

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Janja ŠTIFTAR

**PRIMERJAVA POTEKA IN VITRO FERMENTACIJE  
RAZLIČNIH PEKTINOV OB UPORABI INOKULUMA  
IZ CEKOTROFOV IN IZ VSEBINE SLEPEGA  
ČREVEŠA KUNCEV**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2005

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Janja ŠTIFTAR

**PRIMERJAVA POTEKA *IN VITRO* FERMENTACIJE RAZLIČNIH  
PEKTINOV OB UPORABI INOKULUMA IZ CEKOTROFOV IN IZ  
VSEBINE SLEPEGA ČREVEESA KUNCEV**

DIPLOMSKO DELO  
Visokošolski strokovni študij

**COMPARISON OF *IN VITRO* FERMENTATION OF DIFFERENT  
PECTINS IN INOCULUM FROM CAECOTROPHS AND FROM THE  
CAECUM CONTENT OF RABBITS**

GRADUATION THESIS  
Higher Professional Studies

Ljubljana, 2005

Diplomsko delo je zaključek visokošolskega strokovnega 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 mentorico diplomskega dela imenovala v. p. mag. Ajdo Kermauner in za somentorja doc. dr. Andreja Lavrenčiča.

Recenzent: doc. dr. Janez Salobir

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Silvester ŽGUR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: v. p. mag. Ajda KERMAUNER  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

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

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

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Janja Štifter

## KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Vs
- DK UDK 636.92.084/.087(043.2)=863
- KG kunci/prehrana živali/*in vitro* plinski test/fermentacija/cekotrofi/inokulum cekotrofov/slepo črevo/vsebina slepega črevesa/pektini
- KK AGRIS L51/5600
- AV ŠTIFAR, Janja
- SA KERMAUNER, Ajda (mentor)/LAVRENČIČ, Andrej (somentor)
- KZ SI-1230 Domžale, Groblje 3
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- LI 2005
- IN PRIMERJAVA POTEKA *IN VITRO* FERMENTACIJE RAZLIČNIH PEKTINOV OB UPORABI INOKULUMA IZ CEKOTROFOV IN IZ VSEBINE SLEPEGA ČREVESA KUNCEV
- TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
- OP XIII, 31 str., 5 pregl., 4 sl., 26 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V poskusu smo želeli določiti kazalnike poteka tvorbe plina iz različnih pektinov. Uporabili smo *in vitro* plinski test za določanje razlik med fermentacijo pektinov v inokulumu iz vsebine slepega črevesa in v inokulumu iz cekotrofov. V različnih časih smo merili količine nastalega plina in potek fermentacije posameznega pektina ocenili z Gompertzovim modelom. Razlike v obsegu (kazalnik B) in največji hitrosti fermentacije (MFR) znotraj pektinov med inokuluma so bile vedno statistično značilne ( $p \leq 0,05$ ), medtem ko so bile razlike med TMFR (čas, ko je fermentacija dosežena) znotraj pektinov statistično značilne le pri fermentaciji nekaterih pektinov. Razlike v obsegu fermentacije (kazalnik B), največji hitrosti fermentacije (MFR) in času največje hitrosti fermentacije (TMFR) med obema inokuluma so najverjetneje posledica dolgega rokovanja s cekotrofi. V obeh inokulumih je bila fermentacija višja in intenzivnejša pri visoko metilnih pektinih kot pri nizko metilnih pektinih.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs

DC UDC 636.92.084/.087(043.2)=863

CX rabbits/animal nutrition/*in vitro* gas production/fermentation/caecotrophs/caecum inoculum/caecum content/pectins

CC AGRIS L51/5600

AU ŠTIFTAR Janja

AA KERMAUNER, Ajda (supervisor)/LAVRENČIČ, Andrej (co-supervisor)

PP SI-1230 Domžale, Groblje 3

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Zootechnical Department

PY 2005

TI COMPARISON OF *IN VITRO* FERMENTATION OF DIFFERENT PECTINS IN INOCULUM CAECOTROPHS AND FROM THE CAECUM CONTENT OF RABBITS

DT Graduation Thesis (Higher professional studies)

NO XIII, 31 p., 5 tab., 4 fig., 26 ref.

LA sl

AL sl/en

AB The objective of this study was to determine the parameters in the course of gas production from different pectins. We used *in vitro* gas test for the differences determined between the fermentation of pectins in inoculum of caecum content and in inoculum of caecotrophs. At different times we measured produced gas and the course of fermentation in a single pectin fitted with the Gompertz model. The differences between the size (parameter B) and the highest rate of fermentation (MFR) inside pectins between the inoculums were always statistically significant ( $p \leq 0,05$ ), while the differences between TMFR (time, when the highest fermentation was reached) were statistically significant only in the fermentation of some pectins. The differences in the size of fermentation (parameter B), the highest rate of fermentation (MFR) and the time, when the highest fermentation was reached TMFR were probably the consequences of long manipulation with the caecotrophs. In both inoculums the fermentation was the highest and more intense in high methoxyl pectins compared to the low methoxyl pectins.

## KAZALO VSEBINE

	Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	str. III
	Key words documentation (KWD)	IV
	Kazalo vsebine	V
	Kazalo preglednic	VII
	Kazalo slik	VIII
	Okrajšave in simboli	IX
<b>1</b>	<b>UVOD</b>	1
<b>2</b>	<b>PREGLED OBJAV</b>	2
2.1	PREBAVA PRI KUNCIH	2
2.1.1	Cekotrofija in cekofagija	3
2.1.2	Oblikovanje cekotrofov	4
2.1.3	Mikrobna aktivnost v slepem črevesu	4
2.1.4	Primerjava med cekotrofi in slepim črevesom	6
2.2	NEŠKROBNI POLISAHARIDI V PREHRANI KUNCEV	7
2.2.1	Pektini	8
2.3	METODA <i>IN VITRO</i> PLINSKEGA TESTA	11
<b>3</b>	<b>MATERIAL IN METODE</b>	13
3.1	ŽIVALI	13
3.2	PRIPRAVA INOKULUMA	13
3.3	VZORCI	14
3.4	POTEK POSKUSA	15
3.5	MERITVE IN IZRAČUNI	15
3.6	STATISTIČNA OBDELAVA	16

<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	17
4.1	FERMENTACIJA PEKTINOV V INOKULUMU IZ SLEPEGA ČREVESA	17
4.2	FERMENTACIJA PEKTINOV V INOKULUMU IZ CEKOTROFOV	19
4.3	PRIMERJAVA KAZALNIKOV FERMENTACIJE PEKTINOV V INOKULUMIH IZ SLEPEGA ČREVESA IN CEKOTROFOV	21
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	24
5.1	RAZPRAVA	24
5.2	SKLEPI	26
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	27
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	29
	<b>ZAHVALA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Kazalniki fermentacije pektinov v inokulumu, pripravljenem iz vsebine slepega črevesa.	17
Preglednica 2: Kazalniki fermentacije pektinov v inokulumu, pripravljenem iz cekotrofov.	19
Preglednica 3: Primerjava kazalnika B (količina sproščenega plina) fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa in cekotrofov.	21
Preglednica 4: Primerjava kazalnika MFR (največja hitrost fermentacije) fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa in cekotrofov.	22
Preglednica 5: Primerjava kazalnika TMFR (čas, ko je dosežena fermentacija) fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa in cekotrofov.	22



## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Sproščanje plina pri fermentaciji pektinov v inokulumu iz slepega črevesa.	18
Slika 2: Hitrost fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa.	18
Slika 3: Sproščanje plina pri fermentaciji pektinov v inokulumu iz cekotrofov.	20
Slika 4: Hitrost fermentacije pektinov v inokulumu iz cekotrofov.	20

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

HMK	hlapne maščobne kisline
HM	(high methoxyl) visoko metilni ester oz. visoko zaestreni pektini
LM	(low methoxyl) nižje metilni ester oz. nizko zaestreni pektini
SV	surove vlaknine
NŠP	neškrobni polisaharidi
SS	suha snov

## 1 UVOD

Zaradi kratkega zadrževalnega časa v slepem črevesu lahko pektini v prehrani kuncev igrajo ključno vlogo v uravnovešenem prebavnem procesu v slepem črevesu in s tem ugodno vplivajo na zdravje prebavil in živali. Za kunce je značilna majhna prostornina prebavil, visok nivo presnove in hiter prehod krme skozi prebavila. Njihova prehrana temelji na prebavi nestrukturnega dela krme, ločevanju delcev v debelem črevesu, cekotrofiji in cekofagiji. Cekofagija daje kuncem podobne možnosti za oskrbo s hranljivimi snovmi kot prežvekovalcem, tako izkoristijo mikrobne produkte prebave v slepem črevesu in mikrobno maso, ki jo v slepem črevesu ustvarjajo mikroorganizmi.

Cekotrofi se oblikujejo iz vsebine slepega črevesa, kjer je koncentracija mikroorganizmov zelo visoka. Fermentacijska aktivnost mikroflore v slepem črevesu igra glavno vlogo pri zdravju kunca, odvisna pa je od substrata, ki pride v slepo črevo.

V poskusu smo želeli primerjati fermentacijo različnih vrst pektinov ob uporabi dveh inokulumov: inokuluma, pripravljenega iz cekotrofov, in inokuluma, pripravljenega iz vsebine slepega črevesa.

