3,83	446,7	35,9	213,7	187,5
Taninska kislina (20 g/kg)	4,57	546,6	64,1	276,2	190,4
Taninska kislina (50 g/kg)	4,49	476,8	58,4	231,2	205,6
p-vrednost	< 0,01	< 0,05	< 0,01	< 0,001	< 0,01

NPN = nebeljakovinski dušik, NH₃-N = amonijski dušik, AA-N = dušik iz prostih aminokislin

Vsebnost skupnega dušika v kontrolni silaži in silaži z dodatkom formaldehida, mravljične kisline, 20 g taninske kisline/kg SS in 50 g taninske kisline/kg SS se je povečala v primerjavi z vsebnostjo skupnega dušika v sveži lucerni. Najbolj se je povečala koncentracija nebeljakovinskega dušika (NPN) v prvih 24. urah fermentacije iz približno 170 na 460 g/kg skupnega dušika v kontrolni silaži. Po 35. dneh fermentacije se je vsebnost NPN zmanjšala za več kot polovico. V prvih sedmih dneh fermentacije je bila inhibicija proteolize z mravljično kislino bolj učinkovita kot inhibicija z drugimi dodatki. Tudi večja koncentracija taninske kisline ni bila bolj učinkovita v inhibiciji sinteze NPN, amonijskega dušika in dušika iz prostih aminokislin v primerjavi z mravljično kislino in formaldehidom. Vse silaže pripravljene z dodatki so imele statistično značilno ($p < 0,05$) manjše koncentracije NPN, amonijskega dušika in dušika iz prostih aminokislin kot kontrolna silaža po 35. dneh fermentacije (Guo in sod., 2007).

Silaže z dodatki so imele tudi manjše koncentracije peptidnega dušika v skupnem dušiku kot kontrolne silaže v prvih 21. dneh fermentacije. Koncentracije peptidnega N v kontrolni silaži in silaži s taninsko kislino so se hitro povečevale v prvih 12. urah, nakar so se zmanjševale. Po 35. dneh fermentacije je bila koncentracija beljakovinskega dušika v silazah z dodatki značilno ($p < 0,05$) večja kot v kontrolni silaži. Največja koncentracija dušika v peptidih je bila v silaži z dodatkom 50 g taninske kisline/kg suhe snovi (Guo in sod., 2007).

Koncentracija amonijskega N v skupnem N se je povečala s trajanjem fermentacije silaž. Koncentracija amonijskega N je bila manjša v silažah z dodatki v primerjavi s kontrolno silažo v prvih sedmih dneh fermentacije, posebno pa še v prvih štirih dneh. Hitro povečanje koncentracije amonijskega N so Guo in sod. (2007) opazili po dveh dneh fermentacije v kontrolni silaži in v silaži z dodanimi 20 g ali 50 g taninske kisline/kg suhe snovi. Ti avtorji zaključujejo, da so dodatki značilno ($p < 0,05$) zmanjšali koncentracijo amonijskega N v primerjavi s kontrolno silažo.

Cavallarin in sod. (2002) so proučili vpliv kostanjevega tanina na kakovost lucernine silaže. Lucerno (*Medicago sativa*) so poželi v dveh stadijih zrelosti (pozna vegetativna faza in brstenje). Silirali so pri dveh stopnjah ovelosti, odvisno od vsebnosti suhe snovi. Siliranje je potekalo 120 dni z ali brez dodatka kostanjevega tanina (25 g/kg SS) v laboratorijskih silosih. Določili so vsebnost suhe snovi, pH, skupnega dušika, nebeljakovinskega dušika, dušika iz aminokislin, amonijskega dušika, mlečne, očetne in maslene kisline. Vsebnost hranljivih snovi v različnih silažah iz poskusa je prikazana v preglednici 4. Cavallarin in sod. (2002) so ugotovili, da je imel dodatek kostanjevega tanina pozitiven učinek na fermentacijo silaže in na ohranitev beljakovin v silažah v obeh stadijih zrelosti. V silaži z dodanim taninom je bila tudi manjša vsebnost amonijskega in nebeljakovinskega dušika ter večja vsebnost dušika iz aminokislin.

Preglednica 4: Sestava lucernine silaže (Cavallarin in sod., 2002)

	Pozna vegetacija				Pozno brstenje			
	K	T	K	T	K	T	K	T
Suha snov (g/kg)	194	200	364	386	268	273	420	425
pH	5,6	4,8	5,1	5,1	5,5	5,3	4,9	4,9
Mlečna kislina (g/kg SS)	59	84	68	48	46	57	40	46
Očetna kislina (g/kg SS)	35	39	23	23	27	25	18	18
Maslenska kislina (g/kg SS)	47	0	0	0	39	11	0	0
Skupni N (g/kg SS)	37	36	34	33	29	30	32	29
NH ₃ -N (g/kg SN)	158	113	123	75	161	150	98	77
NPN (g/kg SS)	654	602	576	568	715	557	594	499
Skupni amino-N (mol/kg SN)	24	28	26	30	28	29	27	33

K = kontrola, T = dodatek kostanjevega tanina, SN = skupni dušik

Tabacco in sod. (2006) so prav tako proučevali vpliv dodatka hidrolizirajočega kostanjevega tanina v silirni masi lucerne (*Medicago sativa*) na kakovost silaže. Uveli lucerni so dodali štiri različne koncentracije taninov (0, 2, 4 in 6 % v suhi snovi). Kemijska sestava dobrih silaž brez maslene kisline je prikazana v preglednici 5. Na kakovost silaž dodatek tanina ni vplival, le pri silaži z dodano 2 % raztopino taninske kisline je povzročil večjo koncentracijo mlečne in očetne kisline ter posledično nižjo pH vrednost kot v kontrolni silaži. V kontrolni silaži je bila izmerjena najvišja pH vrednost 4,47, medtem ko so silaže z dodatkom kostanjevega tanina imele pH vrednost od 4,04 do 4,36. Dodatek tanina je zmanjšal vsebnost nebeljakovinskega in amonijskega dušika. Največjo vsebnost (12,8 %) amonijskega dušika so določili v kontrolni silaži, najmanjšo (9,6 %) pa v silaži z dodanimi 6 % kostanjevega tanina.

Preglednica 5: Kemična sestava lucernine silaže brez in z dodanimi količinami kostanjevega tanina (Tabacco in sod., 2006)

	Koncentracija dodanega ekstrakta kostanjevega tanina (%)			
	0	2	4	6
SS (%)	31,8	32,7	33,8	33,8
pH	4,47	4,04	4,36	4,34
Skupni N (% v SS)	3,50	3,54	3,59	3,53
NH ₃ -N (% v SS)	12,8	11,4	10,0	9,6
NPN (% v SS)	75,9	72,9	66,1	64,6
Mlečna kislina (% v SS)	3,28	5,01	3,44	3,63
Očetna kislina (% v SS)	0,63	1,27	0,58	0,72
Maslena kislina (% v SS)	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Adesogan in Salawu (2002) sta naredila poskus, v katerem sta silirala mešanico graha in pšenice. Uporabila sta pet različnih silirnih dodatkov: dva mikrobnata dodatka, sol žveplove kisline, mravljično kislino in kebračo tanin (16 g/kg sveže silirne mase). Silos so odprli po 112. dneh fermentacije. Vsi silirni dodatki so značilno zmanjšali vsebnost topnega in amonijskega dušika v silažah z različnim razmerjem graha in pšenice, razen sol žveplove kisline. Na učinkovitost silirnih dodatkov je značilno vplival tudi delež graha v silaži.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

Vpliv kostanjevih taninov na kemično sestavo (kakovost) silaž smo preučevali v treh časovno ločenih poskusih. V prvem in drugem poskusu smo vzorce ovele trave prve košnje zbrali na travnikih farme Cerklje leta 2002 in leta 2003. V tretjem poskusu v letu 2005 pa smo na površinah farme Cerklje zbrali vzorce neovele trave.

