

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Janez SUHOVERŠNIK

**VPLIV HIDROLIZIRAJOČIH TANINOV KOSTANJA  
(*Castanea sativa* Mill.) NA MLEČNOST IN SESTAVO  
KRAVJEGA MLEKA**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2005

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Janez SUHOVERŠNIK

**VPLIV HIDROLIZIRAJOČIH TANINOV KOSTANJA (*Castanea sativa*  
Mill.) NA MLEČNOST IN SESTAVO KRAVJEGA MLEKA**

DIPLOMSKO DELO  
Visokošolski strokovni študij

**EFFECT OF HYDROLYSABLE CHESTNUT TANNINS (*Castanea sativa*  
Mill.) ON COW MILK PRODUCTION AND MILK COMPOSITION**

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 ter na kmetiji Suhoveršnik.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorja imenovala doc.dr. Andreja LAVRENČIČA.

Recenzent : prof. dr. Janez SALOBIR

Komisija za oceno in zagovor:

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

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

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

Datum zagovora:

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Janez Suhoveršnik

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Vs  
DK UDK 636.2.084/.087:637.1(043.2)=863  
KG govedo/krave/molznice/prehrana živali/krmni dodatki/tanini/mlečnost/mleko/  
sestava/beljakovine/sečnina  
KK AGRIS L01/5214  
AV SUHOVERTNIK, Janez  
SA LAVRENČIČ, Andrej (mentor)  
KZ SI-1230 Domžale, Groblje 3  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko  
LI 2005  
IN VPLIV HIDROLIZIRAJOČIH TANINOV KOSTANJA (*Castanea sativa* Mill.) NA  
MLEČNOST IN SESTAVO KRAVJEGA MLEKA  
TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)  
OP VIII, 38 str., 6 pregl., 8 sl., 36 vir.  
IJ sl  
JI sl/en  
AI V čredi 20 krav molznic smo preučevali vpliv taninov na mlečnost in sestavo mleka v daljšem časovnem obdobju, od sredine junija do konca novembra. Krave smo razdelili v dve skupini najprej glede na mlečnost in potem glede na stadij laktacije in nazadnje še na zaporedno laktacijo. Prva skupina (K-TAN 10 živali) je poleg dopolnjenega osnovnega obroka zauživala še 4 kg sestavljene krmne mešanice z dodatkom taninov kostanja (30 g/kg krmne mešanice). Druga skupina (K-KON 10 živali) je zauživala enak obrok, vendar sestavljena krmna mešanica ni vsebovala taninov. Skupina K-KON je imela že ob delitvi živali v skupine nekoliko večjo mlečnost (0,6 kg mleka) kot skupina K-TAN, večjo mlečnost pa je skupina K-KON imela tudi v času celotnega poskusa. Izjemi sta mlečnosti ob peti in šesti kontroli, ko je skupina K-TAN imela večjo mlečnost (19,5 oz. 22,1 kg mleka/dan) kot skupina K-KON (19,0 oz. 20,7 kg mleka/dan). Kljub temu pa razlike v mlečnosti med skupinama K-TAN in K-KON niso bile statistično značilne ( $P>0,05$ ). Podobno so bile vsebnosti laktoze v mleku vedno manjše v skupini K-TAN kot v skupini K-KON, a ob nobeni kontroli niso bile statistično značilne ( $P>0,05$ ). Nasprotno pa je mleko skupine K-TAN vsebovalo v celotnem obdobju poskusa več mlečnih maščob (razen ob peti in šesti kontroli) in mlečnih beljakovin (razen ob sedmi in enajsti kontroli) kot skupina K-KON. Razlike v vsebnosti mlečnih maščob med skupinama so bile ob posameznih kontrolah tudi večje od 0,4 % (druga, peta in enajsta kontrola), a ob nobeni kontroli niso bile statistično značilne ( $P>0,05$ ). Razlike v vsebnosti mlečnih beljakovin so bile med skupinama majhne, saj niso presegale 0,2 % in niso bile statistično značilne ( $P>0,05$ ). Vsebnosti sečnine v mleku obeh skupin so bile v času paše živali vedno večje od 35 mg/100 ml mleka in so se šele po prehodu na zimski obrok zmanjšale pod 30 mg/100 ml mleka. Mleko skupine K-TAN je v celotnem poskusu vsebovalo nekoliko manj sečnine v mleku kot mleko skupine K-KON, a razlike med skupinama niso bile statistično značilne ( $P>0,05$ ).

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Vs  
DC UDK 636.2.084/.087:637.1(043.2)=863  
CX cattle/dairy cows/animal nutrition/feed additives/tannins/milk/composition/milk production/proteins/urea  
CC AGRIS L01/5214  
AU SUHOVERTNIK, Janez  
AA LAVRENČIČ, Andrej (supervisor)  
PP SI-1230 Domžale, Groblje 3  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Zootechnical Department  
PY 2005  
TI EFFECT OF HYDROLYSABLE CHESTNUT TANNINS (*Castanea sativa* Mill.) ON COW MILK PRODUCTION AND MILK COMPOSITION  
DT Graduation Thesis (Higher professional studies)  
NO VIII, 38 p., 6 tab., 8 fig., 36 ref.  
LA sl  
AL sl/en  
AB A herd of 20 dairy cows was used to study the effect of hydrolysable chestnut tannins on milk yield and milk composition in a longer period, from mid June to the end of November. Cows were divided into two groups primarily according to their milk yield, and to the stage of lactation and parity. In addition to the adjusted basal diet the first group (K-TAN) received also 4 kg of compound feed containing chestnut tannins (30 g/kg of compound feed). The second group (K-KON) received the same diet, but without tannins in their compound feed. K-KON group had slightly higher milk yield (0.6 kg/day) as K-TAN group already at the partition into groups, and had greater milk yield during the entire experiment. The exception were controls five and six, when the K-TAN group had greater milk yield (19.5 and 22.1 kg milk/day, respectively) than K-KON group (19.0 and 20.7 kg milk/day). However, the differences within individual controls were not statistically significant ( $P>0.05$ ). Similarly the lactose content was always lower in K-TAN than in K-KON group, but differences were not statistically significant ( $P>0.05$ ) at individual controls. On the contrary, milk of K-TAN contained more milk fat (except at controls five and six) and more milk protein (except at controls seven and eleven) compared to K-KON group. Between groups differences in milk fat content were at some controls greater than 0.4 % (controls two, five and eleven), however they were not statistically significant ( $P>0.05$ ). Differences in milk protein content were small, they did not exceed 0.2 % and were not statistically significant ( $P>0.05$ ). On pasture, milk urea content was always greater than 35 mg/100 ml milk in both groups and only after the transition to winter diet the level of urea dropped under 30 mg/100 ml milk. However, slightly lower levels of urea content were observed in K-TAN group, but the differences between groups were not statistically significant ( $P>0.05$ ).

## KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>3</b>
2.1 LASTNOSTI TANINOV	3
2.1.1 Vrste taninov	3
2.1.1.1 Hidrolizirajoči tanini	4
2.1.1.2 Kondenzirani tanini	4
2.2 DELOVANJE IN UPORABA TANINOV	5
2.2.1 Vpliv taninov na razgradnjo beljakovin pri prežvekovalcih	7
2.2.2 Vpliv taninov na mikroorganizme	11
2.2.3 Vpliv taninov na prebavo vlaknine	13
<b>3 MATERIAL IN METODE DE LA</b>	<b>14</b>
3.1 LOKACIJA IN PRIREJA MLEKA	14
3.2 POSKUSNE ŽIVALI IN OBROKI	14
3.2.1 Poskusne živali in njihovo krmljenje	14
3.2.2 Potek poskusa	15
3.2.3 Kontrole mlečnosti, vzorčenje mleka in analize sestave mleka	16
3.3 STATISTIČNA ANALIZA	17
<b>4 REZULTATI</b>	<b>18</b>
4.1 PRIMERJAVA PODATKOV MED POSKUSNO IN KONTROLNO SKUPINO NA ZAČETKU POSKUSA	18

	str.	
4.2	MLEČNOST	19
4.3	MLEČNE MAŠČOBE	20
4.4	MLEČNE BELJAKOVINE	22
4.5	LAKTOZA V MLEKU	24
4.6	SEČNINA V MLEKU	26
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	<b>29</b>
5.1	RAZPRAVA	29
5.2	SKLEPI	32
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>33</b>
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	<b>35</b>
	<b>ZAHVALA</b>	

## KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Razlike med poskusno in kontrolno skupino krav molznic na začetku poskusa, dne 10. junija 2004	18
Preglednica 2: Mlečnost krav ob mlečnih kontrolah kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	19
Preglednica 3: Vsebnost mlečnih maščob ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN).	21
Preglednica 4: Vsebnost mlečnih beljakovin ob mlečnih kontrolah v mleku kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	23
Preglednica 5: Vsebnost laktoze ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in krav skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	25
Preglednica 6: Vsebnost sečnine ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	27



## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Krave v hlevu	14
Slika 2: Priprava krmil	16
Slika 3: Kontrolor pri kontroli mleka	16
Slika 4: Mlečnost krav ob mlečnih kontrolah kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	20
Slika 5: Vsebnost mlečnih maščob ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	22
Slika 6: Vsebnost mlečnih beljakovin ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	24
Slika 7: Vsebnost laktoze ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in krav skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	26
Slika 8: Vsebnost sečnine ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)	27

## 1 UVOD

V prireji mleka želimo prirediti čim več, čim bolj kakovostnega mleka. To lahko dosežemo le z živalmi, katerih genetska sposobnost in okolje (uravnotežena prehrana po vseh hranljivih snoveh) to omogočata. Orešnik (2001) navaja, da je bila po podatkih Govedorejske službe Slovenije v letu 1981 povprečna mlečnost kontroliranih krav v standardni laktaciji 3746 kg, v letu 1991 3886 kg in v letu 1999 4943 kg mleka. Kljub temu, da se je prireja mleka v teh letih povečala za več kot 1000 kg mleka, pa Orešnik (2001) trdi, da krave v Sloveniji še zdaleč ne dosegajo svojih genetskih sposobnosti za prirejo.

Molznice lahko s sintezo mikrobnih beljakovin v predželodcih priredijo do 4500 litrov mleka v laktaciji. To pomeni, da pri zmerni intenzivnosti prireje mleka oskrba z beljakovinami ni problematična. Pri veliki prireji mleka, torej pri intenzivni reji na mlečnost močno selekcioniranih molznic, pa prirast mikrobnih biomase ne zadošča, saj so potrebe po beljakovinah večje od njihove sinteze v predželodcih. V tem primeru moramo sestavljati obroke tako, da so v njih vključena krmila, katerih beljakovine se v večjem obsegu izognejo razgradnji v predželodcih in se prebavijo šele v siriščniku ter tankem črevesu. Delež v vampu nerazgradljivih beljakovin se z mlečnostjo povečuje in je nujno potreben pri molznicah, ki po telitvi dajejo več kot 30 kg mleka dnevno oziroma imajo mlečnost v standardni laktaciji večjo od 6500 kg mleka. Za doseganje takšne mlečnosti bi moral obrok vsebovati največ 650 g razgradljivih beljakovin na kg zaužitih beljakovin. Vendar je razgradljivost beljakovin voluminozne krme večinoma veliko večja, želeno vrednost pa pogosto presegajo tudi beljakovinska močna krmila. Pri preobilni oskrbi živali z razgradljivimi beljakovinami se sinteza sečnine tako poveča, da je organizem ni sposoben izločiti samo s sečem in slino. Sečnina se zato izloča tudi z mlekom in prehaja v rodila, kjer negativno vpliva na lastnosti plodnosti. Veliki presežki v vampu razgradljivih beljakovin lahko povzročijo tudi poškodbe jeter in ledvic.

Problem prevelike razgradljivosti beljakovin lahko rešujemo na več načinov. Najosnovnejši način je, da v obroke vključujemo več krme in krmil, ki imajo večjo vsebnost v predželodcih nerazgradljivih beljakovin. Pogosto to ni mogoče, zato lahko posežemo tudi po ukrepih, s katerimi zaščitimo beljakovine pred razgradnjo v predželodcih. Eden od načinov zaščite beljakovin krme pred pretirano razgradnjo v predželodcih je tudi izkoriščanje sposobnosti taninov za tvorbo kompleksov z beljakovinami. Ti kompleksi so pri pH vrednostih, ki jih najdemo v predželodcih, obstojni in jih mikroorganizmi ne morejo razgraditi. Ob spremembi pH v siriščniku in tankem črevesu pa ti kompleksi razpadejo, beljakovine pa so podvržene encimski prebavi. Zaradi večjega pretoka beljakovin v tanko črevo pričakujemo, da bo oskrba živali boljša, s čimer naj bi se izboljšala tudi prireja in sestava mleka.