Obe vrsti inokuluma smo dobili od klavno zrelih kuncev. Fermentacijo pektinov smo merili s pomočjo *in vitro* plinskega testa.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 PREBAVA PRI KUNCIIH

Kunci so rastlinojedi neprežvekovalci s povečanim slepim črevesom, v katerem poteka bogata mikrobna razgradnja. Poleg trdega blata tvorijo tudi mehko blato ali cekotrofe (proces cekotrofije), ki jih ponovno zaužijejo (cekofagija). Razgradni produkti in mikroorganizmi iz slepega črevesa se s pomočjo cekotrofije in cekofagije vračajo na začetek prebavnega sistema, kar poveča prebavljivost krme. Zaradi posebne strategije prehrane lahko kunci zauživajo velike količine voluminozne krme, svoje prehranske potrebe pa zadovoljujejo iz dobro prebavljivega dela krme. To jim omogoča mehanizem ločevanja velikih in majhnih delcev v debelem črevesu. Prebava pri kuncih poteka do konca tankega črevesa enako kot pri drugih neprežvekovalcih, razlike so le pri prebavi v slepem črevesu (Kermauner, 1994). Kunci lahko do konca tankega črevesa izkoristijo vse tiste hranljive snovi (škrob, beljakovine, maščobe), ki jih lahko izkoristijo neprežvekovalci. Prebavni sistem pri kuncu zavzema večji del trebušne votline in je skoraj popolnoma razvit pri 9 tednov starih živalih. Največja organa v prebavnem sistemu sta želodec in slepo črevo. Želodec ima tanko steno, mišičje je dobro razvito, vendar se hrana iz želodca pomika zaradi dodatnega pritiska krme ali cekotrofov, ki prihajajo v želodec (Standford, 1980, cit. po Kermauner, 1994). V tankem črevesu poteka glavna prebava in absorpcija hranljivih snovi. V tankem črevesu je enaka prebava kot pri drugih neprežvekovalcih. Slepno črevo je veliko in ima po vsej dolžini značilno spiralno gubo. Slepno črevo naseljujejo številni mikroorganizmi, ki s svojimi encimi razgrajujejo hranilne snovi, prispele v slepo črevo. Marty in sod. (1973, cit. po Kermauner, 1994) so ugotovili, da mikroorganizmi zelo vplivajo na fiziologijo slepega črevesa. Kot produkt mikrobne fermentacije v slepem črevesu nastajajo HMK, ki se vsrkajo skozi sluznico slepega črevesa in porabijo v presnovi kot vir energije. Pri funkciji debelega črevesa je posebno pomembno sodelovanje kolona pri ločevanju večjih in manjših delcev, kar je pogoj za tvorbo dveh vrst blata, trdega in mehkega. Nekateri avtorji (Griffiths in Davies, 1963, cit. po Kermauner, 1994; Henning in Hird, 1972, cit. po Kermauner, 1994) menijo, da je kolon odgovoren tudi za nastanek mukoznega ovoja cekotrofov.

### 2.1.1 Cekotrofija in cekofagija

Glavna značilnost fiziologije prebave kuncev je fenomen cekotrofije (nastajanje cekotrofov) in cekofagije (zauživanje cekotrofov) (Kermauner, 1994).

Kunci izločajo dve vrsti blata: trdo in mehko (cekotrofi), ki se zelo razlikujeta po kemijski sestavi. Mehkega blata ponavadi ne vidimo, ker ga kunec zaužije neposredno iz anusa (cekofagija), trdo blato pa pade na tla. Trdo blato ima višjo vsebnost surove vlaknine (SV) in nižjo vsebnost beljakovin, mikroorganizmov, vodotopnih snovi in vitaminov, medtem ko je sestava mehkega blata podobna vsebini slepega črevesa. Emaldi in sod. (1979, cit. po Kermauner, 1994) so ugotovili tudi primerljivo vsebnost mikroorganizmov v vsebini slepega črevesa in v mehkem blatu, medtem ko je v trdem blatu njihova vsebnost 10-krat manjša. Najmanj enkrat dnevno se iz debelega črevesa izločijo bobki trdega blata, čemur sledi krčenje slepega črevesa, ki iztiska svojo vsebino, obdano z želatinastim ovojem, v debelo črevo. To je t.i. mehko blato ali cekotrofi, sestavljeno iz skupka majhnih, temno obarvanih kroglic, obdanih s sluzjo. So proizvod slepega črevesa in vsebujejo delno prebavljene hranljive snovi, na katerih poteka mikrobna razgradnja, prav tako pa tudi precejšen delež bakterijske mase. Kunec zaužije cekotrofe neposredno iz anusa; tako produkti fermentacije v slepem črevesu pridejo na začetek prebavnega sistema in doprinesejo precejšen delež hranljivih snovi (Kermauner, 1994).

Zaradi cekofagije potujejo določeni delci večkrat skozi prebavni kanal, zato se zelo podaljša čas zadrževanja hranljivih snovi v prebavilih. Izločanje se začne že 3 do 5 ur po zaužitju krme, vendar zaradi cekofagije izločanje traja 3 do 7 dni. Cekofagija tudi močno vpliva na prebavljivost hranljivih snovi. Demaux in sod. (1980 - cit. po Kermauner, 1994) so pri kuncih, pri katerih so preprečili cekofagijo, ugotovili manjši prirast. Kunci začnejo s cekofagijo po 25. dnevu starosti, ko začno uživati predvsem trdo hrano (Alus in Edwards, 1977, cit. po Marounek in sod., 1999).

### **2.1.2 Oblikovanje cekotrofov**

Izločanje trdega in mehkega blata poteka v določenem cikličnem ritmu. Značilen vzorec izločanja blata pri kuncih je izločanje trdega blata podnevi z vrhom v času krmljenja in izločanje ter zauživanje mehkega blata (cekotrofija in cekofagija) ponoči, približno 4 ure po zadnjem obroku. Čas cekotrofije in cekofagije je uravnavan z zauživanjem krme, vendar nanj lahko vpliva tudi tehnologija reje in drugi dejavniki, saj je za cekofagijo nujno potrebno obdobje brez motenj. V prvih štirih urah po obroku se izloči 80 % trdega blata; takrat se začne oblikovanje in izločanje mehkega blata, hitro doseže vrh in traja 3 do 4 ure (Lang, 1981, cit. po Kermauner, 1994).

Včasih se 4 do 5 ur pozneje prične drugo obdobje cekotrofije. Pri krmljenju po volji je vzorec izločanja lahko deloma spremenjen, je pa vzorec izločanja odvisen tudi od starosti živali (Lang, 1981, cit. po Kermauner, 1994). Cekotrofi se oblikujejo iz vsebine slepega črevesa, na katero so nekaj ur učinkovali mikroorganizmi. Ponavadi se oblikovanje mehkega blata začne pod pritiskom vsebine, ki prihaja v slepo črevo. Izločanju trdega blata sledi močna kontrakcija slepega črevesa in proksimalnega kolona, ki sproži hiter prehod vsebine slepega črevesa skozi distalni kolon in rektum. Ruckebusch in Hornicke (1977, cit. po Kermauner, 1994) navajata, da je oblikovanje mehkega blata povezano z velikimi spremembami v delovanju slepega črevesa, kolona in njunega stičišča. Hkrati nastanejo tudi spremembe v presnovi, ki so opazne po krmljenju, predvsem se poveča tvorba hlapnih maščobnih kislin (HMK) v slepem črevesu. Možni »sprožilni« mehanizem izločanja mehkega blata je lahko izločanje trdega blata, ki poteka med krmljenjem (Kermauner, 1994).

### **2.1.3 Mikrobna aktivnost v slepem črevesu**

V slepem črevesu se nahaja številna mikrobna populacija. Mikroorganizmi s fermentiranjem krme tvorijo pline (ogljikov dioksid, metan), hlapne maščobne kisline in amine ter vitamine B kompleksa in vitamin K. S pomočjo cekofagije organizem dobi dodatne hranljive snovi, ki jih vsebujejo bakterije in njihovi presnovni produkti v mehkem

blatu. Mikroorganizmi se pojavijo v slepem črevesu šele po tretjem tednu starosti oz. po vzpostavitvi cekofagije (Kermauner, 1994).

Fermentacijska aktivnost v črevesu se med rastjo kuncev spreminja zaradi različne vsebnosti komponent krme (Candau in sod., 1978, cit. po Jehl in Gidenne, 1996; Bellier, 1994, cit. po Jehl in Gidenne, 1996). Fibrolitična aktivnost črevesne flore narašča s starostjo, še posebno med odstavitvijo, čemur je vzrok prehod na suho hrano oz. peletirano krmno mešanico (Marounek in sod., 1995, cit. po Gidenne in sod., 2002; Gidenne in sod., 2000, cit. po Gidenne in sod., 2002). Vlknina vpliva na mikrobno aktivnost, premalo vlaknine v prehrani pa upočasnjuje gibanje (peristaltiko) prebavnega trakta in zato se pojavijo prebavne motnje. Bakterijska fibrolitična aktivnost eksplozivno naraste pri kuncih, ki so stari 21 do 28 dni zaradi delovanja pektinaz, ksilanaz in celulaz (Gidenne in sod., 2002). Bennegadi in sod. (2003) so prav tako ugotovili, da se začnejo fibrolitični mikroorganizmi naseljevati v slepem črevesu šele po 15. dnevu starosti, ko kunci začnejo jesti trdo krmo. Tudi drugi avtorji so ugotovili, da fibrolitična aktivnost narašča s starostjo; pektinolitična je največja, sledi ji ksilanolitična tej pa celulolitična (Gidenne in sod., 2000, cit. po Gidenne in sod., 2002).

Gidenne in sod. (2002) so ugotovili, da je sposobnost mikroflora v slepem črevesu, da razkrajja celično steno (predvsem pektine in ksilane), ob odstavitvi že vzpostavljena in se s starostjo še spreminja. Fermentacijska aktivnost se razvija zelo progresivno še najmanj 2 tedna po odstavitvi. Vlknina vpliva na razvoj (na količino in kakovost) mikrobne aktivnosti pri mladih kuncih. To pomeni, da začetno vzdrževanje visoke kakovosti dobro prebavljive vlaknine doprinese k visoki fermentacijski aktivnosti že pri odstavitvi.

Slepo črevo je glavni organ, kjer poteka mikrobna aktivnost. Marounek in sod. (1995, cit. po Gidenne in sod., 2000) ter Jehl in sod. (1996, cit. po Gidenne in sod., 2000) so našli večjo aktivnost mikrobov pri razgradnji pektinov in hemiceluloze kot pri razgradnji celuloze. Boulahrouh in sod. (1991, cit. po Gidenne in sod., 2000) so prav tako našli manjše število celulolitičnih bakterij in večje število ksilanolitičnih in pektinolitičnih bakterij v slepem črevesu.

Marounek in sod. (1995, cit. po Gidenne in sod., 2000) so našli visoko pektinolitično aktivnost v slepem črevesu, ki je izvirala iz konzumiranja cekotrofov. Pektinolitična aktivnost v slepem črevesu je vplivala na fermentacijo hranljivih snovi in na pH (Gidenne, 2003).