3.1.1 Farmatan

Preparat Farmatan je naraven taninski izvleček (ekstrakt) iz kostanjevega lesa. Farmatan je amorfen prašek, rjave barve, kiselkastega vonja in trpkega okusa. Kostanjev taninski ekstrakt je zmes estrsko in glikozidno vezanih taninov in sicer hidrolizirajočih in kondenziranih, kjer hidrolizirajoči močno prevladujejo. Tanini tvorijo z beljakovinami, ogljikovimi hidrati, mikroorganizmi in celičnimi strukturami bolj ali manj stabilne komplekse. Mikroorganizmov tanini ne ubijajo kot to počno antibiotiki. Pri hidrolizi se tanini v Farmatanu popolnoma razgradijo do glukoze in galne kisline. Rezultati laboratorijskega in kliničnega testiranja kažejo na majhno toksičnost taninske kisline oziroma ekstrakta tanina (Farmatan ..., 2007).

3.2 METODE

Vzorce ovele trave zbrane v prvem poskusu smo še isti dan obdelali z ekstraktom kostanjevega lesa – Farmatanom 75[®] (Tanin, Sevnica). Uporabili smo različne koncentracije ekstrakta: 3, 7, 11 in 15 g/kg ovele trave, ki smo jih raztopili v destilirani vodi. Tako pripravljene raztopine ekstrakta smo poškopili po travi in dobro premešali. Travo za kontrolno silažo smo prav tako poškopili z destilirano vodo (125 ml/kg ovele trave). Ovelo travo, pripravljeno z različnimi koncentracijami Farmatana, smo silirali v 5 l plastične posode. Vsak vzorec smo silirali v dveh ponovitvah. Posode smo zaprli s plastično folijo in pokrovom. Fermentacija je potekala 90 dni pri sobni temperaturi.

V drugem poskusu smo pokošeno travo, ki je venela dva dni, shranili za dva tedna na -20°C . Dan pred siliranjem smo travo vzeli iz zamrzovalnika in jo čez noč odtajali. Kostanjev ekstrakt (Farmatan 75[®], Tanin Sevnica) smo raztopili v destilirani vodi in ga nanесли na ovelo travo. Z destilirano vodo (125 ml/kg ovele trave) smo poškropili tudi kontrolno silažo. Potrebno količino dodanega ekstrakta kostanjevega lesa smo preračunali na kg surovih beljakovin v oveli travi. Poleg tanina smo v tem poskusu oveli travi dodali tudi 5 g sladkorja/kg ovele trave. Vodni ekstrakt kostanjevega lesa smo dodali v naslednjih koncentracijah: 3, 7, 11 in 15 g ekstrakta tanina/kg SB v oveli travi. Vzorce trave smo premešali in napolnili dve pet litrski posodi. Fermentacija je potekala tri mesece pri sobni temperaturi.

V tretjem poskusu smo uporabili neovenelo pokošeno travo. Shranili smo jo za dva tedna na -20°C . Dan pred siliranjem smo travo vzeli iz zamrzovalnika in jo čez noč odtajali. Potrebno količino vodnega ekstrakta kostanjevega lesa smo preračunali na kg neovele trave. Uporabili smo tri različne koncentracije vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (3, 15 in 30 g/kg neovele trave), ki smo ga pred nanašanjem na travo raztopili v destilirani vodi. Postopki siliranja, fermentacija in priprava vzorcev za kemijske analize so potekali enako kot pri prvem in drugem poskusu.

3.3 ANALIZE

Po končanih fermentacijah smo silažo po odprtju posod razdelili na dva dela. En del smo uporabili za ekstrakcijo silažnega soka, v katerem smo določili pH, amonijski dušik, mlečno, očetno, propionsko in masleno kislino. Drugi del pa smo posušili v sušilniku (od 103 do 105°C) in zmleli v kavnem mlinčku. Tako pripravljene vzorce smo uporabili za kemične analize.

3.3.1 Kemične analize vzorcev travnih silaž

V vsakem vzorcu smo po postopku Weendske analize (Official methods of analysis, 1990) določili vsebnost suhe snovi (SS), surovega pepela (SP), surovih beljakovin (SB), surove

vlaknine (SV), surovih maščob (SM), brezdušičnega izvlečka (BDI) in vsebnost dušika (N) v čistih beljakovinah.

Z detergentsko metodo po Van Soestu (Goering in Van Soest, 1970) smo določili vsebnost vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu (NDV). To so vlakna določena z nevtralnimi detergentom in so merilo za vsebnost celičnih sten v krmi.

3.3.2 Določitev amoniaka v silaži

Petdeset gramov vzorca silaže smo prelili s 450 ml destilirane vode in dodali nekaj kristalčkov HgCl_2 . Vse skupaj smo premešali, pokrili z urnim steklom in pustili 24 ur na sobni temperaturi. Po 24. urah smo vzorec filtrirali skozi filter papir. Petdeset ml filtrata smo prenesli v Kjeldahl bučko, dodali dve žlički MgO , premešali in destilirali z vodno paro (aparatura TECATOR). V predložko smo dali 20 ml 0,1 N H_2SO_4 in tri kapljice mešanega indikatorja. Destilirali smo do dvakratne količine kisline, segreli do vrenja, ohladili in titrirali z 0,1 N NaOH .

Vsebnost NH_3 smo izračunali kot:

$$\text{g NH}_3/\text{kg silaže} = A \times m_{\text{NaOH}} \times E \times V / z \times V_d$$

kjer je:

$$A \quad V_{\text{sl}} - V_v \text{ (ml)}$$

V_{sl} volumen NaOH potreben za nevtralizacijo 20 ml kisline

V_v volumen NaOH potreben za nevtralizacijo 20 ml kisline po destilaciji filtrata vzorca

E g/mol amoniaka (17,032)

z zatehta silaže (g)

V_d alikvot filtrata (ml)

V volumen vode (ml)

m molarnost

3.3.3 Določitev hlapnih maščobnih kislin s plinsko kromatografijo

Vzorec silaže za določitev hlapnih maščobnih kislin smo pripravili tako, da smo 50 g vzorca prelili s 450 ml destilirane vode in pustili 24 ur na sobni temperaturi. Raztopino smo najprej filtrirali in potem odpipetirali 3 ml. Po 10 minutah centrifugiranja pri 3000 obratih, smo izmerili pH vrednost. V epruveto smo dali:

- 4 g sušenega NaCl,
- 0,2 ml 50 % H₂SO₄,
- 1,0 ml dietiletra,
- 1,0 ml filtrata vzorca in
- 0,1 ml internega standarda (krotonske kisline).

Za kontrolo smo namesto filtrata v epruveto dali 1 ml standardne raztopine, ki je sestavljena iz:

- 0,525 g/l očetne kisline,
- 0,099 g/l propionske kisline,
- 0,095 g/l izo-maslene kisline in
- 0,069 g/l n-maslene kisline.