V diplomski nalogi bomo s krmljenjem taninskega ekstrakta iz kostanjevega lesa (Farmatan 75; Tanin, Sevnica) kravam molznicam, proučili njegov vpliv na mlečnost in sestavo mleka. Pri tem bomo posebno pozornost posvetili vplivu taninskega ekstrakta na vsebnost beljakovin mleka in na vsebnost sečnine v mleku. Pričakujemo, da bo dodani taninski ekstrakt iz kostanjevega lesa zaradi boljše oskrbe molznic z beljakovinami krme povečal mlečnost in vsebnost beljakovin mleka ter zmanjšal vsebnost sečnine v mleku.

## **2 PREGLED OBJAV**

### **2.1 LASTNOSTI TANINOV**

Tanini so naravne polifenolne spojine, ki se nahajajo v lesu, steblih, listih in semenih številnih rastlinskih vrst. So sekundarni metaboliti rastlin, katerih glavna naloga je zaščititi rastlino pred bakterijami, glivami, plesnimi in tudi pred rastlinojedimi živalmi (Mangan, 1988; Harborne, 1999; Shultz in sod., 1992). V preteklosti so tanine uporabljali predvsem za strojenje kož. Pri tem procesu se tanini vežejo na kolagen, s katerim tvorijo trajne komplekse, ki so odporni na delovanje mikroorganizmov (Mangan, 1988).

Osnovna gradbena enota taninov je fenol, katerega hidroksilne skupine so večinoma proste. Zaradi večjega števila fenolnih obročev v molekuli je najmanjša molekulska masa taninov okoli 500, medtem ko zgornje meje ni, tako da so molekulske mase taninov večje tudi od 2000. Na splošno so topni v vodi, čeprav je lahko topnost molekul z veliko molekulsko maso močno omejena (Lavrenčič, 2001).

Tanini se z beljakovinami in polisaharidi kot so celuloza, hemiceluloza, pektin povezujejo v komplekse (Butler, 1992, cit. po McSweeney in sod., 2001). Tanini se vežejo tudi na bakterijske celične membrane in encime, ki so vključeni v prebavo beljakovin in ogljikovih hidratov (Butter in sod., 1999), pri tem pa nastajajo bolj ali manj stabilni kompleksi.

#### **2.1.1 Vrste taninov**

V osnovi poznamo dve vrsti taninov, hidrolizirajoče in kondenzirane tanine. Med seboj se razlikujejo v kemijski strukturi, reaktivnosti s hidrolitičnimi reagenti, pa tudi v prehranskih in toksičnih učinkih (Kumar in Vaithyanathan, 1990). Kondenzirani in hidrolizirajoči tanini se med seboj razlikujejo v vrstah vezi v polimeru, zato so kondenzirani tanini odporni na hidrolizo, medtem ko hidrolizirajoči tanini razpadejo v prisotnosti kislin, alkoholnih reagentov

in encimov esteraz. Ne glede na delitev pa je najpomembnejša skupna lastnost taninov tvorba vezi z beljakovinami, s fosfolipidi in drugimi snovmi, kot na primer kovinskimi ioni (Lavrenčič, 2001).

#### 2.1.1.1 Hidrolizirajoči tanini

Hidrolizirajoči tanini imajo ogljikohidratno jedro (ponavadi glukozo), katerega hidroksilne skupine so zaestrene s fenolnimi karboksilnimi kislina, kot so galna, elagna in heksahidroksidifenska kislina. Estre z galno ali elagno kislino imenujemo galotanine, estre z heksahidroksidifensko kislino pa elagitanine (Mangan, 1988). Tipičen hidrolizirajoči tanin je taninska kislina, ki jo pridobivajo iz hrastovih šišk. Taninska kislina je galotanin in vsebuje 9 do 10 molov galne kisline na mol glukoze. Drugi znani hidrolizirajoči tanini so še korilagin, ki je najenostavnejši galotanin in se pojavlja v rastlinah vrst *Caesalpinia*, *Coriaria*, *Therminalia chebula*, *Schinopsis* in *Eucalyptus sieberiana* (Reed, 1995)

Razgradnja hidrolizirajočih taninov v prebavilih živali poteka že v prisotnosti blage kisline, baze ali encimov esteraz. Tanini razpadejo na sladkorje in fenole karboksilne kisline. Za razliko od kondenziranih taninov so hidrolizirajoči tanini bolj topni v vodi (Reed, 1995). McSweeney in sod. (2001) ugotavljajo, da pride do cepitve esterskih vezi v vampu s pomočjo mikrobov vrste *Selemonas ruminantium* in *Streptococcus sp.*, ki sintetizirajo esteraze tanin acilhidrolaze. Pri hidrolizi nastane galna kislina in/ali njeni derivati, ki imajo naravo večvalentnih fenolov (Abdullah in Rajiou, 1997, cit. po McSweeney in sod., 2001). Singh in sod. (2001) so ugotovili, da pri *in vitro* mikrobni razgradnji taninske kisline v vampnem soku nastanejo galna kislina, pirogalol in resolcinol. Galna kislina se nato v vampu dekarboksilira v pirogalol, ki se pretvori v resorcinol in floroglucinol (McSweeney in sod., 2001).

#### 2.1.1.2 Kondenzirani tanini

Kondenzirani tanini so bolj stabilni kot hidrolizirajoči (Broderick in sod., 1991). Čeprav kondenzirani tanini nimajo ogljikohidratnega jedra tako kot hidrolizirajoči, se vseeno pojavljajo kot niz polimerov (Mangan, 1988). Sestavljeni so iz flavanolnih enot, ki se

medseboj povezujejo z ogljikovimi (C-C) vezmi. Pri segrevanju ali dodatku kisline se kondenzirani tanini pretvorijo v ustrezne antocianidine in polimere flobafena (Kumar in Vaithiyanathan, 1990). Depolimerizacija kondenziranih taninov, pri katerih se ogljikove vezi cepijo, poteka samo v aerobnih pogojih (McSweeney in sod., 2001), zato razgradnja kondenziranih taninov ni mogoča v predželodcih prežvekovalcev.