Aktivnost črevesnih bakterij je najvišja pri pektinih in šele potem pri celulozi (Gidenne in sod., 2000, cit. po Gidenne, 2003). Uronske kisline prav tako pomembno vplivajo na fermentacijsko aktivnost (Garcia in sod., 2000, cit. po Gidenne, 2003) in na pH vsebine črevesa (Garcia in sod., 2001, cit. po Gidenne, 2003). Zaradi tega je številčnost pektinolitične flore ( $10^8 - 10^9$  CFU/g) v primerjavi s celulolitično floro ( $10^6 - 10^7$  CFU/g) večja (Forsythe in Parker, 1985, cit. po Gidenne, 2003; Boulahrouf in sod., 1991, cit. po Gidenne, 2003; Sirotek in sod., 2001, cit. po Gidenne, 2003). Zadrževalni čas krme v slepem črevesu je zelo kratek, Gidenne in sod. (2000, 2004a) navajajo okoli 10 ur. V tako kratkem času pa lahko na fermentacijsko aktivnost vplivajo le tiste snovi, ki se hitro razkrajajo, npr. pektinske snovi (Gidenne in sod., 2000, 2004a).

#### **2.1.4 Primerjava med cekotrofi in slepim črevesom**

Mehko blato (cekotrofi) se oblikuje iz vsebine slepega črevesa in je zato podobne sestave kot vsebina slepega črevesa. Oba vsebujeta največ surovih beljakovin, ki jim sledita surovi pepel in surova vlaknina, najmanj pa vsebujeta maščob. Ugotovljeno je bilo tudi, da je število mikroorganizmov v vsebini slepega črevesa primerljivo z njihovim številom v vsebini mehkega blata. Cekotrofi so pravzaprav vsebina slepega črevesa, obdana z mukoznim ovojem (Kermauner, 1994).

Kunec pogoltne cekotrofe cele, v želodcu se 6 do 8 ur ne mešajo z drugo vsebino, končno pa so podvrženi razgradnji in celotnemu procesu prebave. Delež ponovno zaužitih hranljivih snovi s pomočjo cekofagije je precejšen, dnevno kunec zaužije 50 do 80 % vsega izločenega blata. Tako se zamenja 20 % vsebine slepega črevesa (Lebas, 1984, cit. po Kermauner, 1994). Po zaužitju cekotrofi ostanejo v želodcu nedotaknjeni približno 6 ur. Bakterije v vsakem cekotrofu nadaljujejo s fermentacijo ogljikovih hidratov v mlečno kislino, dokler se mukozni ovoj ne razgradi in je celotna vsebina cekotrofa podvržena



nadaljni prebavi (Griffiths in Davies, 1963, cit. po Kermauner, 1994; Hornicke in Mackiewicz, 1977, cit. po Kermauner, 1994). Jehl in sod. (1996, cit. po Gidenne in sod., 2002) so ugotovili, da je ocena fibrolitične aktivnosti enaka, če jo določamo v slepem črevesu ali v cekotrofih.

## 2.2 NEŠKROBNI POLISAHARIDI V PREHRANI KUNCEV

V krmi rastlinskega izvora je veliko polisaharidov in drugih snovi (lignin, suberin, kutin, gume...), ki jih organizem sam s svojimi encimi v prebavilih ne more razgraditi. Praviloma so te snovi sestavni del stene rastlinske celice. Opisujemo jih z izrazom neškrobni polisaharidi (NŠP), strukturni ogljikovi hidrati oz. vlaknina. Nekatere živalske vrste, predvsem rastlinojede, lahko te snovi izkoriščajo, ker se je njihov prebavni sistem evolucijsko prilagajal v naravi dostopnim hranljivim snovem. Poleg kemične prebave v želodcu in tankem črevesu so se prebavila razvila tako, da v predželodcih in v debelem črevesu poteka proces prebave s pomočjo mikroorganizmov. Mikroorganizmi v prebavilih izločajo v prebavno okolje encime, s katerimi lahko cepijo strukturne vezi med molekulami monosaharidov v neškrobnih polisaharidih. Tako pridobljene monosaharide izkoriščajo mikroorganizmi v svoji presnovi, izločajo pa HMK, pline (ogljikov dioksid, metan) in vodo. Vlaknino pa poleg ogljikovih hidratov sestavljajo tudi druge snovi, ki tudi s pomočjo mikroorganizmov niso prebavljive, nekatere od njih pa imajo celo antinutritivni učinek. Poleg kemijskih oz. biokemijskih lastnosti so v prehrani pomembne tudi fizikalne: volumen, čvrstost, lomljivost, elastičnost in velikost delcev krme. Ravno te fizikalne lastnosti so posebna značilnost vlaknine in omogočajo normalen potek mehničnega dela prebave (Orešnik in Lavrenčič, 1999).

NŠP tvorijo osnovo celičnih sten v rastlinah. Delimo jih na v vodi topne in netopne NŠP, vloga oz. učinki obeh vrst v prebavi pa so različni. Netopni otežujejo dostop prebavnim encimom do hranljivih snovi celične vsebine predvsem do škroba in beljakovin. Del teh snovi se zato ne prebavi v tankem črevesu, ampak se sploh ne prebavi oz. se prebavi šele pod vplivom mikroorganizmov v debelem črevesu. Vendar je mikrobna razgradnja hranljivih snovi, ki se zaradi tega v tankem črevesu ne prebavijo dovolj, nezaželena, saj lahko poslabša izkoriščanje energije in hranljivih snovi ter ustvari ugodnejše pogoje za

razvoj tudi patogenih mikroorganizmov. Razgradnja NŠP je torej odvisna od učinkovitosti mikrobne fermentacije. Topni NŠP imajo veliko sposobnost za vezanje vode in na ta način naredijo črevesno vsebino zelo viskozno, zato jih imenujemo »gel-forming polisaccharides« (Salobir, 1994).

Med NŠP uvrščamo celulozo, pektinske snovi, hemiceluloze in inulin. Del pektinov, pa tudi drugih NŠP, se pri kuncih prebavi v tankem črevesu. Marounek in sod. (1995) so našli visoko pektinolitično aktivnost v želodcu, ki je izvirala iz cekotrofov. De Blas in sod. (1999) so izmerili, da se 50 % prebavljivih pektinskih snovi prebavi pred slepim črevesom. To je posebno pomembno, saj je zadrževalni čas HS v slepem črevesu kratek, le 9 do 10 ur (Gidenne in sod., 2000). Zdi se tudi, da krma z večjo vsebnostjo pektinov stimulira dozorevanje mikrobov (Gidenne in sod., 2004b). Glavni substrati za črevesne mikroorganizme so prav pektini (Marounek in sod., 1997). Večina rodov bifidobakterije fermentira pektine. Ena izmed vrst bifidobakterije, *B. pseudolongum* izkoristi kar 76 % pektina (Slovakova in sod., 2002).

Najhitreje fermentacija poteče pri pektinih (Gidenne in sod., 2004a). Pektini fermentirajo hitreje kot drugi substrati in fermentacija verjetno dosega največji volumen plina zaradi ogljikovega dioksida, ki nastaja pri dekarboksilaciji uronatov (Marounek in sod., 1997).

### **2.2.1 Pektini**

Osnovni gradbeni element pektinov so D-galakturonske kisline, ki so med seboj povezane z alfa-1-4-glikozidnimi vezmi. Na ta način nastanejo poligalakturonske kisline, če pa se med le-te »vrinejo« še enote ramnoze, dobimo ramnogalakturonske kisline. Na poligalakturonske kisline se vežejo metoksi in acetilne skupine, na ramnogalakturonske kisline pa galaktani, arabinani in arabinogalaktani, ki predstavljajo stranske verige (Hatfield, 1989).

Pektine klasificiramo glede na stopnjo esterifikacije, ta pa je potrjena na osnovi infrardečega spektra pektinov (Kasperowicz, 1994). S prehranskega vidika pa je stopnja esterifikacije pomembna zato, ker vpliva na topnost, viskoznost vsebine črevesa in na

prebavljivost. Pektini so zaestreni predvsem z metoksi skupino, zato uporabljamo tudi izraz stopnja metoksilacije.

Pektini, ki imajo več kot 50 % galakturonskih verig zaestrenih z metoksi in acetilno skupino, se imenujejo visoko zaestreni (HM), nizko zaestreni pektini (LM) pa imajo esterificiranih manj kot 50 % galakturonskih verig (Genu pectin, 2005). Nizko zaestreni pektini v prisotnosti Ca ionov in pri nizki pH vrednosti tvorijo termopovratne gele, medtem ko visoko zaestreni pektini tvorijo gele pri pH vrednosti, ki je večja od 3,5 in v prisotnosti sladkorjev v kislem okolju (Enzymatic..., 2005). LM pektini se nahajajo v preveč zrelih breskvah, jagodah, češnjah, borovnicah, marelicah, HM pektine pa najdemo v zrelih in nezrelih jabolkih, slivah, rdečem ribezu... (Zdrava i potpuna, 2005).

Kalcijevi ioni povečujejo viskoznost pektinskih snovi. LM pektini lahko želirajo tudi, če je kalcija več, kot ga je potrebno. Tudi pH vpliva na viskoznost pektinskih snovi. Viskoznost je potrebno določiti v pektinskih snoveh brez kalcija in pri pH vrednosti 4 (Genu pectin, 2005).

Žele nastane z združevanjem segmentov verig molekul ob pomoči kristalizacije, pri kateri se tvori tridimenzionalna mreža s pomočjo vode in sladkorja. Od začetka pa do nastanka želatine, ko so polimeri dokončno raztopljeni, pri tem pomagajo fizikalni in kemijski dejavniki. Najpomembnejši so: temperatura, molekularna sestava pektina oz. tip, pH, prisotnost sladkorja, vode in kalcijevih ionov (Genu pectin, 2005).

Vsebnost pektinov v sadju je odvisna od zrelosti plodov. Tisto sadje, ki vsebuje dovolj pektinov, uporabljajo pri dietnih terapijah. Pektini niso topni v hladni vodi, vendar močno nabreknejo in tvorijo želeje. Uporabljamo jih kot sredstvo za želiranje marmelad in pri pripravi slaščic. Največ pektinov je v kutinah in nezrelih jabolkih, nahajajo pa se tudi v koreninah, listih, zelenih delih rastlinskih stebel (Zdrava i potpuna, 2005).