Vsako epruveto smo ročno stresali tako, da smo jo 20-krat obrnili. Epruvete smo postavili v centrifugo in jo pri hitrosti 2000 obratov/min izključili. Po ustavitvi smo s pasterkami posesali zgornjo etersko fazo, v kateri so bile prisotne kisline in jo prenesli v epruvete. V preostanek smo dodali 1 ml etra, premešali tako, da smo epruveto dvajset krat obrnili in ponovno centrifugirali. S pasterko smo ponovno prenesli etersko frakcijo v epruveto, kjer je bil že prvi ekstrakt. Dodali smo še 0,3 g CaCl₂.

Za analizo hlapnih maščobnih kislin smo uporabili plinski kromatograf Hewlett Packard 5890 A, proizvajalca Hewlett Packard (ZDA), opremljen s split/splitless injektorjem in FID detektorjem. Za določitev hlapnih maščobnih kislin smo uporabili kapilarno kolono NUKOLTM, FUSED SILICA Capillary Column (Col: 20988-03A), dolžine 30 m, premera 0,25 mm in debelino standardne faze 0,25 µm proizvajalca SUPELCO (ZDA).

3.3.4 Določitev vsebnosti mlečne kisline

Vzeli smo 0,5 ml filtrata vzorca, ki smo ga pripravili v postopku določanja hlapnih maščobnih kislin in mu dodali 4 ml trikloroacetne kisline. Centrifugirali smo 10 minut pri 3000 obratih. V 1 ml supernatanta smo dodali 4 ml raztopine CuSO_4 in premešali. Po dodatku 0,5 g Ca(OH)_2 smo raztopino ponovno dobro premešali in pustili 30 minut na sobni temperaturi z občasnim mešanjem. Potem smo ponovno centrifugirali 10 minut pri 3000 obratih. Odvzeli smo 0,5 ml supernatanta, dodali 0,1 ml 4 % $\text{Cu(SO}_4\text{)}$, premešali in med mešanjem dodajali 3 ml 98 % H_2SO_4 . Epruveto smo postavili za 5 minut v vrelo vodno kopel in nato hitro ohladili na 20 °C, dodali 0,1 ml PHDH (raztopina parahidroksidifenila) in premešali. Epruveto smo ponovno postavili v vodno kopel in termostatirali 30 minut na 30 °C z občasnim mešanjem na vortexu. Vzorec smo postavili še za točno 90 sekund v vrelo vodo, ohladili na sobno temperaturo in izmerili absorbanco pri 560 nm.

Vsebnost mlečne kisline smo izračunali kot:

$$\% \text{ mlečne kisline} = (C_{st} \times F \times 450 \text{ ml } A_v \times 100\text{g}) / (A_{st} \times 50\text{g})$$

kjer je:

C_{st} 0,55 mg/ml

F 0,938

A_v absorbanca vzorca

A_{st} absorbanca standardne raztopine

3.3.5 Statistična obdelava podatkov

Dobljene podatke o vsebnosti hranljivih snovi smo vnesli v računalnik in s programom Excel v okolju Windows pripravili preglednico za statistično obdelavo. Podatke smo obdelali s statističnim paketom SAS/STAT (2000). Za zagotovitev čim večjega števila opazovanj smo namesto povprečij dveh ponovitev vključili posamezne ponovitve. Osnovne statistične parametre smo izračunali s proceduro MEANS. Podatke smo

analizirali z metodo najmanjših kvadratov v proceduri splošnih linearnih modelov (GLM). Za določitev statistično značilnih razlik v kemični sestavi travnih silaž smo v vseh treh poskusih uporabili enak statistični model, v katerega smo vključili kot sistematski vpliv koncentracijo izvlečka kostanjevega lesa:

$$y_{ij} = \mu + K_i + e_{ij} \quad (\text{Model 1})$$

kjer je:

y_{ij} opazovana lastnost

μ srednja vrednost

K_i koncentracija izvlečka kostanjevega tanina

e_{ij} ostanek.

4 REZULTATI

4.1 KEMIJSKA SESTAVA SILAŽ V PRVEM POSKUSU

V prvem poskusu smo vodni ekstrakt kostanjevega lesa dodali pred siliranjem glede na količino ovele trave. Kemijska sestava travnih silaž je predstavljena v preglednici 6. Razlike v vsebnosti suhe snovi v različnih silažah so majhne. Največja razlika ($p < 0,05$) v vsebnosti suhe snovi je bila med silažama z dodanim 7 oziroma 11 g kostanjevega ekstrakta/kg SS. Vsebnost surovih beljakovin (g/kg SS) se je s povečevanjem koncentracije ekstrakta zmanjševala, a je bila razlika statistično značilna le med kontrolno silažo in silažama z dodatkom 11 in 15 g kostanjevega ekstrakta/kg SS. Vsebnost surovih maščob v silažah se je statistično značilno razlikovala ($p < 0,05$) le med kontrolno silažo in silažo z 15 g ekstrakta/kg SS. Razlike v vsebnosti surove vlaknine v različnih silažah niso bile statistično značilne. Vsebnost brezdušičnega izvlečka je bila med 378 in 413 g/kg SS. Statistično značilna razlika ($p < 0,05$) je bila le med kontrolno silažo in silažo s 15 g ekstrakta/kg SS. Vsebnosti NDV v silažah z različnimi koncentracijami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa je bila med 478 in 500 g/kg SS in se ni statistično značilno razlikovala.

Preglednica 6: Kemična sestava travnih silaž (g/kg SS) pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa

	Kontrola	Količina dodanega kostanjevega ekstrakta (g/kg ovele trave)			
		3	7	11	15
SS	377 ^{bc}	380 ^{ab}	375 ^{bc}	390 ^a	377 ^{bc}
SB	206 ^a	204 ^{ab}	203 ^{ab}	199 ^b	199 ^b
SM	35 ^a	33 ^{ab}	32 ^{ab}	33 ^{ab}	28 ^b
SV	273 ^a	272 ^a	274 ^a	270 ^a	260 ^a
BDI	378 ^c	391 ^{bc}	389 ^{bc}	398 ^{ab}	413 ^a
NDV	498 ^a	478 ^a	500 ^a	490 ^a	485 ^a

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

Vsebnost dušika v čistih beljakovinah (preglednica 7) se je statistično značilno razlikovala ($p < 0,05$) med kontrolno silažo in silažami, ki smo jim dodali več kot 7 g/kg taninskega izvlečka. Z večanjem koncentracije ekstrakta kostanjevega lesa v silažah se je vsebnost

topnega dušika zmanjševala. V kontrolni silaži je bilo 20 g/kg SS topnega dušika, medtem ko je najmanj topnega dušika vsebovala silaža z dodatkom 15 g ekstrakta/kg. Silaži z dodanima največjima količinama taninov (11 in 15 g/kg) sta imeli tudi manjši vsebnosti ($p < 0,05$) amonijskega dušika kot kontrolna silaža in silaže z manjšimi količinami dodanega ekstrakta (preglednica 7).