## 2.2 DELOVANJE IN UPORABA TANINOV

Tanini vplivajo na hranilno vrednost krme, tako neposredno s tvorbo kompleksov z beljakovinami in drugimi makromolekulami kot posredno zaradi značilnega trpkega okusa, ki zmanjšuje okusnost krme in njeno zauživanje. Tvorba kompleksov ima lahko pri prežvekovalcih pozitiven učinek, saj se na ta način zmanjšuje razgradljivost kompleksiranih hranljivih snovi v predželodcih. Zato naj bi bila oskrbljenost živali s hranljivimi snovmi (npr. beljakovinami) boljša, to pa je še posebej pomembno pri visoko produktivnih živalih. Na splošno so tanini v obrokih za neprežvekovalce nezaželjeni, saj je zaradi slabše dostopnosti hranljivih snovi lahko prireja manjša. Iz številnih objavljenih rezultatov je mogoče razbrati, da imajo lahko tanini na živali tako koristne, kot škodljive učinke (Mangan, 1988; Kumar in Vaithiyanathan, 1990; Reed, 1995; Butter in sod., 1999; Makkar in sod., 1995a), kar je odvisno od vrste in zaužite količine taninov. Tako jim pripisujejo antikarcinogene učinke (Perchellet in sod., 1996, cit. po Makkar, 2003), preprečujejo napenjanje in delujejo zaviralno na notranje zajedavce v prebavnem traktu (Kahn in Diaz-Hernandez, 2000, cit. po Makkar, 2003). Skubic in sod. (1995) navajajo, da preprečujejo pojav driske pri prašičih, teletih, odraslem govedu, psih, kuncih in piščancih predvsem takrat, ko se spremeni vrsta in kakovost krme v obroku ali pa je prišlo do drugih motenj v prebavi. Takšno pozitivno delovanje taninov je lahko tudi posledica delovanja taninov na črevesno sluznico.

Večji odmerki taninov v obroku, še posebej, če je doziranje dolgotrajno, vodijo do zastrupitve organizma (Kumar in Vaithiyanathan, 1990), pri tem pa je potrebno poudariti, da so učinki, ki jih povzročajo tanini, odvisni tako od količine in vrste taninov kot tudi od vrste in kategorije

živali (Jansman, 1993). S tanini metuljnic, bi lahko izboljšali kakovost silaž, saj bi preprečili preveliko razgradnjo beljakovin v predželodcih, kot tudi razgradnjo beljakovin med siliranjem (Makkar, 2003). Tako prosti kot z beljakovinami vezani proantocianidini zmanjšujejo nastajanje prostih radikalov in zmanjšujejo občutljivost zdravih celic na strupene snovi (Hagerman in sod., 1999, cit. po Makkar, 2003). Makkar (2003) ugotavlja, da imajo tanini drevesnih vrst, metuljnic pozitivne učinke na prirejo mleka, mesa in volne pri prežvekovalcih. obroki, ki vsebujejo tanine, lahko pri prežvekovalcih zmanjšajo sintezo metana in pripomorejo k večji prireji mleka in mesa. Novi načini uporabe proizvodov, ki vsebujejo tanine in proizvodov, ki jih pred uporabo s tanini ustrezno obdelamo, lahko izboljšajo prirejo pri prežvekovalcih. Rastline, ki vsebujejo tanine lahko uporabljamo kot dodatke, ki ugodno vplivajo na prirejo. Takšni dodatki so cenejši in varnejši za uporabo kot »umetno« izdelane snovi za pospeševanje rasti in prireje.

S krmo, ki vsebuje dušik in majhno vsebnost tanina, lahko prerazporedimo vsebnost dušičnih snovi v izločkih živali, na ta način lahko zmanjšamo količino izločenega dušika s sečem in povečamo količino dušika izločenega z blatom (Makkar, 2003). Tudi številni drugi avtorji (Eaga in Ulyatt, 1980, cit. po Bhatta in sod., 2000; Barry in sod., 1986; Pritchard, 1992) ugotavljajo, da krmljenje s taninom bogatih rastlin zmanjšuje izločanje dušika s sečem in izboljšuje bilanco dušika pri ovcah. Manjše izločanje dušika so pripisali vsebnosti tanina v obrokih, ti so povzročili manjšo razgradnjo beljakovin in manjšo koncentracijo amoniaka v vampu. Tanini krmnih rastlin tako posledično vplivajo na učinkovitejšo izkoriščanje dušika iz zaužite krme. Prej omenjena povečana prisotnost dušičnih snovi v blatu vezanih na tanine lahko koristno uporabimo kot gnojilo, saj se bo dušik sproščal zelo počasi, kar podaljšuje oskrbo rastlin z dušikom in njihova uporaba za gnojilo, naj bi po pričakovanjih sproščalo dušične snovi v zemljo zelo počasi, kar bi lahko bilo koristno za dolgotrajno gnojenje (Makkar, 2003).