Količina in sestava pektinov, ki jih vsebuje rastlinski material, zelo variira in se spreminja od rastline do rastline. Agrumi in jabolka so glavna sestavina pri izdelovanju komercialnih pektinov. Citrus pektini izhajajo iz lupine limone in limete, manj iz pomaranče. Pektini, ki se nahajajo v lupini citrusov, so najbolj zaželjeni v prehrani ljudi. Med vsemi pektini so

citrus pektini najbolj uporabni in koristni za črevesne bakterije. Pri citrus pektinih so odkrili ogromno dobrih lastnosti: znižujejo holesterol v krvi, zavirajo razvoj tumorjev, izboljšujejo delovanje črevesnega trakta, vežejo težke kovine in tako pomagajo pri odstranitvi toksičnih snovi iz telesa, pomagajo pri absorpciji mineralov in v telesu zadržujejo beta-karoten (Gardiner, 2000). Pektini ugodno delujejo tudi v prebavilih kuncev, saj povečujejo fermentacijsko aktivnost črevesnih mikroorganizmov in s tem tudi produkcijo biomase, kar vpliva na zdravje kuncev (Jehl in Gidenne, 1996).

Jabolčna mezga, ki je produkt stiskanja jabolk, je surovina za komercialne jabolčne pektine. Ti so naravno temnejši kot citrus pektini, vendar pa se v funkcionalnosti od njih ne razlikujejo (Genu pectin, 2005).

Pektine so na splošno prepoznali za varne in pozitivne snovi, ki jih lahko neposredno dajemo v hrano za ljudi (Gardiner, 2000), uporabljajo pa jih tudi v kozmetični industriji in farmaciji (Zdrava i potpuna, 2005). Pektini so zelo pomembni tudi za kunce, ker imajo veliko vlogo pri njihovi prebavi, aktivnosti mikrobov in zdravju (Gidenne in sod., 2004b).

Pektini se v rastlinah nahajajo v celični steni in imajo vlogo »lepila« ter tako držijo rastlinske celice skupaj. Glavni vir pektinov za prehrano kuncev se nahaja v pesnih rezancih in lucerni. Pesni rezanci vsebujejo okrog 25 % v vodi netopnih pektinov in do 10 % v vodi topnih pektinov. Lucerna vsebuje okrog 10 % pektinov (Gidenne, 2003).

Gidenne in sod. (2000) so ugotovili, da zaradi kratkega zadrževalnega časa v slepem črevesu, pektini lahko v prehrani kuncev igrajo ključno vlogo v uravnovešenem prebavnem procesu v slepem črevesu in s tem ugodno vplivajo na zdravje prebavil in živali. Pomanjkanje prebavljive vlaknine (pektini in hemiceluloze) je namreč zmanjšalo mikrobovo fermentacijo v slepem črevesu in s tem povečalo pojavljanje prebavnih motenj (Gidenne in sod., 2000). Podobno sta Jehl in Gidenne (1996) izmerila povečano fermentacijsko aktivnost in večjo tvorbo mikrobne biomase v slepem črevesu pri krmi z večjo količino prebavljive vlaknine. Dodatek prebavljive vlaknine (pektini in hemiceluloze) iz pesnih rezancev je skrajšal zadrževalni čas v slepem črevesu, stimuliral vzpostavitev mikrobne aktivnosti in zmanjšal pojavljanje drisk (Gidenne in sod., 2004a). Ugoden vpliv prebavljive

vlaknine pa ni bil tako dobro izražen, če so namesto pesnih rezancev kot vira pektinov uporabili citrusovo pulpo (Gidenne in sod., 2004b).

Kasperowicz (1994) je v svojem poskusu primerjala oz. ocenjevala izkoristek citrusovih, jabolčnih in pesnih pektinov v vampu prežvekovalcev. Ugotovila je, da so se citrus pektini najbolj izkoristili, izkoristek jabolčnih in pesnih pektinov pa je bil odvisen od vrste bakterij. Največ poligalakturonskih kislin je imel citrusov pektin (98,4 %), nato pesin 70,4 % in jabolčni 49,1 %. Stopnja esterifikacije poligalakturonskih skupin je bila najvišja pri citrusovem, nato pri pesinem in jabolčnem. Pri končnih produktih fermentacije pektinov so bile največje razlike v vsebnosti očetne kisline. Največ očetne kisline se je tvorilo ob fermentaciji citrusovega, najmanj pa pri fermentaciji jabolčnega pektina. Analize infrardečega spektra so pokazale, da je pesin pektin zelo podoben citrusovemu glede (vrste, količine, razporeditve...) esterificiranih skupin v poligalakturonskih verigah. Jabolčni pektini vsebujejo malo poligalakturonskih skupin in so slabo topni. Glavni produkt fermentacije pektinov je očetna kislina (Dehority, 1969, cit. po Kasperowicz, 1994; Marounek in sod., 1985, cit. po Kasperowicz, 1994) in mešane kulture vampnih mikroorganizmov proizvedejo več očetne kisline in pektine bolje izkoristijo kot ena sama oz. čista kultura (Kasperowicz, 1994).

### 2.3 METODA *IN VITRO* PLINSKEGA TESTA

Med *in vitro* metode spada tudi hohenheimski plinski test, ki temelji na inkubacijah vzorcev v vampnem soku (Babnik in sod., 2002).

Najprej so *in vitro* plinski test uporabljali le za prežvekovalce, pozneje pa se je izkazalo, da je metoda uporabna tudi za druge vrste živali. Tako so začeli uporabljati to metodo tudi pri kuncih. Ta metoda omogoča meritve kumulativnega plina, ki nastane pri fermentaciji substrata (Calabro in sod., 1999).

Za oceno fermentacije v slepem črevesu pri kuncih lahko uporabimo enako *in vitro* tehniko, le da za inokulum izberemo vsebino slepega črevesa kunca. Izvajanje plinskega testa poteka tako, da vzorec krmila inkubiramo v inokulumu iz slepega črevesa določen čas

in merimo tvorbo plina. Ta tehnika nam tako lahko daje informacije o obsegu kot tudi o kinetiki fermentacijskih procesov, o hitrosti fermentacije in času, v katerem je dosežena največja hitrost fermentacije, lahko pa tudi o dinamiki tvorbe HMK. Poleg tega je uporabna tudi za ugotavljanje hranilne vrednosti krme za kunce, vendar pa še ni standardizirana (Calabro in sod., 1999).

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 ŽIVALI

V poskusu smo uporabili približno 78 dni stare kunce, se pravi, da so bili v klavni starosti. Živali smo pred klanjem stehali. Za pripravo inokuluma iz slepega črevesa smo žrtvovali 2 živali in jima takoj po zakolu vzeli drobovino iz trebušne votline. Slepo črevo smo ločili od ostalega prebavnega trakta, še prej pa smo ga prevezali z vrvico na vhodu iz tankega in na vhodu v debelo črevo, da se vsebina ne bi izlila. V posodi z vodo, ogreto na 39 stopinj, smo slepi črevesi odnesli v laboratorij. Za pripravo inokuluma iz cekotrofov smo živali žrtvovali v fazi cekotrofije. Po zakolu smo vzeli drobovino iz trebušne votline. Cekotrofe smo našli v zadnjem delu rektuma ali v anusu in jih v posodi z vodo, ogreto na 39 stopinj, odnesli v laboratorij.

#### 3.2 PRIPRAVA INOKULUMA

Inokuluma z mikroorganizmi, ki smo ju uporabili v poskusu, smo dobili iz slepega črevesa in cekotrofov. Oba inokuluma smo pripravili po istem postopku. Vsebino slepih čreves oz. rektumov smo nežno iztisnili v predhodno ogreto in s CO<sub>2</sub> preprihovano čašo in premešali s paličico, da smo cekotrofe razbili. Manjšo čašo z delom pufra, ki smo ga pripravili, kot to opisujeta Menke in Steingass (1988), smo ves čas preprihovali s CO<sub>2</sub> in vanjo zatehtali vsebino slepega črevesa oz. cekotrofe, tako da smo dosegli razmerje 1:50 med maso inokuluma in prostornino pufra. S paličico smo razbili skupke in homogenizirano vsebino prefiltrirali skozi dve plasti gaze v steklenico s pufrom, ki smo ji predhodno dodali še redukcijsko raztopino. Redukcijska raztopina se je najprej obarvala rdeče, potem pa se je razbarvala. Tako pripravljen inokulum smo preprihovali s CO<sub>2</sub> še okoli 15 minut pod pritiskom 1 bara. Ko je bil inokulum dobro premešan, smo napolnili brizgalke (30 ml), v katere smo že prej zatehtali posamezne substrate.

### 3.3 VZORCI

Uporabili smo tri vrste pektinov (jabolčni, citrusov in pesin) štirih različnih proizvajalcev (Herbstreith & Fox, CP Kelco, Sigma Aldrich, Obipektin). Vse vzorce smo zatehtali v brizgalke v treh paralelkah. Za korekcijo smo uporabili prazne brizgalke, torej brizgalke brez substrata (slepi vzorec).

Pektine smo označili glede na lastnosti: prva črka označuje vrsto pektina (P je pesni, J je jabolčni, C je citrusov), naslednji dve črki pa stopnjo zaestrenosti (LM je nizko zaestren pektin; HM je visoko zaestren, nad 50 %), zadnja črka pa označuje proizvajalca (H je Herbstreith & Fox, K je CP Kelco, S je Sigma Aldrich, O je Obipektin). Pektini so bili naslednji:

**J LM H:** jabolčni, CLASSIC AU 701 (Apple Pectin), stopnja esterifikacije: 36 do 44 %, Herbstreith & Fox

**C LM K:** citrus, Citrus (Genu) Pectin LM 5 CS, nizko zaestren, CP Kelco

**P HM H:** pesin, CLASSIC RU 301 (Beet Pectin), stopnja esterifikacije: >50 %, Herbstreith & Fox,

**P HM K:** pesin, Beet (Genu) Pectin, stopnja esterifikacije: >50 %, CP Kelco

**C HM K:** citrus, Citrus (Genu) Pectin 150 USA-SAG, visoko zaestren, CP Kelco

**C HM O:** citrus, Green Ribbon 150 VS-SAG Citrus, stopnja esterifikacije: 62 %, Obipektin

**J HM H:** jabolčni, CLASSIC AU 201 USP (Apple Pectin), stopnja esterifikacije: 68 do 78 %, Herbstreith & Fox

**J -- S:** jabolčni, Apple pectin, Sigma Aldrich



Kot standardno krmilo smo uporabili seno mnogocvetne ljuljke. Z njim smo korigirali količine sproščenega plina zaradi inkubacije v različnih saržah.