Preglednica 7: Vsebnosti posameznih frakcij dušika (g/kg SS) v travnih silažah, pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa

	Kontrola	Količina dodanega kostanjevega ekstrakta (g/kg ovele trave)			
		3	7	11	15
Skupni N	32,9 ^a	32,7 ^{ab}	32,5 ^{ab}	31,9 ^b	31,9 ^b
N v čistih beljakovinah	20,2 ^b	20,7 ^b	22,3 ^a	21,8 ^a	22,3 ^a
Topni N	20,0 ^a	19,4 ^{ab}	18,6 ^{abc}	18,3 ^{bc}	17,4 ^c
NH ₃ -N	2,0 ^{bc}	2,1 ^{ab}	2,3 ^a	1,9 ^c	1,9 ^c

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

Vsebnost kislin in pH vrednost silaž je predstavljena v preglednici 8. Dodatek vodnega ekstrakta kostanjevega lesa ni statistično značilno vplival na pH vrednost silaž. Povečevanje koncentracije vodnega ekstrakta kostanjevega lesa v silirni masi je zmanjšalo vsebnost mlečne kisline. Razlike v vsebnosti mlečne kisline niso bile statistično značilne. Vsebnost očetne kisline se je povečala iz 13,0 na 14,4 g/kg SS med kontrolno silažo in silažo, pripravljeno s 15 g ekstrakta/kg. Razlike v vsebnosti očetne kisline v silažah niso bile statistično značilne. V silažah je bila vsebnost propionske in maslene kisline zelo majhna. Razlike med njihovimi vsebnostmi niso bile statistično značilne.

Preglednica 8: Kislinska sestava (g/kg SS) in pH vrednosti travnih silaž pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (g/kg SS)

	Kontrola	Količina dodanega kostanjevega ekstrakta (g/kg SS)			
		3	7	11	15
pH	4,27 ^a	4,31 ^a	4,39 ^a	4,36 ^a	4,27 ^a
Mlečna kislina	30,6 ^a	34,7 ^a	30,3 ^a	22,5 ^a	24,9 ^a
Ocetna kislina	13,0 ^a	11,7 ^a	11,4 ^a	10,8 ^a	14,4 ^a
Propionska kislina	1,2 ^a	0,8 ^a	0,8 ^a	0,5 ^a	0,4 ^a
Maslena kislina	1,2 ^a	0,9 ^a	1,1 ^a	0,8 ^a	1,0 ^a

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

4.2 KEMIJSKA SESTAVA SILAŽ V DRUGEM POSKUSU

V drugem poskusu smo vodni ekstrakt kostanjevega lesa dodali glede na vsebnost SB v oveli travi. Kemična sestava travnih silaž iz drugega poskusa je predstavljena v preglednici 9. Silaže so se med seboj razlikovale glede na vsebnost SS. Največja razlika ($p < 0,05$) je bila med silažama z dodanimi 3 oziroma 11 g tanina/kg SB. Vsebnost surovih beljakovin (g/kg SS) se je s povečevanjem koncentracije ekstrakta zmanjševala, z izjemo silaže z dodatkom 15 g kostanjevega tanina/kg SB. Vsebnost surovih maščob se med različnimi silažami ni statistično značilno razlikovala. Razlike v vsebnosti surove vlaknine v različnih silažah niso bile statistično značilne, izjema sta bili le silaži z dodanimi 3 in 15 g tanina/kg SB. Vsebnost brezdušičnega izvlečka je bila med 418 in 447 g/kg SS. Statistično značilna razlika v vsebnosti brezdušičnega izvlečka ($p < 0,05$) je bila le med kontrolno silažo in silažo z dodatkom 11 g/kg SB. Statistično značilno razliko v vsebnosti NDV pa smo ugotovili med kontrolno silažo (496 g/kg SS) in silažo z dodanimi 3 g vodnega ekstrakta kostanjevega lesa/kg SB (522 g/kg SS).

Preglednica 9: Kemična sestava travnih silaž (g/kg SS) pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa

	Kontrola	Količina dodanega kostanjevega ekstrakta (g/kg SB v oveli travi)			
		3	7	11	15
SS	411 ^a	415 ^a	385 ^{ab}	363 ^b	386 ^{ab}
SB	178 ^a	169 ^b	161 ^{cd}	155 ^d	168 ^{bc}
SM	35 ^a	34 ^a	35 ^a	34 ^a	34 ^a
SV	277 ^{ab}	289 ^a	276 ^{ab}	274 ^{ab}	269 ^b
BDI	418 ^b	424 ^{ab}	439 ^{ab}	447 ^a	438 ^{ab}
NDV	496 ^b	522 ^a	512 ^{ab}	512 ^{ab}	497 ^{ab}

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

Vsebnost dušika v čistih beljakovinah (preglednica 10) se ni statistično značilno razlikovala med silažami pripravljenimi z različnimi koncentracijami dodanega ekstrakta. Vsebnost topnega dušika se je statistično značilno razlikovala ($p < 0,05$) med kontrolno silažo (19,3 g/kg SS) in vsemi ostalimi silažami, ki jim je bil dodan vodni ekstrakt kostanjevega tanina. Vsebnosti amonijskega dušika v silažah so bile med 1,4 in 1,7 g/kg SS. Razlike med silažami niso bile statistično značilne (preglednica 10).

Preglednica 10: Vsebnosti posameznih frakcij dušika (g/kg SS) v travnih silažah, pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa

	Kontrola	Količina dodanega kostanjevega ekstrakta (g/kg SB)			
		3	7	11	15
Skupni N	28,4	27,1	25,8	24,7	26,9
N v čistih beljakovinah	17,0 ^a	16,4 ^a	14,7 ^a	15,3 ^a	15,9 ^a
Topni N	19,3 ^a	17,9 ^b	16,7 ^c	16,2 ^b	18,1 ^b
NH ₃ -N	1,7 ^a	1,6 ^a	1,4 ^a	1,4 ^a	1,5 ^a

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

Vsebnost kislin in pH vrednost silaž je predstavljena v preglednici 11. pH vrednost kontrolne silaže (4,63) je bila statistično značilno ($p < 0,05$) višja, kot je bila v silažah, pripravljenih z dodatkom vodnega ekstrakta kostanjevega tanina. Povečevanje koncentracije taninskega ekstrakta je povzročilo povečanje vsebnosti mlečne kisline iz 49,1 g/kg SS v kontrolni silaži na 62,7 g/kg SS v silaži, pripravljeni z 11 g ekstrakta/kg SB

v oveli travi. Razlika v vsebnosti mlečne kisline je bila statistično značilna ($p < 0,05$) samo med silažama, pripravljenima s 7 in 11 g ekstrakta/kg SB. Vsebnost očetne kisline je bila med 11,6 in 14,1 g/kg SS v kontrolni silaži in silaži, pripravljeni s 7 g ekstrakta/kg SB, vendar razlike niso bile statistično značilne. V vseh silažah je bila vsebnost propionske in maslene kisline zelo majhna. Razlike med njimi niso bile statistično značilne.