### **2.2.1 Vpliv taninov na razgradnjo beljakovin pri prežvekovalcih**

Pri visoko produktivnih prežvekovalcih je v določenih fizioloških stadijih (npr. na začetku laktacije) oskrba z beljakovinami problematična, saj take živali velike dnevne potrebe po beljakovinah težko pokrijejo (Barry in Duncan, 1984). Poleg tega so beljakovine v vampu podvržene mikrobni razgradnji, kar v preveliki meri ni zaželeno (Waghorn, 1990). Prisotnosti taninov v obroku zmanjša razgradnjo beljakovin in zmanjša pogostnost napenjanja pri živalih (McLeod, 1974, cit. po Orešnik, 1996). Razgradnja hranljivih snovi trav in metuljnic se prične v predželodcih pod vplivom mikrobne populacije. V predželodcih se razgradi okoli 60 % organske snovi in več kot 70 % rastlinskih beljakovin. Del tega rastlinskega dušika (N) uporabijo mikroorganizmi za sintezo svojih beljakovin, del pa se kot amoniak absorbira in se v jetrih pretvori v sečnino, ki se izloča s sečem. V predželodcih nerazgrajeni N rastlinskega izvora se skupaj z mikroorganizmi prebavi z encimsko hidrolizo v črevesju (Orešnik, 1996). Količina aminokislin in razgrajenega N, ki se absorbirajo v tankem črevesu, je odvisna od deleža nerazgrajenih beljakovin v predželodcih, intenzivnosti sinteze vampnih mikroorganizmov in količine beljakovin, ki se izognejo mikrobni razgradnji v predželodcih (Mangan, 1988). McSweeney in sod. (1998) so z analizo seča ocenili pretok mikrobnih beljakovin v predželodcu in ugotovili sposobnost mikrobne sinteze v želodcu prežvekovalcev ter dokazali, da tanini ne vplivajo na pretok mikroorganizmov skozi predželodce. Podobne rezultate so dobil tudi McNeill in sod. (1998, 2000, cit. po McSweeney in sod., 2001), ki so živali krmili s krmo, ki je vsebovala 7,3 % kondenziranih taninov.

Znanih je več načinov zaščite beljakovin pred preveliko razgradnjo v predželodcih prežvekovalcev. Najboljše rezultate dosežemo z uporabo formaldehida, ki pa ob nepravilni uporabi lahko zmanjša absorpcijo aminokislin iz črevesja. Poleg tega je formaldehid tudi kancerogen (Ashes, 1984, cit. po Orešnik, 1996).

Preveliki razgradnji rastlinskih beljakovin v predželodcih se lahko izognemo, če v obrok vključujemo tanine, ki v prebavnem traktu z beljakovinami obroka tvorijo komplekse, ki jih



vampni mikroorganizmi in njihovi encimi niso sposobni razgraditi (Mangan, 1988; Kumar in Vaithyanathan, 1990; Reed, 1995; Butter in sod., 1999).

V anaerobnih pogojih se kondenzirani in hidrolizirajoči tanini vežejo na rastlinske beljakovine z vodikovo vezjo (McLeod, 1974, cit. po Orešnik, 1996). Obstaja možnost, da je povezava beljakovin in taninov odvisna od vrste in koncentracije beljakovin in taninov (Mangan, 1988). Obstojnost kompleksa med tanini in beljakovinami je močno odvisna od pH. Kompleks je netopen in obstojen pri pH vrednosti med 3,5 in 8,5. Med tanini in beljakovinami vez razpade pri pH vrednostih pod 3,5 in pH vrednosti nad 8,5 (Schwab, 1995, cit. po Frutos in sod., 2000). Različne raziskave so potrdile, da na obstojnost kompleksov vpliva tudi vrsta tanina. Kompleksi med hidrolizirajočimi tanini in beljakovinami so bolj občutljivi na razlike v pH, kar bi lahko s pridom izkoristili v prehrani prežvekovalcev. Kompleksi, ki so obstojni pri pH predželodcev (pH med 5,8 in 6,8), bi razpadli pri pH siriščenika (pH med 2,5 in 3,5) in tankga črevesa (pH med 7,8 in 8,5), kar bi omogočilo boljšo oskrbo živali z beljakovinami (Jones and Mangan, 1977, cit. po Orešnik, 1996).

Delež v predželodcih razgrajenih beljakovin je odvisen od vsebnosti taninov v rastlinah. To velja za kultivarje navadne nokote (*Lotus corniculatus*). Povprečna razgradljivost surovih beljakovin je bila med 56 % in 81 % in je bila negativno povezana ( $r = -0,96$ ) z vsebnostjo tanina (Hedqvist in sod., 2000). Barry in sod. (1986) ugotavljajo, da bi lahko prisotnost kondenziranih taninov v krmnih rastlinah povečala oskrbljenost živali z aminokislinami. Makkar in sod. (1995a) trdijo, da je (*in vitro*) sinteza mikrobnih beljakovin učinkovitejša ob prisotnosti taninov. Čeprav tanini zmanjšajo dostopnost hranljivih snovi, povzročijo prerazporeditev hranljivih snovi tako, da je bila večina dostopnih hranljivih snovi uporabljena za sintezo mikrobne biomase, manj pa k tvorbi kratko verižnih maščobnih kislin (Makkar in sod., 1997, cit. po Makkar, 2003). Večjo prirejo živali, opaženo ob dodajanju manjše količine taninov, so Waghorn in Shelton (1997, cit. po Makkar, 2003) pripisali zaščiti beljakovin krme pred razgradnjo v predželodcih. To pa pomeni, da se poveča pretok aminokislin v tanko črevo in se poveča absorpcija teh aminokislin iz črevesja.

Iz zgoraj omenjenih razprav je razvidno, da imajo majhne količine tanina lahko ugodne učinke na sintezo mikrobnih beljakovin v predželodcih prežvekovalcev. Zmanjšanje obsega razgradnje krme s pomočjo taninov, lahko poveča mikrobnost učinkovitost. Vendar pa koncentracija tanina ne sme biti prevelika, saj bi se zato preveč zmanjšala prebavljivost substrata (Makkar in sod., 1995a). Pri velikih koncentracijah taninov v obroku bi se večja učinkovitost sinteze mikrobnih beljakovin izravnala z manjšo količino prebavljenega substrata. Še en dejavnik, ki vpliva na pretok mikrobnih beljakovin v tanko črevo ob prisotnosti taninov v krmi, je večji pretok prebavljive nerazgrajene suhe snovi skozi predželodce. Ta suha snov vsebuje manjše število mikroorganizmov, kot tista iz krme brez taninov (Makkar in sod., 1988, cit. po Makkar, 2003).

Večja učinkovitost sinteze mikrobnih beljakovin in manjša razgradnja beljakovin v krme je za prežvekovalce koristna, saj poveča pretok aminokislin v črevesje. Večji pretok aminokislin poveča njihovo absorpcijo, kar se kaže v večji prireji mleka, mesa, volne. Poleg tega ti učinki pomenijo manjše potrebe po beljakovinah pri prežvekovalcih in manjšo sintezo metana ter manjše izločanje dušičnih snovi v okolje (Makkar in sod., 1995a, b).