### 3.4 POTEK POSKUSA

Pred pričetkom poskusa smo zatehtali okoli 175 mg vzorca v vsako brizgalko. Pripravili smo tudi pufer brez redukcijske raztopine. Z inokulumom, katerega priprava je bila že opisana v poglavju 3.2, smo napolnili brizgalke (30 ml) ter jih postavili v vodno kopel s temperaturo  $39 (\pm 0,5) ^\circ\text{C}$ .

### 3.5 MERITVE IN IZRAČUNI

Prostornino v inkubaciji nastalega plina smo merili v naslednjih časih: 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 in 96 ur. Dobljene količine plina smo korigirali na vsebnost SS v vzorcu in količino (prostornino) plina, nastalega pri inkubaciji slepega vzorca. Količino sproščenega plina smo preračunali v ml na g SS vzorca.

Potek fermentacije SS posameznih substratov smo ocenili z Gompertzovim modelom (Lavrenčič in sod., 1998):

$$Y(t) = Be^{-Ce^{-At}}$$

$Y(t)$  = količina plina (ml), sproščena ob fermentaciji substrata v času  $t$

$B$  = količina sproščenega plina (ml)

$C$  = specifična hitrost fermentacije, na katero vpliva konstanta  $A$ , ki je

$A$  = faktor mikrobne (ne)učinkovitosti

Z dobljenimi parametri ( $A$ ,  $B$  in  $C$ ) smo izračunali potek (kinetiko) hitrosti fermentacije ( $I$ ).  
odvod funkcije po času):

$$\frac{dY}{dt} = ABCe^{-At} e^{-Ce^{-At}}$$

Čas, ko je bila dosežena največja hitrost fermentacije (TMFR; ure), smo izračunali s pomočjo II. odvoda Gompertzove enačbe, ki smo ga izenačili z 0 in poiskali rešitev glede na čas.

$$\frac{d^2Y}{dt^2} = AB^2C^2(e^{-At})^2 e^{-Ce^{-At}} - ABC^2 e^{-Ce^{-At}}$$

Dobljeni TMFR smo vstavili v I. odvod funkcije in izračunali največjo hitrost fermentacije (MFR; ml/h).

### 3.6 STATISTIČNA OBDELAVA

Primerjali smo razlike med substrati znotraj posameznega inokuluma, prav tako pa smo primerjali tudi razlike med inokuluma znotraj posameznega substrata. Vse razlike smo testirali s Tukeyevim studentiziranim testom obsegov (PROC GLM Tukey Studentized range test), SAS (2001).

## 4 REZULTATI

### 4.1 FERMENTACIJA PEKTINOV V INOKULUMU IZ SLEPEGA ČREVEESA

Preglednica 1: Kazalniki fermentacije pektinov v inokulumu, pripravljenem iz vsebine slepega črevesa (povprečje).

<i>Kazalnik</i>	<i>B</i> (ml/g)	<i>C</i> (ml/g)	<i>A</i> (ml/g)	<i>MFR</i> (ml/h)	<i>TMFR</i> (h)
J LM H	333 <sup>b</sup>	3,59 <sup>c,d</sup>	0,182 <sup>b</sup>	22,3 <sup>d</sup>	7,0 <sup>c</sup>
C LM K	289 <sup>c</sup>	2,62 <sup>d</sup>	0,093 <sup>c</sup>	9,9 <sup>e</sup>	10,3 <sup>a</sup>
P HM H	341 <sup>b</sup>	5,76 <sup>a</sup>	0,260 <sup>a</sup>	32,6 <sup>a,b</sup>	6,7 <sup>c</sup>
P HM K	339 <sup>b</sup>	5,45 <sup>a,b</sup>	0,261 <sup>a</sup>	32,4 <sup>a,b</sup>	6,5 <sup>c</sup>
C HM K	376 <sup>a</sup>	4,54 <sup>a,b,c</sup>	0,250 <sup>a</sup>	34,6 <sup>a</sup>	6,0 <sup>c</sup>
C HM O	356 <sup>a,b</sup>	4,38 <sup>b,c</sup>	0,245 <sup>a</sup>	32,1 <sup>b</sup>	6,0 <sup>c</sup>
J HM H	369 <sup>a</sup>	3,86 <sup>c,d</sup>	0,196 <sup>b</sup>	26,6 <sup>c</sup>	6,9 <sup>c</sup>
J -- S	337 <sup>b</sup>	5,41 <sup>a,b</sup>	0,197 <sup>b</sup>	24,3 <sup>c,d</sup>	8,7 <sup>b</sup>

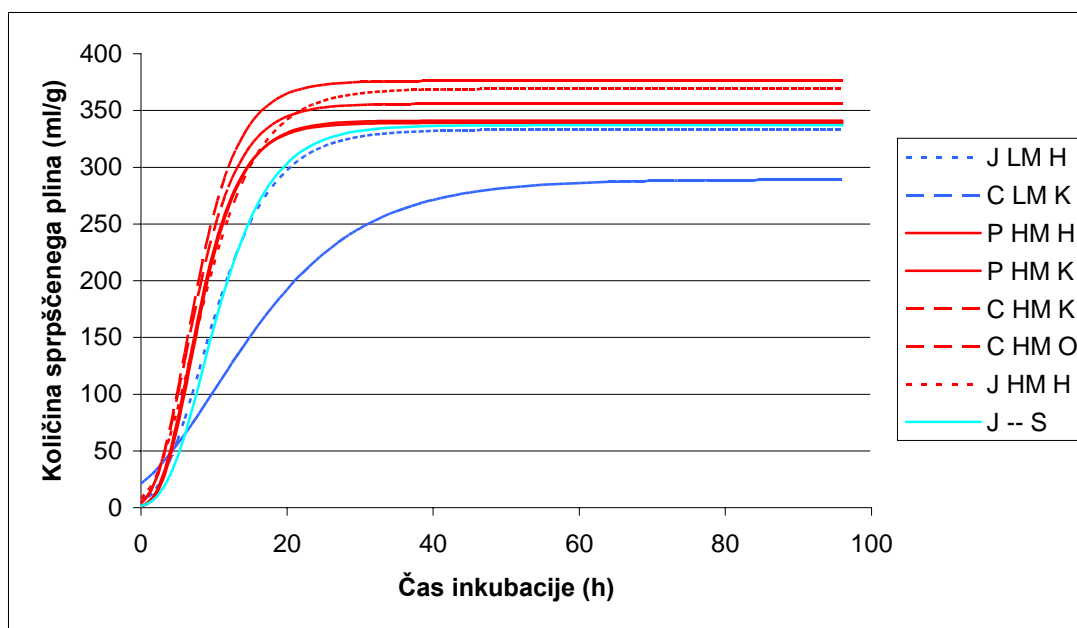
<sup>a,b,c,d,e</sup> vrednosti v stolpcih znotraj posameznega kazalnika, ki so označene z različnimi črkami, se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ )

Legenda: B = količina sproščenega plina, C = specifična hitrost fermentacije, A = faktor mikrobne (ne)učinkovitosti, MFR = največja hitrost fermentacije, TMFR = čas, v katerem je bila dosežena fermentacija

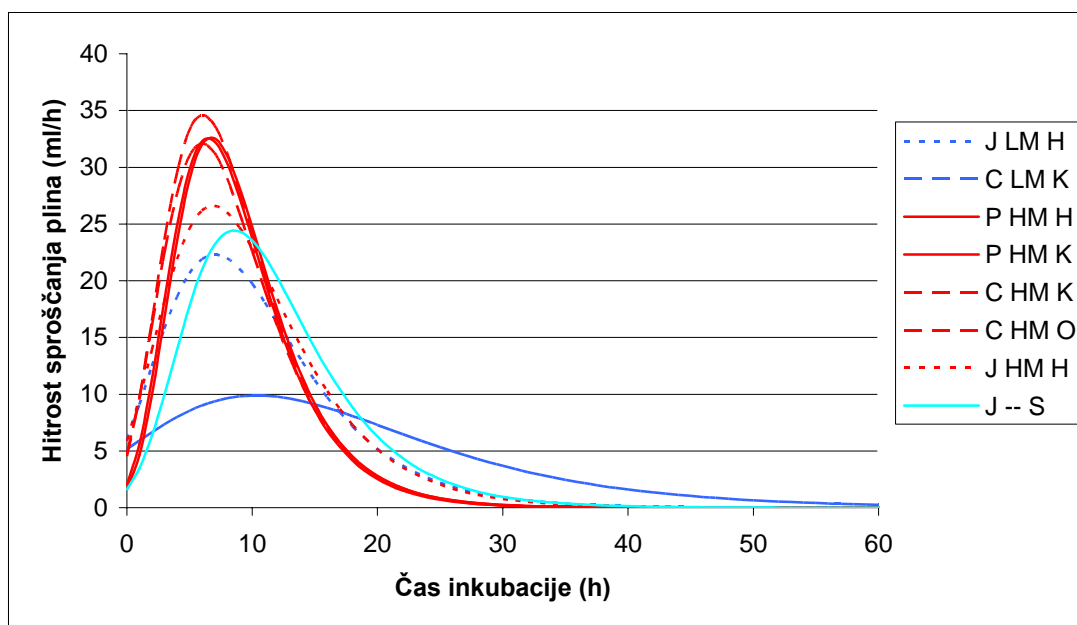
Iz preglednice 1, v kateri so prikazani kazalniki fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa, lahko razberemo, da se je več plina tvorilo (parameter B) iz HM pektinov kot iz LM: iz obeh citrusovih HM pektinov 376 ml/g SS in 356 ml/g SS in pri jabolčnem 369 ml/g, medtem, ko se je iz LM pektinov sprostil največ 333 ml plina na g SS. Specifična hitrost fermentacije (C) je bila večja pri HM pektinih, še posebno pri obeh pesinih (5,76 oz. 5,45 ml/g), kot pri LM pektinih (2,62 oz. 3,59 pri C LM K in J LM H). Učinkovitost mikrobne razgradnje (A) je bila prav tako večja pri HM pektinih, pri obeh pesinih (0,260 oz. 0,261), medtem ko je bila pri LM pektinih manjša (0,093 oz. 0,182 pri C LM K in J LM H). Najhitreje (MFR) so fermentirali HM pektini (citrusov 34,6 ml/h), dokaj velika je pa bila tudi pri jabolčnih HM pektinih, najmanjšo hitrost smo izračunali pri citrusovem LM pektinu (9,9 ml/h) in je tudi zelo odstopala od drugih. Čas, v katerem je bila dosežena največja hitrost fermentacije (TMFR), je bil krajši pri HM pektinih kot pri

LM pektinih. Najkrajši TMFR sta imela oba citrusova pektina (6,0 h). Razlike med kazalniki fermentacije so bile statistično značilne pri večini substratov.