Preglednica 11: Kislinska sestava (g/kg SS) in pH vrednosti travnih silaž pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (g/kg SB ovele trave)

	Kontrola	Količina dodanega kostanjevega ekstrakta (g/kg SB ovele trave)			
		3	7	11	15
pH	4,63 ^a	4,47 ^b	4,45 ^b	4,39 ^b	4,44 ^b
Mlečna kislina	49,1 ^{ab}	51,1 ^{ab}	47,1 ^b	62,7 ^a	56,3 ^{ab}
Očetna kislina	11,6 ^a	11,3 ^a	14,1 ^a	13,5 ^a	11,9 ^a
Propionska kislina	0,3 ^a	0,3 ^a	0,4 ^a	0,5 ^a	0,1 ^a
Maslenska kislina	0,2 ^a	0,4 ^a	0,4 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

4.3 KEMIJSKA SESTAVA SILAŽ V TRETJEM POSKUSU

V tretjem poskusu smo silirali svežo travo. Ugotovili smo, da dodatek različnih koncentracij taninov ni bistveno spremenil vsebnosti SS, SM in NDV v vzorcih (preglednica 12). Kontrolna silaža je vsebovala 212 g/kg suhe snovi, medtem ko je bila vsebnost SS v silažah z dodatkom taninov med 206 in 219 g/kg. Vsebnost surove vlaknine v silažah se je s povečevanjem kostanjevega tanina zmanjševala ($p < 0,05$), vsebnost brezdušičnega izvlečka pa se je povečala ($p < 0,05$). Vsebnost surovih beljakovin se je zmanjšala iz 133 g/kg SS v kontrolni silaži na 116 in 117 g/kg SS ($p < 0,05$) v silažah, pripravljenih s 15 oziroma 30 g kostanjevega ekstrakta na kg sveže trave (preglednica 12). Največjo vsebnost vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu, smo določili v kontrolni silaži (578 g/kg SS). Statistično značilno razliko ($p < 0,05$) v vsebnosti NDV pa smo ugotovili med kontrolno silažo (578 g/kg SS) in silažo z dodanimi 3 g ekstrakta/kg SS (553 g/kg SS).

Preglednica 12: Kemijska sestava silaž (g/kg SS) pripravljena z različnimi količinami kostanjevega tanina

	Kontrola	Količina dodanega ekstrakta kostanjevega tanina (g/kg sveže trave)		
		3	15	30
SS	212	217	206	219
SB	133 ^a	132 ^a	116 ^b	117 ^b
SM	39 ^a	36 ^{ab}	29 ^c	28 ^c
SV	341 ^a	316 ^{ab}	314 ^b	306 ^b
BDI	435 ^c	451 ^{bc}	478 ^a	469 ^{ab}
NDV	578 ^a	553 ^b	577 ^a	572 ^{ab}

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

Silaža, pripravljena z večjimi količinami ekstrakta kostanjevega lesa (preglednica 13), je imela večjo vsebnost dušika v čistih beljakovinah. Ravno nasprotno pa se je vsebnost topnega dušika značilno zmanjševala ($p < 0,05$) z naraščajočo količino ekstrakta kostanjevega lesa iz 8,9 na 3,0 in 2,9 g N/kg suhe snovi v kontrolni silaži in silazah, pripravljenih s 15 in 30 g kostanjevega ekstrakta na kg sveže trave. Povečevanje količine kostanjevega ekstrakta v silazah je zmanjšalo tudi vsebnost amonijskega dušika v silazah.

Preglednica 13: Vsebnost različnih frakcij dušika (g/kg SS) v silazah pripravljenih z različnimi količinami kostanjevega tanina

	Kontrola	Količina dodanega ekstrakta kostanjevega tanina (g/kg sveže trave)		
		3	15	30
Skupni N (dušik)	21,2 ^a	21,1 ^a	18,5 ^b	18,8 ^b
N iz čistih beljakovin	11,1 ^b	12,2 ^{ab}	13,2 ^a	13,6 ^a
Topni N	8,9 ^a	7,2 ^b	3,0 ^c	2,9 ^c
Amonijski N	1,8 ^a	1,5 ^b	0,7 ^c	0,8 ^c

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

Dodatek vodnega ekstrakta kostanjevega lesa ni vplival na pH vrednost silaž (preglednica 14). Večje količine dodanega ekstrakta kostanjevega tanina so statistično značilno ($p < 0,05$) zmanjšale vsebnost mlečne kisline iz 95,8 g/kg SS pri kontrolni silaži na 80,9 g/kg SS v silaži pripravljeni s 30 g ekstrakta/kg sveže trave. Vsebnosti očetne, propionske in maslene kisline se, glede na količino dodanega tanina (preglednica 14), niso statistično značilno spremenile.

Preglednica 14: Kislinska sestava (g/kg SS) in pH vrednosti travnih silaž pripravljenih z različnimi količinami vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (g/kg sveže trave)

	Kontrola	Količina dodanega ekstrakta kostanjevega tanina (g/kg sveže trave)		
		3	15	30
pH	3,85 ^{ab}	3,78 ^b	3,84 ^{ab}	3,92 ^a
Mlečna kislina	101,1 ^a	95,8 ^a	80,6 ^b	80,9 ^b
Ocetna kislina	17,9	15,8	11,6	16,8
Propionska kislina	0,09	0,08	0,09	0,08
Maslena kislina	1,31	1,21	0,16	0,09

^{a, b, c} – vrednosti označene z različnimi črkami so statistično značilno različne ($p < 0,05$)

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Učinkovanje vodnega ekstrakta kostanjevega lesa na kemično sestavo travne silaže smo proučili v treh časovno ločenih poskusih, kjer smo silirali travo z dodatkom različnih koncentracij kostanjevega tanina. Vse poskuse smo izvedli v idealnih pogojih. V prvem poskusu smo oveli travi namenjeni siliranju dodali 3, 7, 11 in 15 g vodnega ekstrakta kostanjevega lesa na kg silirne mase. V drugem poskusu smo uporabili enake koncentracije ekstrakta kot v prvem, le da smo jih dodali na kg surovih beljakovin v oveli travi. V tem poskusu smo poleg tanina dodali tudi 5 g sladkorja na kg silirne mase. V tretjem poskusu pa smo silirali neovelo travo, ki smo ji dodali 3, 15 in 30 g kostanjevega ekstrakta/kg silirne mase.

Vodni ekstrakt kostanjevega lesa kot dodatek ob siliranju trave naj bi zaščitil beljakovine rastlinskega izvora pred hidrolizo (proteolizo) v času fermentacije silaž ter upočasnil razvoj in delovanje nezaželenih mikroorganizmov (Salawu in sod., 1999). Veliko število nezaželenih mikroorganizmov v silaži, lahko zmanjša njeno kakovost. Uporaba in rokovanje s kostanjevimi tanini kot silirnimi dodatki je poleg tega še varno in ne ogroža zdravja ljudi in živali (Farmatan ..., 2007).

Z Weendsko analizo smo v silažah določili suho snov, surove beljakovine, surove maščobe, surovo vlaknino in brezdušični izvleček. Razlike v vsebnosti suhe snovi v silažah v prvih dveh poskusih so bile zelo majhne. Silaža iz tretjega poskusa pa je vsebovala manj suhe snovi kot silaža iz prvih dveh poskusov, kar je posledica siliranja neovele trave. Salawu in sod. (1999) so pri siliranju uporabili travo s še manj SS (200 g SS/kg). Vsebnosti surovih beljakovin, surovih maščob in surove vlaknine so se v vseh treh poskusih zmanjševale z naraščajočo količino dodanega vodnega ekstrakta kostanjevega lesa. Santos in sod. (2000) so silaži iz prstastega pesjaka kot silirni dodatek dodali 21 utežnih % taninske kisline in ugotovili, da je povzročila povečanje vsebnosti SS in SB v silaži v primerjavi s kontrolno silažo. Vsebnost SS in SB v silaži iz lucerne pa je bila neznatno manjša v silaži z dodano taninsko kislino v primerjavi s kontrolo.