Nasprotno pa Barry in sod. (1986) in Waghorn (1990) ugotavljajo, da tanini ne vplivajo na sintezo mikrobnih beljakovin v predželodcih in tako ne zmanjšajo pretoka mikrobnih beljakovin iz predželodcev in siriščnika v tanko črevo. Ti avtorji navajajo, da v predželodcih tanini ščitijo beljakovine pred prebavo in s tem povečujejo zalogo beljakovin v tankem črevesu. Prebavljivost različnih s tanini bogatih metuljnic pa je odvisna od obstojnosti kompleksa v siriščniku in tankem črevesu. Barry in sod. (1986) in McSweeney in sod. (2001) so v poskusu z navadno nokoto (*Lotus corniculatus*) dokazali, da se s povečevanjem vsebnosti kondenziranih taninov do 4% krme izboljšuje hranilna vrednost krme, saj v predželodcih oblikovani kompleksi med tanini in beljakovinami razpadejo v siriščniku pod vplivom nižjega pH. Perez-Maldonado in sod. (1995, cit. po McSweeney in sod., 2001) navajajo, da je prebava beljakovin v siriščniku in tankem črevesu v veliki meri odvisna od sposobnosti vezave taninov na beljakovine.

V poskusu, ki so ga opravili McNeill in sod. (1998, cit. po McSweeney in sod., 2001) so ugotavljali, kakšno je delovanje taninov iz rodu *Leucaena* na beljakovine in kako to vpliva na post-ruminalno prebavo beljakovin. Ugotavljali so tudi, ali se lahko izolirani čisti kondenzirani tanini *Leucaene* vežejo na beljakovine. Dokazali so, da se prebavljivosti beljakovin pri rastlinah rodu *Leucaena* močno razlikujejo. Prebavljivost beljakovin vezanih v komplekse s tanini je bila v tankem črevesju večja od 78 %, pri tem pa vrsta tanina ni imela vpliva na prebavljivost. Zato so McNeill in sod. (1998, cit. po McSweeney in sod., 2001) domnevali, da je razpad taninsko-beljakovinskega kompleksa in s tem povečan pretok beljakovin krme v tanko črevo možen. Vendar pa Palmer in McSweeney (2000, cit. po McSweeney in sod., 2001) ugotavljajo, da se med prebavo sproščeni tanini lahko vežejo na endogene beljakovine in povzročijo povečano izločanje teh beljakovin.

Garg in sod. (1992) ter Dawson in sod. (1999) so opazili, da krmljenje taninov poveča poškodbe črevesne sluznice, kar še dodatno povečuje porabo beljakovin za njeno obnovo. Zaradi poškodb sluznice se zmanjšata absorpcija in izkoristljivost aminokislin za prirajo mesa, mleka in volne ter reprodukcijo. Te ugotovitve sta potrdila tudi Palmer in McSweeney (2000, cit. po McSweeney in sod., 2001), ki sta z dodajanjem polietilen glikola v sirišnik ovac, krmljenih z obrokom, kjer je 30 % vse krme predstavljala vrsta *Calliandra* sp., izmerila dvakrat boljšo rast volne. Rast volne je odvisna od prebave beljakovin. Z dodajanjem polietilen glikola v sirišnik najverjetneje preprečimo vezavo prostih taninov na beljakovine krme in na črevesne celice. S tem poskusom sta Palmer in McSweeney (2000, cit. po McSweeney in sod., 2001), potrdila tezo o načinu delovanja taninov v post-ruminalni prebavi.

Decruyenaere in sod. (1996, cit. po Sliwinski, 2002) navajajo, da majhne količine taninskega izvlečka iz kostanja povečujejo delež ne-amoniakalnega dušika (NAN) v dvanajsterniku rastočih bikov za 5%, posledica česar je večja prebavljivosti beljakovin v samem črevesju. Kljub temu je bila prebavljivost beljakovin (N) v celotnem prebavnem traktu enaka kot pri živalih, ki taninskega izvlečka niso zauživali.

### 2.2.2 Vpliv taninov na mikroorganizme

Polifenoli z vezavo na beljakovine krme zmanjšujejo količino mikroorganizmom dostopnega dušika. Zato so za prebavo beljakovin zelo pomembne vse vrste mikroorganizmov, ki lahko delujejo v prisotnosti taninov ali taninsko-beljakovinskih kompleksov. V predželodcih živali, ki uživajo s tanini bogato hrano, so prisotne nekatere tipične vrste bakterij. Gre za anaerobne bakterije, ki lahko razkrojijo komplekse med hidrolizirajočimi tanini in beljakovinami, ne pa tudi kompleksov med kondenziranimi tanini in beljakovinami. Te bakterije so odkrili tudi v prebavilih mnogih neprežvekovalcev (Osawa, 1990, 1992, cit. po McSweeney in sod., 2001; Osawa in sod., 1993, cit. po McSweeney in sod., 2001; McSweeney in sod., 1999).

Pri razgradnji kompleksov med hidrolizirajočimi tanini in beljakovinami, encimi najverjetneje depolimerizirajo komplekse s cepljenjem estrskih vezi med glukozo in fenolnimi skupinami (Skene in Brooker, 1995, cit. po McSweeney in sod., 2001). Mehanizem razkroja kompleksov med kondenziranimi tanini in beljakovinami je podoben opisanemu, vendar poteka le v aerobnih razmerah, razkroja teh kompleksov v predželodcih najverjetneje ni (McSweeney in sod., 1999). McSweeney in sod. (1999) menijo, da proteolitične bakterije naseljujejo predželodce v relativno velikem številu kljub prisotnosti taninov. Brooker in sod. (1994), ter Nemoto in sod. (1995, cit. po McSweeney in sod., 2001), so dokazali, da proteolitične bakterije tanine dobro prenašajo. Zanimivo je, da je bilo pred in dve uri po krmljenju vrste *Calliandra* sp. v predželodcih veliko proteolitičnih bakterij, četudi je bila koncentracija amoniaka v vampnem soku zelo majhna (Brooker in sod., 1994; Nemoto in sod., 1995, cit. po McSweeney in sod., 2001). Do enakih ugotovitev sta prišla tudi Cotta in Russell (1997, cit. po McSweeney in sod., 2001), ki pa sta ugotovila tudi, da so proteolitična aktivnost črevesnih bakterij, njihovo število in prevladujoče vrste odvisne predvsem od vrste krme. Rast proteolitičnih mikroorganizmov je bolj kot od vrste beljakovin odvisna od razpoložljive energije in/ali fermentabilnosti krme. Prav tako pa je inkubacija s taninom bogatih rastlin v vampnem soku pokazala, da je sposobnost mikroorganizmov za razgradnjo beljakovin odvisna tudi od vrste živali (Odenyo in sod., 1999, cit. po McSweeney in sod., 2001), kar pa je najverjetneje posledica prilagoditve mikroorganizmov na prisotnost taninov v krmi.