Iz podatkov iz preglednice 1 smo narisali kumulativne krivulje poteka *in vitro* fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa (slika 1) in krivuljo hitrosti fermentacije (slika 2).



Slika 1: Sproščanje plina pri fermentaciji pektinov v inokulumu iz slepega črevesa. (okrajšave pektinov so razložene na str. 14)



Slika 2: Hitrost fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa. (okrajšave pektinov so razložene na str. 14)

## 4.2 FERMENTACIJA PEKTINOV V INOKULUMU IZ CEKOTROFOV

Preglednica 2: Kazalniki fermentacije pektinov v inokulumu, pripravljenem iz cekotrofov (povprečje).

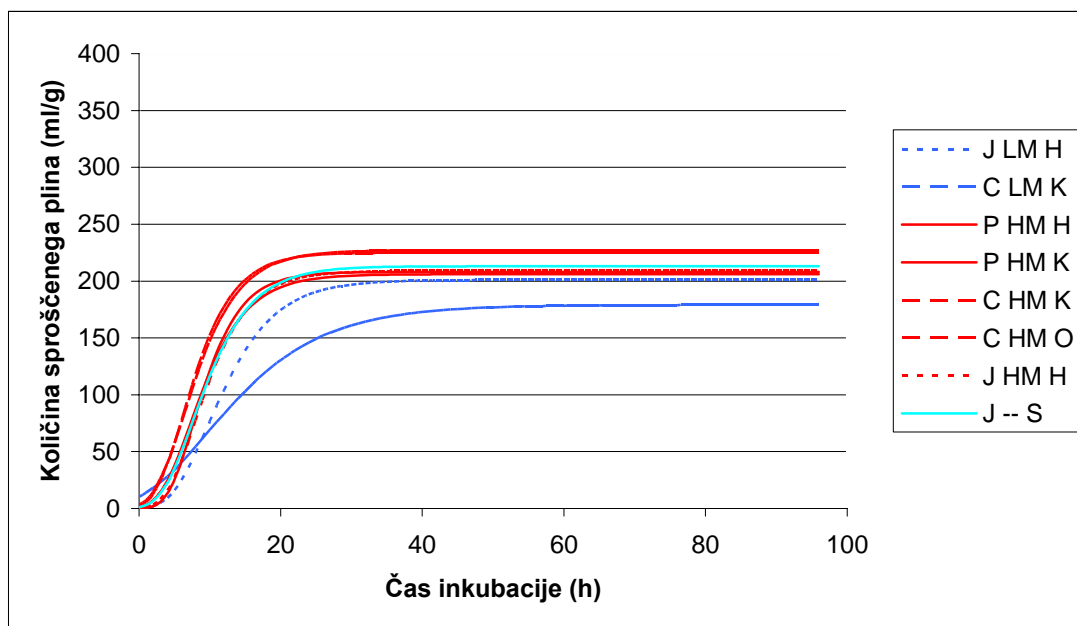
<i>Kazalnik</i>	<i>B</i> (ml/g)	<i>C</i> (ml/g)	<i>A</i> (ml/g)	<i>MFR</i> (ml/h)	<i>TMFR</i> (h)
J LM H	201 <sup>c</sup>	5,45 <sup>a,b</sup>	0,192 <sup>c</sup>	14,2 <sup>c</sup>	9,0 <sup>a</sup>
C LM K	179 <sup>d</sup>	2,87 <sup>b</sup>	0,110 <sup>d</sup>	7,2 <sup>d</sup>	9,6 <sup>a</sup>
P HM H	208 <sup>b,c</sup>	8,08 <sup>a</sup>	0,270 <sup>a</sup>	20,6 <sup>a</sup>	7,7 <sup>b</sup>
P HM K	206 <sup>b,c</sup>	5,23 <sup>a,b</sup>	0,226 <sup>b</sup>	17,0 <sup>b</sup>	7,4 <sup>b</sup>
C HM K	227 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a,b</sup>	0,229 <sup>b</sup>	19,1 <sup>a,b</sup>	6,4 <sup>c</sup>
C HM O	225 <sup>a,b</sup>	4,72 <sup>a,b</sup>	0,249 <sup>a,b</sup>	20,5 <sup>a</sup>	6,3 <sup>c</sup>
J HM H	209 <sup>b,c</sup>	6,61 <sup>a,b</sup>	0,237 <sup>b</sup>	18,2 <sup>a,b</sup>	8,0 <sup>b</sup>
J -- S	213 <sup>a,b,c</sup>	5,31 <sup>a,b</sup>	0,217 <sup>b,c</sup>	17,0 <sup>b</sup>	7,6 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> vrednosti v stolpcih znotraj posameznega kazalnika, ki so označene z različnimi črkami, se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ )

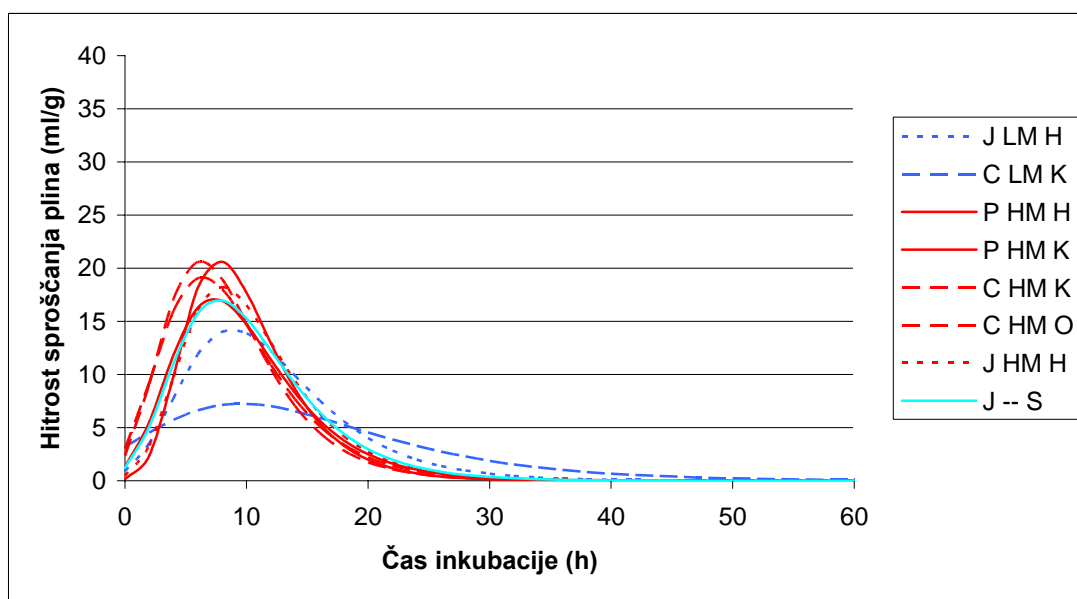
(okrajšave kazalnikov so razložene pri preglednici 1)

Iz preglednice 2, v kateri so prikazani kazalniki fermentacije različnih pektinov v inokulumu iz cekotrofov, je razvidno, da se je več plina sprostil (kazalnik B) pri HM pektinih (pri citrusovih 227 in 225 ml/gSS) kot pri LM (pri citrusovem 179 in pri jabolčnem 201 ml/gSS). Učinkovitost mikrobne razgradnje (A) je bila večja pri HM kot pri LM pektinih, posebno pri pesinem HM (0,270 ml/g), specifična hitrost fermentacije (C), na katero vpliva konstanta A, je bila tudi večja pri HM pektinih kot pri LM. Največja je bila pri pesinem (8,08 ml/g). Največjo hitrost fermentacije (MFR) so imeli HM pektini: pesin (20,6 ml/h), citrusova (20,5 ml/h in 19,1 ml/h), z najmanjšo hitrostjo (7,2 ml/h) pa je izstopal citrusov LM pektin. Čas, v katerem je bila fermentacija dosežena (TMFR) je bil krajši pri HM pektinih, kjer so bile razlike statistično značilne. Pri vzorcih smo med vrstami pektinov ugotovili statistično značilne razlike pri večini kazalnikov.

Iz dobljenih podatkov-kazalnikov (preglednica 2) smo narisali kumulativne krivulje poteka *in vitro* fermentacije pektinov v inokulumu iz cekotrofov (slika 3) in krivulje hitrosti fermentacije (slika 4).



Slika 3: Sproščanje plina pri fermentaciji pektinov v inokulumu iz ceketrofov.  
(okrajšave pektinov so razložene na str. 14)



Slika 4: Hitrost fermentacije pektinov v inokulumu iz ceketrofov.  
(okrajšave pektinov so razložene na str. 14)

#### 4.3 PRIMERJAVA KAZALNIKOV FERMENTACIJE PEKTINOV V INOKULUMIH IZ SLEPEGA ČREVEESA IN CEKOTROFOV

Preglednica 3: Primerjava kazalnika B (količina sproščenega plina) fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa in cekotrofov.

<i>Pektin</i>	<i>Kazalnik B (ml/g)</i>	
	slepo črevo	cekotrofi
J LM H	332 <sup>a</sup>	201 <sup>b</sup>
C LM K	288 <sup>a</sup>	179 <sup>b</sup>
P HM H	341 <sup>a</sup>	208 <sup>b</sup>
P HM K	339 <sup>a</sup>	206 <sup>b</sup>
C HM K	376 <sup>a</sup>	226 <sup>b</sup>
C HM O	355 <sup>a</sup>	225 <sup>b</sup>
J HM H	369 <sup>a</sup>	209 <sup>b</sup>
J -- S	336 <sup>a</sup>	213 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> vrednosti v vrsticah, ki so označene z različnimi črkami, se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ) (okrajšave pektinov so razložene na str. 14)

Pri vzorcih smo pri kazalniku B ugotovili statistično značilne razlike med inokulumoma iz slepega črevesa in cekotrofov. V inokulumu iz slepega črevesa je bil obseg fermentacije (kazalnik B) za najmanj 109 ml (C LM K) in največ 160 ml (J HM H) večji od obsega fermentacije v inokulumu iz cekotrofov. Razlike med HM in LM pektini so bile v cekotrofih manjše kot v slepem črevesu.

Preglednica 4: Primerjava kazalnika MFR (največja hitrost fermentacije) fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa in cekotrofov.