Tudi Cavallarin in sod. (2002) ter Tabacco in sod. (2006) so ugotovili večjo vsebnost SS v silaži iz lucerne, kateri je bil dodan kostanjev tanin (25 g/kg SS) oziroma komercialni hidrolizirajoči kostanjev tanin.

V silazah smo določili tudi vsebnost surovih beljakovin, dušik v čistih beljakovinah, topni dušik in amonijski dušik. Količina skupnega dušika se je v silazah z večjo količino dodanega kostanjevega ekstrakta značilneje zmanjšala v primerjavi s kontrolno silažo brez dodanega tanina, kar ni v skladu s trditvami Salawu in sod. (1999), ki so ugotovili, da se je količina skupnega dušika povečala v travnih silazah, ki jim je bil dodan silirni dodatek (mimoza, mirabolam, kebračo). Tudi Tabacco in sod. (2006) so dokazali, da je ekstrakt kostanjevega tanina kot silirni dodatek povečal vsebnost skupnega N v lucernini silaži. Ravno nasprotno pa so Cavallarin in sod. (2002) ugotovili, da je dodatek kostanjevega tanina zmanjšal vsebnost skupnega dušika v lucernini silaži v primerjavi s kontrolo.

Ugotovili smo tudi, da se je v našem prvem in tretjem poskusu z naraščajočo količino dodanega tanina značilno povečala količina dušika v čistih beljakovinah, medtem ko se je v silaži iz drugega poskusa količina dušika v čistih beljakovinah zmanjševala. Poudariti je potrebno, da smo v drugem poskusu količino dodanega tanina preračunali na vsebnost surovih beljakovin. Tudi Guo in sod. (2007) so dokazali, da se je vsebnost dušika iz čistih beljakovin v lucernini silaži povečevala ne glede na vrsto silirnega dodatka (formaldehid, mravljična kislina, taninska kislina) v primerjavi s kontrolo. Količina topnega dušika se je zmanjševala s količino dodanega ekstrakta v silazah. Največ topnega dušika je bilo v silazah brez dodanih taninov v vseh treh poskusih. Najmanj topnega dušika pa je bilo v silaži iz tretjega poskusa, kateri smo dodali največjo količino (30 g/kg SS) kostanjevega tanina. Podobno povezavo, da velike količine dodanega tanina zelo zmanjšajo vsebnost topnega dušika, so dokazali tudi Salawu in sod. (1999).

Silaže, pripravljene z dodatkom ekstrakta kostanjevega tanina so imele statistično značilno manjšo vsebnost amonijskega dušika v primerjavi s kontrolnimi silazami. Z naraščajočo količino dodanega ekstrakta tanina se je zmanjševala vsebnost amonijskega dušika. Vsebnost amonijskega dušika se je najbolj zmanjšala v silaži iz tretjega poskusa, kateri smo dodali 30 g ekstrakta na kg suhe snovi. Tudi Salawu in sod. (1999) so dokazali, da

dodatek kostanjevega tanina zmanjša vsebnost amonijskega dušika v travnih silažah. Učinek zmanjšanja amonijskega dušika je bil največji pri silaži, kateri je bila dodana največja koncentracija tanina (50 g/kg SS). Tudi Guo in sod. (2007) ter Santos in sod. (2000) so poročali o zmanjšanju vsebnosti amonijskega dušika v lucernini silaži oziroma silaži iz prstastega pesjaka, kateri je bila dodana taninska kislina, v primerjavi s kontrolno silažo. To pojasnjujemo s tem, da imajo tanini sposobnost oblikovati netopne komplekse z beljakovinami, ki so odporni na proteolitsko aktivnost mikroorganizmov v silaži. Tanini lahko v takem primeru zavirajo aktivnost mikroorganizmov in njihovih encimov v silaži (Hagerman in Butler, 1981; Salawu in sod., 1999). Ne glede na vsa zgoraj navedena dejstva pa so Santos in sod. (2000) poročali o povečanju vsebnosti amonijskega dušika v lucernini silaži z dodatkom taninske kisline.

Ravno nasprotno pa se je količina brezdušičnega izvlečka v silaži iz vseh treh poskusov povečevala z naraščajočo količino dodanega vodnega ekstrakta kostanjevega tanina. Razlike v vsebnosti brezdušičnega izvlečka so bile statistično značilne le v tretjem poskusu, kjer so bile dodane koncentracije kostanjevega ekstrakta večje.

Vsebnost vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu je bila najmanjša v silažah iz prvega poskusa v primerjavi s silažami iz drugih dveh poskusov. Vzrok temu bi lahko bil v tem, da smo v prvem poskusu silirali ovelo travo. Razlike v vsebnosti vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu so bile statistično značilne v silažah iz drugega in tretjega poskusa. V literaturi nismo zasledili objav o vplivu taninov na vsebnost brezdušičnega izvlečka in vlaken netopnih v nevtralnem detergentu.

V vseh silažah smo izmerili tudi pH vrednost in s pomočjo plinske kromatografije določili vsebnost mlečne kisline, očetne kisline, propionske kisline in maslene kisline. V prvem in tretjem poskusu dodatek kostanjevega tanina ni značilno vplival na pH vrednost, medtem ko je bila v drugem poskusu pH vrednost kontrolne silaže značilno višja od vrednosti v silažah z dodatkom vodnega ekstrakta kostanjevega tanina. Na splošno so imele silaže iz drugega poskusa najvišje pH vrednosti (od 4,39 do 4,63), kar bi lahko bil rezultat dodatka sladkorja v silirno maso. Najnižje pH vrednosti v silažah smo izmerili v tretjem poskusu, kjer smo uporabili tudi največje količine dodanega kostanjevega tanina. Kljub temu razlike

v pH vrednosti med kontrolnimi silažami in silažami z dodatkom tanina niso bile statistično značilne. Salawu in sod. (1999) so poročali, da so imele silaže pripravljene s tanini višjo pH vrednost kot kontrolne silaže. Prav tako so Santos in sod. (2000) ter Guo in sod. (2007) ugotovili izrazitejše povišanje pH vrednosti v silaži iz prstastega pesjaka oziroma lucernini silaži, kateri so dodali taninsko kislino. Salawu in sod. (1999) so ugotovili tudi, da majhen dodatek tanina povzroči izrazitejše povečanje pH vrednosti v primerjavi z velikimi količinami tanina. Nasprotno pa so Tabacco in sod. (2006) ugotovili, da dodatek kostanjevega tanina v lucernini silaži zniža pH vrednost v primerjavi s kontrolno silažo. Kakorkoli že, silaže iz vseh treh naših poskusov so imele dovolj nizko pH vrednost, da je bila njihova stabilnost zagotovljena.