Nekoliko slabše pa prisotnost taninov prenašajo mikroorganizmi, ki fermentirajo ogljikove hidrate in nukleinske kisline. Ob stiku s temi mikroorganizmi tanini reagirajo z njihovimi celičnimi stenami in z encimi, ki jih ti mikroorganizmi izločajo. Zato je prenos hranljivih snovi v mikroorganizme oviran (McSweeney in sod., 2001), onemogočeno pa je tudi delovanje encimov (Reed, 1995). Raziskave so pokazale, da tanini zaviralno delujejo na celulaze, amilaze, galaktozidaze (Butler, 1992, cit. po McSweeney in sod., 2001), pektinaze (Lowry in sod., 1996), proteaze in glutamin dehidrogenaze (Kumar in Vaithyanathan, 1990).

Reakcije med tanini in mikroorganizmi v predželodcih niso zelo pogoste, saj pri ugodnem pH v predželodcih tanini prvenstveno tvorijo komplekse z drugimi molekulami, kot so beljakovine, ogljikovi hidrati in rudninske snovi (Jansman, 1993; Skubic in sod., 1995). Mikrobna populacija v predželodcih prežvekovalcev je odvisna tako od količine hranljivih snovi v krmi in vsebnosti taninov v njej, kot tudi od odpornosti mikro-organizmov na delovanje taninov (Nelson in sod., 1998, cit. po McSweeney in sod., 2001; Jones in sod., 1994, cit. po McSweeney in sod., 2001).

Makkar in sod. (1997) poročajo, da s kondenziranimi tanini bogata vlaknina, netopna v nevtralnem detergentu (NDV), ni vplivala na rast mikroorganizma *Clostridium perfringens*. Poročajo tudi, da je dodajanje polietilen glikola neposredno v predželodce močno povečalo sproščanje plinov iz z kondenziranimi tanini bogate NDV. Ti rezultati kažejo, da vezani kondenzirani tanini ne vplivajo na mikrobno fermentacijo. Negativen vpliv na mikrobno fermentacijo imajo le, če se zaradi mikrobne aktivnosti sprostijo. Delovanje vezanih taninov v prebavi torej ni nujno enako delovanju prostih taninov. Mikroorganizmi, ki fermentirajo vlaknino, so lahko podvrženi veliko večji koncentraciji taninov med prebavo vlaknine, vendar pa so tanini na vlaknino vezani in zato ne vplivajo na fermentacijo v predželodcih. Te hipoteze še niso popolnoma preverjene, saj metod, s katerimi bi določili koncentracijo taninov, ki se sprošča v mikrookolje med prebavo krme, ne poznamo (Makkar, 2003).

#### 2.2.4 Vpliv taninov na prebavo vlaknine

Vpliv taninov na prebavo vlaknine je v primerjavi s prebavo dušika drugotnega pomena. Vendar pa so raziskave pokazale, da se prebava vlaknine v predželodcih prežvekovalcev ob zaužitju nokote (*Lotus pedunculatus*), ki vsebuje 9,5 % kondenziranih taninov, oziroma *C. calothyrsus*, ki vsebuje 6 % prostih kondenziranih taninov, zmanjša (Barry in sod., 1986; Waghorn in sod., 1987; Palmer in McSweeney, 2000, cit. po McSweeney in sod., 2001).

Tanini lahko zmanjšajo mikrobiološko prebavo vlaknine z zaviranjem delovanja celulolitičnih mikroorganizmov. McSweeney (1998) je dokazal, da je obrok s 30 % vrste *Calliandra* spp. močno zmanjšal število celulolitičnih bakterij, vključno s *Fibrobacter succinogenes* in *Ruminococcus* spp.

Tanini zmanjšajo razgradnjo strukturnih ogljikovih hidratov, saj zmanjšajo število celulolitičnih bakterij v vampnem soku (Singleton, 1981, cit. po Sliwinski in sod., 2002), zavirajo delovanje celulaz (Makkar, 1993, cit. po Sliwinski in sod., 2002; Leinmüller in sod., 1991, cit. po Sliwinski in sod., 2002), preprečujejo vezavo mikroorganizmov na delce krme (Leinmüller in Menke, 1990, cit. po Sliwinski in sod., 2002) in preprečujejo mikrobnno razgradnjo krme s tvorbo kompleksov z mikroorganizmi (McSweeney in sod., 2001). Leinmüller in sod. (1991, cit. po Sliwinski in sod., 2002) navajajo, da se zaradi taninov zmanjša količina sproščenega metana na enoto dejansko fermentirane organske snovi, kar pa ne vpliva na razgradnjo vlaknine (Machmüller in sod., 1998, cit. po Sliwinski in sod., 2002).

Predhodno smo že navedli, da tanini vplivajo na nekatere specifične populacije vampnih mikroorganizmov, vendar obstaja tudi možnost, da je specifična aktivnost vampnih mikroorganizmov zgolj oslABLJENA. Tako so McSweeney in sod. (1998) ugotovili, da prisotnost 2 do 3 % taninov v krmi deluje zaviralno na fibrolitične bakterije, ne vpliva pa na sintezo mikrobnih beljakovin.

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 LOKACIJA IN PRIREJA MLEKA

Poskus smo izvedli na kmetiji, ki leži na nadmorski višini 850 m. Kmetija ima 16 ha obdelovalnih površin, od tega 2 ha v najemu. Travnikov in pašnikov je 15,6 ha, 0,4 ha pa je njiv.