<i>Pektin</i>	<i>Kazalnik MFR (ml/h)</i>	
	slepo črevo	cekotrofi
J LM H	22,3 <sup>a</sup>	14,2 <sup>b</sup>
C LM K	9,9 <sup>a</sup>	7,2 <sup>b</sup>
P HM H	32,6 <sup>a</sup>	20,6 <sup>b</sup>
P HM K	32,4 <sup>a</sup>	17,0 <sup>b</sup>
C HM K	34,6 <sup>a</sup>	19,1 <sup>b</sup>
C HM O	32,1 <sup>a</sup>	20,5 <sup>b</sup>
J HM H	26,6 <sup>a</sup>	18,2 <sup>b</sup>
J -- S	24,3 <sup>a</sup>	17,0 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> vrednosti v vrsticah, ki so označene z različnimi črkami, se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ) (okrajšave pektinov so razložene na str. 14)

Pri kazalniku MFR smo med slepim črevesom in cekotrofi znotraj substratov ugotovili statistično značilne razlike. Največja hitrost fermentacije (MFR) je bila v slepem črevesu za najmanj 2,7 ml/h (C LM K) in največ za 15,5 ml/h (C HM K) večja od MFR v inokulumu iz cekotrofov.

Preglednica 5: Primerjava kazalnika TMFR (čas, ko je dosežena fermentacija) fermentacije pektinov v inokulumu iz slepega črevesa in cekotrofov.

<i>Pektin</i>	<i>Kazalnik TMFR (h)</i>	
	slepo črevo	cekotrofi
J LM H	7,0 <sup>a</sup>	9,0 <sup>a</sup>
C LM K	10,3 <sup>a</sup>	9,6 <sup>b</sup>
P HM H	6,7 <sup>a</sup>	7,7 <sup>b</sup>
P HM K	6,5 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>
C HM K	5,9 <sup>a</sup>	6,4 <sup>a</sup>
C HM O	6,0 <sup>a</sup>	6,3 <sup>a</sup>
J HM H	7,0 <sup>b</sup>	8,0 <sup>a</sup>
J -- S	8,7 <sup>a</sup>	7,6 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> vrednosti v vrsticah, ki so označene z različnimi črkami, se statistično značilno razlikujejo ( $p \leq 0,05$ ) (okrajšave pektinov so razložene na str. 14)



Med inokulumom slepega črevesa in cekotrofi smo ugotovili statistično značilne razlike znotraj substratov pri kazalniku TMFR le pri fermentaciji C LM K, P HM H in J HM H, pri ostalih pektinih ne. Čas, ko je bila dosežena največja hitrost fermentacije (TMFR) v inokulumu iz slepega črevesa, je bil pri pesinem in jabolčnem pektinu za okoli 1 uro krajši od TMFR v inokulumu iz cekotrofov. Le pri C LM K je bil TMFR v slepem črevesu daljši od tistega pri cekotrofih.

Pri vzorcih smo v večini kazalnikov fermentacije ugotovili statistično značilne razlike med inokulumom iz slepega črevesa in inokulumom iz cekotrofov ( $p \leq 0,05$ ). Fermentacija v inokulumu iz slepega črevesa je bila intenzivnejša in hitrejša v nasprotju z inokulumom iz cekotrofov. Količina sproščenega plina iz pektinov v inokulumu iz slepega črevesa je bila za razliko od sproščenega plina v inokulumu iz cekotrofov veliko večja (preglednici 1 in 2 ter sliki 1 in 3). Razlika je bila statistično značilna. Največja hitrost fermentacije je bila pri pektinih v inokulumu slepega črevesa in dosežena prej kot pri cekotrofih (preglednici 1 in 2 ter sliki 2 in 4).

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

V fermentaciji vseh substratov smo ugotovili statistično značilne razlike med inokulumom iz vsebine slepega črevesa in inokulumom iz cekotrofov.

Skoraj vsi parametri fermentacije so kazali na višjo fermentacijsko aktivnost v slepem črevesu v primerjavi s cekotrofi. Vendar so Jehl in sod. (1996, cit. po Gidenne in sod., 2002) izmerili enako fibriolitično aktivnost, ne glede na to, ali so jo določali v slepem črevesu ali v cekotrofih, zato je pomembno, da se vprašamo, zakaj je prišlo do takih razlik v fermentaciji pektinov, ko pa se cekotrofi oblikujejo iz vsebine slepega črevesa in so zato podobne sestave. Možna razlaga je lahko, da je v našem poskusu v cekotrofih prišlo do odmiranja mikrobov, saj je bilo rokovanje oz. priprava inokuluma iz njih bistveno daljša kot priprava iz vsebine slepega črevesa.

V našem poskusu se je v obeh inokulumih iz HM pektinov tvorilo več plina kot iz LM pektinov. Dongowski in sod. (2000) so v poskusu, kjer so ugotavljali razgradnjo pektinov pri ljudeh, prav tako kot mi uporabili pektine z različno stopnjo zaestrenosti, jih inkubirali od 24 do 48 ur. In tu se lahko vprašamo, zakaj prihaja do takih razlik med HM in LM pektini v poteku fermentacije? Visoko zaestreni pektini imajo več metilnih skupin, iz teh pa potem lahko nastaja pri razgradnji več plina (metana in ogljikovega dioksida), možno je tudi, da zaradi molekularne teže oz. kemijsko različne sestave, verjetno pa so lahko razlike tudi zaradi različnih stopenj zaestrenosti. Skoraj vsi avtorji so ugotovili, da pektini dobro fermentirajo, še posebno pektini pese in lucerne, kar smo ugotovili tudi v našem poskusu in je njihova fermentacija končana prej kot v 10 urah, kar je povprečni zadrževalni čas v slepem črevesu.

Na splošno lahko rečemo, da so v našem poskusu v obeh inokulumih najbolj intenzivno fermentirali citrusovi pektini, nekaj manj pa jabolčni in pesini. Kasperowicz (1994) je v svojem poskusu podobno kot mi primerjala citrusove, jabolčne in pesine pektine, vendar v vampu prežvekovalcev. Ugotovila je, da so se citrusovi najbolj razgradili, tem so sledili pesini in nazadnje jabolčni. V primerjavi z njenimi rezultati poskusa so jim bili naši

rezultati podobni; pri naših pektinih se je iz citrusovih sproščalo največ plina, manj oz. podobno iz pesinih in jabolčnih. Ugotovila je tudi, da je razgradljivost pektina v vampu odvisna od vira oz. vrste pektina in od vrste bakterij (Kasperowicz, 1994), zato lahko predvidevamo, da so bili tudi naši rezultati verjetno odvisni od vrste substratov in bakterij. Velika količina plina, nastala pri fermentaciji citrusovih pektinov, pa lahko tudi nima več ugodnih učinkov na zdravje kuncev, saj so Gidenne in sod. (2004b) ugotovili slabše rezultate pri dodatku pektinov iz citrusove pulpe v primerjavi s pektini iz pesnih rezancev.

In na koncu še o jabolčnem pektinu (J – S), za katerega nimamo podatkov o stopnji esterifikacije. Predvidevamo, da je bil po kazalnikih fermentacije v slepem črevesu bolj podoben nizko zaestrenemu pektinu, medtem ko bi po kazalnikih fermentacije v cekotrofih lahko sklepali, da je visoko zaestren, saj je bolj podoben jabolčnemu HM kot LM pektinu.

Zaključimo lahko, da so bile razlike med parametri fermentacije pri obeh inokulumihi statistično značilne. Fermentacijska aktivnost je bila v inokulumu iz slepega črevesa vedno večja in hitrejša v primerjavi z inokulumom iz cekotrofov, kar ni v skladu z rezultati Jehla in sod. (1996, cit. po Gidenne in sod., 2002), ki so izmerili enako fibriolitično aktivnost, ne glede na to, ali so jo določali v slepem črevesu ali v cekotrofihi. V inokulumu iz slepega črevesa so HM pektini hitreje in močnejše fermentirali v nasprotju z LM pektini, kar smo ugotovili tudi za fermentacijo v inokulumu iz cekotrofov, le da so bile vrednosti kazalnikov manjše. V obeh inokulumihi so najbolj in najhitreje fermentirali citrusovi pektini, sledili so jim pesini in jabolčni. Glede na nepričakovane razlike v fermentaciji v vsebini slepega črevesa in v cekotrofihi, bi bilo smiselno raziskavo ponoviti. Predvsem bi morali skrajšati čas rokovanja s cekotrofi, preveriti pa bi bilo dobro še možnosti odvzema cekotrofov s pomočjo ovratnika, ki preprečuje zaužitje cekotrofov.

## 5.2 SKLEPI

1. V inokulumu iz slepega črevesa je bil obseg fermentacije (kazalnik B) za najmanj 109 ml (C LM K) in največ 160 ml (J HM H) večji od obsega fermentacije v inokulumu iz cekotrofov.

2. Največja hitrost fermentacije (MFR) je bila v slepem črevesu za najmanj 2,7 ml/h (C LM K) in največ za 15,5 ml/h (C HM K) večja od MFR v inokulumu iz cekotrofov.

3. Čas, ko je bila dosežena največja hitrost fermentacije (TMFR) v inokulumu iz slepega črevesa, je bil pri pesinem in jabolčnem pektinu za okoli 1 uro krajši od TMFR v inokulumu iz cekotrofov. Le pri C LM K je bil TMFR v slepem črevesu daljši od tistega pri cekotrofih.

4. Razlike v obsegu (parameter B) in največji hitrosti fermentacije (MFR) med inokuluma so bile pri vseh substratih statistično značilne ( $p \leq 0,05$ ), medtem ko so bile razlike med TMFR v različnih inokulumih statistično značilne le pri fermentaciji C LM K, P HM H in J HM H.

5. Glede na zaestrenost pektinov so v obeh inokulumih v največjem obsegu in najhitreje fermentirali visoko zaestreni (HM) pektini. V slepem črevesu in cekotrofih se je največ plina sprostil (kazalnik B) pri C HM (376 ml/g in 226 ml/g), največjo hitrost fermentacije (MFR) je v slepem črevesu imel C HM (34,6 ml/h), v cekotrofih P HM (20,6 ml/h). Najkrajši čas, v katerem je bila dosežena fermentacija (TMFR), je bil v slepem črevesu dosežen v 5,9 urah, v cekotrofih pa v 6,3 urah, obakrat pri C HM pektinu. Najmanj intenzivno pa je fermentiral nizko zaestren citrusov pektin C LM.