Povečevanje količine taninov v silirno maso je značilno zmanjšalo vsebnost mlečne kisline v silažah iz prvega in tretjega poskusa. Razlike so bile statistično značilne le v silažah iz drugega in tretjega poskusa. Do enakih rezultatov so prišli tudi Salawu in sod. (1999), ki so opazili tudi, da imajo travne silaže, pripravljene z večjimi količinami tanina, tudi večjo vsebnost mlečne kisline v primerjavi s silažami, kjer je bil dodatek tanina majhen. Nasprotno pa poročajo Tabacco in sod. (2006) o povečanju vsebnosti mlečne kisline v lucernini silaži z dodatkom kostanjevega tanina. V drugem poskusu je bila vsebnost mlečne kisline večja kot v silažah iz prvega poskusa, kar pripisujemo dodatku sladkorja v ovelo silirno maso pred siliranjem. Dodatek sladkorja je povzročil boljše pogoje za fermentacijo. Največjo vsebnost mlečne kisline so imele silaže iz tretjega poskusa, katerim je bila dodana tudi največja količina tanina. To ugotovitev bi lahko podkrepili z dejstvom, da majhne količine dodanega tanina ne vplivajo na mikrobno populacijo v silaži.

Dodatek kostanjevega tanina ni statistično značilno vplival na vsebnost očetne kisline v silažah iz vseh treh poskusov, čeprav so imele silaže iz tretjega poskusa največjo vsebnost očetne kisline. Vsebnost očetne kisline je bila največja v silaži, ki ji je bilo dodano 30 g kostanjevega ekstrakta na kg. Salawu in sod. (1999) ter Tabacco in sod. (2006) pa so dokazali, da dodatek taninov poveča vsebnost očetne kisline v travni oziroma lucernini silaži. Pri tem so ugotovili, da vsebujejo silaže pripravljene z večjimi količinami dodanih taninov manj očetne kisline kot silaže pripravljene z manjšim dodatkom taninov.

Vsebnost propionske in maslene kisline je bila v silazah iz vseh treh poskusov zelo majhna. Tudi razlike med silažami niso bile statistično značilne, čeprav se je vsebnost kislin zmanjševala z večjo koncentracijo dodanega tanina. Tudi Salawu in sod. (1999) so dokazali, da večja koncentracija dodanega ekstrakta kostanjevega tanina zmanjša tvorbo maslene kisline. Domnevajo, da dodatek taninov zmanjšuje pretvarjanje mlečne kisline v očetno kislino. Majhne vsebnosti maslene kisline naj bi bile posledica manjše aktivnosti klostridijev, ki so glavni proizvajalci te kisline v silazah (Salawu in sod., 1999).

Glede na vsa zgoraj navedena dejstva moramo poudariti, da so bile vse silaže pripravljene v optimalnih poskusnih pogojih. Vzorci so bili pripravljene v zelo majhnih količinah, tako da je bila silirna masa zelo dobro stisnjena, kar je zagotovilo anaerobne pogoje za dober potek fermentacije. Domnevamo, da bi v manj optimalnih pogojih siliranja tanini lahko bistveno bolj zmanjšali izgube beljakovin med procesom fermentacije.

Če bi hoteli učinek kostanjevih taninov na silažo bolje proučiti, bi morali zastaviti poskus, v katerem bi uporabili več različnih koncentracij v enem poskusu siliranja. Razlika pri uporabljenih koncentracijah bi morala biti v večjem razponu kot v naših treh poskusih. Tako bi zagotovili enoten silirni material in spremljali učinek več različnih koncentracij vodnega ekstrakta kostanjevega tanina. Rezultati bi bili med sabo bolj primerljivi. Ob vsem tem pa se pojavlja vprašanje kakovosti silaže ob dodatku večjih koncentracij taninov ob predpostavki, da več taninov zelo zniža tudi pH vrednost silaže. Dodajanje taninov ob siliranju v večje silose pa bi morali proučiti tudi iz ekonomskega vidika.

5.2 SKLEPI

Po opravljenih kemičnih analizah travnih silaž lahko iz dobljenih rezultatov sklepamo naslednje. Povečevanje koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka:

- ni vplivalo na vsebnost suhe snovi v silažah,
- je povzročilo zmanjšanje vsebnosti surovih beljakovin, surovih maščob in surove vlaknine v silažah,
- je povzročilo povečanje vsebnosti brezdušičnega izvlečka in vlaken netopnih v nevtralnem detergentu.

Majhne koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka so ugodno vplivale na vsebnost dušika v čistih beljakovinah, medtem ko večje koncentracije (7, 11, 15, 30 g/kg) niso vplivale.

Z večanjem koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka se je v silažah vsebnost topnega dušika in amonijskega dušika zmanjševala.

Vsebnost mlečne kisline v silažah se je s povečevanjem koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka zmanjševala.

Vsebnost očetne kisline, propionske in maslene kisline se v silažah s povečevanjem koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka ni značilno spreminjala.

pH vrednost silaž je bila najvišja v silažah iz drugega poskusa, zaradi dodatka sladkorja v silirno maso.

Razlike v kemični sestavi travnih silaž po dodatku izvlečka kostanjevega lesa so bile večje v silažah pripravljenih iz sveže trave.

6 POVZETEK

Tanini vplivajo na procese prebave in izkoriščanja hranilnih snovi. Kompleksi taninov in beljakovin ščitijo beljakovine pred razgradnjo v predželodcih prežvekovalcev. Ker le-ti kompleksi razpadejo v siriščniku, postanejo beljakovine dostopne encimski prebavi, prežvekovalce pa oskrbimo z dodatnimi aminokislinami. Zato se hranilna vrednost krme (silaže) z dodatkom taninov izboljša. Predvidevamo, da so s silažo v katero smo dodali izvleček taninov iz kostanjevega lesa prežvekovalci bolje oskrbljeni s presnovljivimi beljakovinami, kar zmanjša porabo dragih beljakovinskih krmil oziroma poveča prirejo mleka in mesa.

Namen diplomskega dela je bil proučiti kako večanje koncentracije vodnega izvlečka iz kostanjevega lesa vpliva na kemično sestavo travnih silaž.

Vpliv izvlečka kostanjevih taninov na kemično sestavo (kakovost) silaž smo preučevali v treh časovno ločenih poskusih. V prvem in drugem poskusu smo vzorce ovele trave prve košnje zbrali na travnikih farme Cerklje leta 2002 in leta 2003. V tretjem poskusu v letu 2005 pa smo na površinah farme Cerklje zbrali vzorce neovele trave.

Vzorce trave smo še isti dan obdelali z ekstraktom kostanjevega lesa – Farmatanom 75[®] (Tanin, Sevnica). V prvem poskusu smo uporabili različne koncentracije ekstrakta: 3, 7, 11 in 15 g/kg ovele trave, ki smo jih raztopili v destilirani vodi. V drugem poskusu smo uporabili koncentracije enakih vrednosti z razliko, da so bile preračunane na vsebnost surovih beljakovin v oveli silirni masi. Poleg tega smo silažam iz drugega poskusa dodali tudi 5 g sladkorja/kg silirne mase. V tretjem poskusu smo uporabili neovenelo pokošeno travo. Potrebno količino vodnega ekstrakta kostanjevega lesa smo preračunali na kg neovele trave. Uporabili smo tri različne koncentracije vodnega ekstrakta kostanjevega lesa (3, 15 in 30 g/kg neovele trave), ki smo ga pred nanašanjem na travo raztopili v destilirani vodi. Ovelo travo, pripravljeno z različnimi koncentracijami Farmatana, smo silirali v 5 l plastične posode. Vsak vzorec smo silirali v dveh ponovitvah. Posode smo zaprli s plastično folijo in pokrovom. Fermentacija je potekala 90 dni pri sobni temperaturi.