6. Glede na izvor pektinov so najhitreje fermentirali citrusovi pektini, nekaj manj pa pesini in jabolčni.

## 6 POVZETEK

Za prebavo pri kuncih je potek fermentacije v slepem črevesu izrednega pomena, ker je ključnega pomena tudi za njihovo zdravje, saj je le to odvisno od stabilnosti črevesne mikroflore. Na fermentacijsko aktivnost vplivajo predvsem ogljikovi hidrati v krmi, predvsem pektinske snovi (Gidenne in sod., 2004). Raziskave različnih avtorjev (Gidenne, 2003; Gidenne in sod. 2000; Jehl in Gidenne, 1996) so tudi pokazale, da so bili tisti kunci, ki so zaužili več prebavljivih vlaknin (hemiceluloz in pektinov) bolj zdravi od tistih s škrobnato prehrano. Na splošno vlaknina ščiti kunce pred prebavnimi motnjami in uravnava razmerje med beljakovinami in energijo v krmi.

Pri ocenjevanju poteka fermentacije lahko uporabimo tehniko *in vitro* fermentacije substratov (plinski test), s katero merimo sproščanje oz. tvorbo plinov v različnih inokulumi. V poskusu smo želeli določiti kazalnike kinetike tvorbe plina iz različnih pektinov, pri tem pa uporabiti *in vitro* plinski test za določanje razlik med fermentacijo substratov v inokulumu iz vsebine slepega črevesa in v inokulumu iz cekotrofov. Pektini so se razlikovali po stopnji zaestrenosti (HM in LM) ter po izvoru (citrusovi, pesini, jabolčni). V *in vitro* poskusu smo posamezne substrate inkubirali v vsakem inokulumu. V različnih časih (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72, 96 ur) smo merili količine nastalega plina. Te smo korigirali na slepi vzorec in potek fermentacije SS posameznega substrata ocenili z Gompertzovim modelom (Lavrenčič in sod., 1998).

V inokulumu iz slepega črevesa je bil obseg fermentacije (kazalnik B) za najmanj 109 ml (C LM K) in največ 160 ml (J HM H) večji od obsega fermentacije v inokulumu iz cekotrofov. Največja hitrost fermentacije (MFR) je bila v slepem črevesu za najmanj 2,7 ml/h (C LM K) in največ za 15,5 ml/h (C HM K) večja od MFR v inokulumu iz cekotrofov. Čas, ko je bila dosežena največja hitrost fermentacije (TMFR) v inokulumu iz slepega črevesa, je bil za najmanj 0,3 ure (C HM O) in največ za 2 uri (J LM H) krajši od TMFR v inokulumu iz cekotrofov. Le pri C LM K je bil TMFR v slepem črevesu daljši od tistega pri cekotrofi. Razlike v obsegu (parameter B) in največji hitrosti fermentacije (MFR) med inokuluma so bile pri vseh substratih statistično značilne ( $p \leq 0,05$ ), medtem ko so bile razlike med TMFR v različnih inokulumi statistično značilne le pri fermentaciji

C LM K, P HM H in J HM H. Razlike v obsegu fermentacije (kazalnik B), največji hitrosti fermentacije (MFR) in času največje hitrosti fermentacije (TMFR) med obema inokuluma so najverjetneje posledica dolgega rokovanja s cekotrofi. Glede na zaestrenost pektinov so v obeh inokulumah v največjem obsegu in najhitreje fermentirali visoko zaestreni (HM) pektini. V slepem črevesu in cekotrofih se je največ plina sprostito (kazalnik B) pri C HM (376 ml/g in 226 ml/g), največjo hitrost fermentacije (MFR) je v slepem črevesu imel C HM (34,6 ml/h), v cekotrofih P HM (20,6 ml/h). Najkrajši čas, v katerem je bila dosežena fermentacija (TMFR), je bil v slepem črevesu dosežen v 5,9 urah, v cekotrofih pa v 6,3 urah, obakrat pri C HM pektinu. Najmanj intenzivno pa je fermentiral nizko zaestren citrusov pektin C LM. Glede na izvor pektinov so najhitreje fermentirali citrusovi pektini, nekaj manj pa pesini in jabolčni.

## 7 VIRI

Babnik D., Verbič J., Žnidaršič T. 2002. Vrednotenje energijske vrednosti travnih silaž. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo (Zootehnika), 80, 1: 29-40  
<http://www.bfro.uni-lj.si/zoo/publikacije/zbornik/PDF/80-2002-1-29-40.pdf>  
(18. jan. 2005)

Bennegadi N., Fonty G., Millet L., Gidenne T., Licois D. 2003. Effects of age and dietary fibre level on caecal microbial communities of conventional and specific pathogen-free rabbits. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 5: 23-32

Calabro S., Nizza A., Pinna W., Cutrignelli M. I., Piccolo V. 1999. Estimation of digestibility of compound diets for rabbits using the *in vitro* gas production technique. *World Rabbit Science*, 7, 4: 197-201

De Blas C., Garcia J., Carabano R. 1999. Role of fibre in rabbit diets. A review. *Annales de zootechnie. Elsevier/Inra*, 48: 3-13

Dongowski G., Lorenz A., Anger H. 2000. Degradation of pectins with different degrees of esterification by *Bacteroides thetaiotaomicron* isolated from human gut flora. *Applied and environmental microbiology*, 66, 4: 1321-1327

Enzymatic modification of pectin.

[http://www.texturant-systems.com/texturant/html/e/r\\_d/pectin.htm](http://www.texturant-systems.com/texturant/html/e/r_d/pectin.htm) (16. sept. 2005)

Gardiner T. 2000. Citrus Pectin Biological Activities. A Review. *GlycoScience & Nutrition*, 1, 34: 2-5

Gidenne T. 2003. Fibres in rabbit feeding for digestive troubles prevention: respective role of low-digested and digestible fibre. *Livestock Production Science*, 81: 105-117

- Gidenne T., Pinheiro V., Falcao e Cunha L. 2000. A comprehensive approach of the rabbit digestion: consequences of a reduction in dietary fibre supply. *Livestock Production Science*, 64: 225-237
- Gidenne T., Jehl N., Segura M., Michalet-Doreau B. 2002. Microbial activity in the caecum of the rabbit around weaning: impact of a dietary fibre deficiency and of intake level. *Animal Feed Science and Technology*, 99: 107-118
- Gidenne T., Jehl N., Lapanouse A., Segura M. 2004a. Inter-relationship of microbial activity, digestion and gut health in the rabbit: effect of substituting fibre by starch in diets having a high proportion of rapidly fermentable polysaccharides. *British Journal of Nutrition*, 92: 95-104
- Gidenne T., Mirabito L., Jehl N., Perez M. J., Arveux P., Bourdillon A., Briens C., Duperray J., Corrent E. 2004b. Impact of replacing starch by digestible fibre, at two levels of lignocellulose, on digestion, growth and digestive health of the rabbit. *Animal Science*. *British Society of Animal Science*, 78: 389-398
- Genu pectin – product information. CP Kelco.  
<http://www.cpkelco.com/products/index.html> (20. jan. 2005)
- Hatfield R. D. 1989. Structural polysaccharides in forages and their degradability. *Agronomical Journal*, 81: 39-46
- Jehl N., Gidenne T. 1996. Replacement of starch by digestible fibre in feed for the growing rabbit. 2. Consequences for microbial activity in the caecum and on incidence of digestive disorders. *Animal Feed Science and Technology*, 61: 193-204
- Kasperowicz A. 1994. Comparison of utilization of pectins from various sources by pure cultures of pectinolytic rumen bacteria and mixed cultures of rumen microorganisms. *Acta Microbiologica Polonica*, 43, 1: 47-56
- Kermauner A. 1994. Fiziologija prebave kuncev. *Sodobno kmetijstvo*, 27, 9: 358-364



- Lavrenčič A., Mills R. C., Stefanon B. 1998. Application of Gompertz model to describe the fermentation characteristics of chemical components in forages. *Animal Science*, 66: 155-161
- Marounek M., Fievez V., Mbanzamihiho L., Demeyer D., Maertens L. 1999. Age and incubation time effects on *in vitro* caecal fermentation pattern in rabbits before and after weaning. *Archery and Animal Nutrition OPA*, 52: 195-201
- Marounek M., Vovk J. S., Benda V. 1997. Fermentation patterns in rabbit caecal cultures supplied with plant polysaccharides and lactate. *Acta Veterina Brno*, 67: 9-13
- Menke K. H., Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55
- Orešnik A., Lavrenčič A. 1999. Količina in kakovost vlaknine kot izhodišče za ocenjevanje njenega pomena v prehrani živali. V: Zbornik predavanj 8. posvetovanja o prehrani domačih živalih Zdravčevi-Erjavčevi dnevi. Pen Adolf (ur.). Murska Sobota, Živinorejsko-veterinarski zavod za Pomurje: 1-11
- Salobir J. 1994. Uporaba encimov, ki razgrajujejo neškrobne polisaharide, v prehrani perutnine. *Sodobno kmetijstvo*, 27, 6: 271-275
- SAS/STAT users guide. 2001. Release 6.03 edition. Cary, NC, USA, SAS Institute
- Slovakova L., Duškova D., Marounek M. 2002. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rabbit caecal bacterium *Bifidobacterium pseudolongum*. *Letters in Applied Microbiology*, 35: 126-130
- Zdrava i potpuna hrana iz voća i povrća. Vegafruit.  
[http://www.vegafruit.com.ba/zdrava\\_hrana/hrana.htm](http://www.vegafruit.com.ba/zdrava_hrana/hrana.htm) (20. jan. 2005)

## ZAHVALA

Zahvaljujem se:

mentorici v. p. mag. Ajdi Kermauner za strokovno pomoč pri izvedbi poskusa, zbiranju literature, vso pomoč pri izdelavi diplomske naloge in za motivacijo,

somentorju doc. dr. Andreju Lavrenčiču za vso pomoč pri izvedbi poskusa, za pomoč pri izdelavi diplomske naloge, statistični obdelavi podatkov in kopico smeha,

dr. Nataši Siard in ga. Karmeli Malinger za oblikovni pregled naloge in pregled prevoda izvlečka,

mami in očetu za dobre živce, ker verjameta vame in mi nudita vse in še več

ter vsem ostalim, ki so kakorkoli sodelovali in pomagali pri nastanku diplome.