Po končanih fermentacijah smo silažo ob odprtju posod razdelili na dva dela. En del smo uporabili za ekstrakcijo silažnega soka, v katerem smo določili pH, amonijski dušik, mlečno, očetno, propionsko in masleno kislino. Drugi del pa smo posušili v sušilniku (od 103 do 105°C) in zmleli v kavnem mlinčku. V vsakem vzorcu smo po postopku Weendske analize določili vsebnost suhe snovi (SS), surovega pepela (SP), surovih beljakovin (SB), surove vlaknine (SV), surovih maščob (SM), brezdušičnega izvlečka (BDI) in vsebnost dušika (N) v čistih beljakovinah. Z detergentsko metodo po Van Soestu smo določili vsebnost vlaken, netopnih v nevtralnem detergentu (NDV).

Podatke smo obdelali s statističnim paketom SAS/STAT (2000). Za zagotovitev čim večjega števila opazovanj smo namesto povprečij dveh ponovitev vključili posamezne ponovitve. Za določitev statistično značilnih razlik v kemični sestavi travnih silaž smo v vseh treh poskusih uporabili enak statistični model, v katerega smo vključili kot sistematski vpliv koncentracijo izvlečka kostanjevega lesa.

Povečevanje koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka ni vplivalo na vsebnost suhe snovi v silažah. Povzročilo je zmanjšanje vsebnosti surovih beljakovin, surovih maščob in surove vlaknine v silažah ter povečanje vsebnosti brezdušičnega izvlečka in vlaken netopnih v nevtralnem detergentu.

Majhne koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka so vplivale na vsebnost dušika v čistih beljakovinah, medtem ko večje koncentracije (7, 11, 15, 30 g/ kg) niso vplivale. Z večanjem koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka se je vsebnost topnega dušika in amonijskega dušika zmanjševala.

Vsebnost mlečne kisline se je v silažah s povečevanjem koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka zmanjševala. Vsebnost očetne kisline, propionske in maslene kisline v silažah se s povečevanjem koncentracije izvlečka kostanjevega lesa kot silirnega dodatka ni značilno spreminjala. pH vrednost silaž je bila najvišja v silažah iz drugega poskusa, zaradi dodatka sladkorja v silirno maso.

7 VIRI

- Adesogan A.T., Salawu M.B. 2002. The effect of different additives on the fermentation quality, aerobic stability and *in vitro* digestibility of pea/wheat bi-crop silages containing contrasting pea to wheat ratios. *Grass and Forage Science*, 57, 1: 25-32
- Cavallarin L., Antoniazzi S., Borreani G., Tabacco E., Valente M.E. 2002. Effect of chestnut tannin on protein degradation in lucerne silages. V: Multi-function grasslands, Quality Forages, Animal Products and Landscapes. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation, La Rochelle, 27-30 maj 2002. Durand J.L., Emile J.C., Huyghe C., Lemaire G. (eds.). Versailles cedex, Association Française pour la Production Fourragère: 68-69
- Chung K.T., Wong T.W., Wei C.Y., Huang Y.Y., Lin Y.Y. 1998. Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38, 6: 421-464
- Farmatan – naraven izvleček pridobljen iz zdravega kostanjevega lesa. 2007. Tanin Sevnica. http://www.tanin.si/slo/04-01_farmatan.html (1. avg. 2007)
- Goering H.K., Van Soest P.J. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Handbook No. 379*. Washington, ARC USDA: 20 str.
- Grecs Z. 2007. Razširjenost pravega kostanja v Sloveniji. *Kmečki glas*, 64, 9: 8
- Guo X., Zhou H., Yu Z., Zhang Y. 2007. Changes in distribution of nitrogen and plant enzymatic activity during ensilage of lucerne treated with different additives. *Grass and Forage Science*, 62: 35-43
- Hagerman A.E., Butler L.G. 1991. Tannins and Lignins. V: *Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites*. Rosenthal G.A., Berenbaum M.R. (eds.). San Diego, Academic Press: 355-383

Henderson N. 1993. Silage additives. *Animal Feed Science and Technology*, 45: 35-56

Kotar M., Brus R. 1999. Naše drevesne vrste. Ljubljana, Slovenska matica: 320 str.

Kumar R., Singh M. 1984. Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32: 447-453

Lád F., Čermák B., Jančík F., Kadlec J. 2006. The influence of silage additives for qualitative parameters of clover-grass silages. *Journal of Central European Agriculture*, 7, 2: 313-318

Mangan J.L. 1988. Nutritional effects of tannins in Animal feeds. *Nutrition Research Reviews*, 1: 209-231

McSweeney C.S., Palmer B., McNeill D.M., Krause D.O. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 83-93

Official methods of analysis (AOAC). 1990. 15th edition. Helrich K. (ed.). Arlington, Association of official analytical chemists: 853 str.

Orešnik A. 1995. Pomen travne silaže v prehrani goveda. *Kmetovalec*, 63, 5: 35-36

Pentauer T. 1993. Leksikon rastlinskih bogastev. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 684 str.

Salawu M.B., Acamovic T., Stewart C.S., Hvelplund T., Weisbjerg M.R. 1999. The use of tannins as silage additives: effects on silage composition and mobile bag disappearance of dry matter and protein. *Animal Feed Science and Technology*, 82: 243 - 259

Santos G.T., Oliveira R.L., Petit H.V., Cecato U., Zeoula L.M., Rigolon L.P., Damasceno J.C., Branco A.F., Bett V. 2000. Short communication: Effect of tannic acid on composition and ruminal degradability of bermudagrass and alfalfa silages. *Journal of Dairy Science*, 83: 2016-2020

SAS/STAT User's Guide. 2000. Version 8. Vol. 2. Cary, SAS Institute

Schofield P., Mbugua D.M., Pell A.N. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 21-40

Silanikove N., Perevolotsky A., Provenza F.D. 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative post-ingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 69-81

Stekar J. 1999. Siliranje. Ljubljana, Kmečki glas: 150 str.

Tabacco E., Borreani G., Crovetto G.M., Galassi G., Colombo D., Cavallarin L. 2006. Effect of chestnut tannin on fermentation quality, proteolysis, and protein rumen degradability of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 89, 12: 4736–4746

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem:

mentorju doc. dr. Andreju Lavrenčiču za strokovno vodenje in svetovanje ob nastajanju dela, za spodbude, naklonjen čas, pregled dela in potrpežljivost,

recenzentu prof. dr. Andreju Orešniku in predsedniku komisije prof. dr. Juriju Poharju za pregled dela,

dr. Alenki Levart, g. Marku Kodra, ga. Anici Mušič za pomoč in nasvete pri izvedbi kemičnih analiz,

ga. Sabini Knehtl za vso prijaznost in pomoč.

Dr. Nataši Siard in ga. Karmeli Malinger se zahvaljujem za pregled diplomske naloge in izvlečka.

Nazadnje bi se rada zahvalila staršema, ki sta mi omogočila študij ter mi stala ob strani.

Hvala Klavdiju in mojima sončkoma Jaku in Ani za potrpežljivost, vzpodbudne besede in podporo skozi celoten študij.

Zahvala gre tudi moji dobri prijateljici Mojci za podporo, družbo in pomoč v času študijskih dni.

Iskreno se zahvaljujem tudi vsem neimenovanim za kakršnokoli pomoč v času študija in izdelavi diplomske naloge.