#### 3.2 POSKUSNE ŽIVALI IN OBROKI

##### 3.2.1 Poskusne živali in njihovo krmljenje

V poskus smo vključili vseh 20 krav rjave pasme, s prirejo mleka v standardni laktaciji v letu 2003 5624 kg mleka. Na molzni dan smo v letu 2003 priredili povprečno 17,6 kg mleka z 3,92 % mlečne maščobe in 3,38 % mlečnih beljakovin. Povprečno število molznih dni na kravo je bilo 319,7. V času poskusa (leta 2004) so bile 3 krave v prvi in sedmi laktaciji, 6 krav v drugi, 4 krave v tretji laktaciji in po ena v četrti, peti, šesti in osmi laktaciji.



Slika 1: Krave v hlevu (Foto: J. Suhoveršnik)

Krave smo pred pričetkom poskusa razdelili v dve enako veliki skupini, ki smo jih skušali čim bolj izenačiti glede na mlečnost, stadij laktacije in zaporedno laktacijo. To smo storili s podatki redne mesečne kontrole opravljene v juniju 2004. Ob delitvi živali na skupine je bilo v prvi skupini (K-TAN) 10 krav, ki so v času poskusa dobivale kostanjeve tanine (Tanin, Sevnica), preostalih 10 krav molznic pa smo uporabili, kot kontrolno skupino (K-KON).

Število živali pa je ob posameznih kontrolah odstopalo od navedenega, ker smo nekatere živali presušili, v skupine pa smo vključevali tudi živali, ki so v času izvajanja poskusa telile. Tako je bilo ob 1, 2, 4, 5, 7 in 11 kontroli (mlečnosti in sestave mleka) v poskusu 16 krav, v 3, 6 in 8 kontroli pa 15 krav. V 9 in 10 kontroli je bilo v poskusu 17 živali.

Osnovni obrok živali je predstavljal pašo, ki smo jo izvajali po sistemu obročne paše tako, da so krave dobile okoli 60 % paše dopoldne in okoli 40 % popoldne. Preden smo živali odgnali na pašo, smo jim ponudili še mrvo po volji (okoli 5 kg mrve dnevno). Tako sestavljen osnovni obrok smo dopolnili še z 0,5 kg koruze, 1,5 kg pesnih rezancev, okoli 4 kg krmne mešanice za mleko K-19 (Jata-Emona, Ljubljana) in mineralno vitaminskim dodatkom (Dobrodej). Skupini molznic, ki je dobila v obroku kostanjeve tanine (K-TAN), smo v krmno mešanico zamešali po 30 g taninskega ekstrata Farmatan (Tanin, Sevnica) na kg krmne mešanice.

Od 25. oktobra 2004 naprej smo obrok molznic postopno spreminjali, tako da je bilo v njem čedalje več sena in travne silaže. Po koncu paše sta seno in pašo predstavljal osnovni obrok. Količine drugih krmil v obroku so tudi po koncu paše ostale nespremenjene.

### **3.2.2 Potek poskusa**

Poskus smo začeli izvajati 20. junija 2004. S tem dnem so živali dobivale obroke z in brez taninov. Poskus smo izvajali celo pašno sezono in ga nadaljevali še 14 dni na zimskem obroku. Zadnje meritev (in s tem zaključili poskus) smo opravili 24. novembra 2004. Celotno obdobje trajanja poskusa je bilo 158 dni.





Slika 2: Priprava krmil (Foto: D. Suhoveršnik) Slika 3: Kontrolor pri kontroli mleka (Foto: J. Suhoveršnik)

### 3.2.3 Kontrole mlečnosti, vzorčenje mleka in analize sestave mleka

Molža krav je potekala v mlekovod. Prvo kontrolo mlečnosti in odvzem vzorcev smo opravili 9. julija 2004. Od takrat naprej smo mlečnost kontrolirali in odvzeli vzorce vsakih 14 dni ( $\pm 3$  dni). Zadnjo kontrolo smo opravili 24. novembra 2004.

Poleg meritev količine namolzenega mleka, smo mleko analizirali še na vsebnost mlečnih maščob (MM), mlečnih beljakovin (MB), laktoze in sečnine (UREA). Analize vzorcev so opravili v Mlekarskem inštitutu na Rodici.

### 3.3 STATISTIČNA ANALIZA

Vpliv dodatka taninskega ekstrakta Farmatan 75 na mlečnost in sestavo mleka (mlečne maščobe, mlečne beljakovine, laktoze in sečnine) ob posameznih mlečnih kontrolah smo izračunali s pomočjo SASove procedure PROC GLM (analiza variance; SAS/STAT, 1994).

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Kjer je:

$Y_{ij}$  = mlečnost ali sestava mleka (mlečna maščoba, mlečne beljakovine, laktoza, sečnina)

$\mu$  = srednja vrednost

$T_i$  = dodatek tanina (K-TAN, K-KON)

$e_{ij}$  = ostanek

## 4 REZULTATI

### 4.1 PRIMERJAVA PODATKOV MED POSKUSNO IN KONTROLNO SKUPINO NA ZAČETKU POSKUSA

V preglednici 1 so prikazani podatki, ki kažejo na to, kakšne so bile razlike med kontrolno (K-KON) in poskusno (K-TAN) skupino krav molznic ob začetku poskusa.

Preglednica 1: Razlike med poskusno in kontrolno skupino krav molznic na začetku poskusa, dne 10. junija 2004

	<b>K-KON</b>	<b>K-TAN</b>
Mlečnost (kg/dan)	20,0	19,4
Dnevi laktacije	110	103
Zaporedna telitev	3,86	2,75
Mlečne maščobe (%)	3,58	3,74
Mlečne beljakovine (%)	3,28	3,36
Laktoza (%)	4,65	4,67
Krmna mešanica (kg na žival na dan)	3,81	3,89

Osnovni kriterij za razdelitev črede je bila mlečnost. Le ta je bila v skupini K-KON za 0,6 kg večja kot v skupini K-TAN, vendar razlika ni bila statistično značilna ( $P>0,05$ ). Tudi po drugem kriteriju, ki smo ga uporabili za razdelitev krav v skupine, po dnevih v laktaciji, smo uspeli relativno dobro izenačiti skupini živali, saj je bila razlika med skupinama le 7 dni. Vendar pa sta bili skupini neizenačeni glede na zaporedno telitev, saj so bile krave v skupini K-KON v povprečju v 3,86 laktaciji, medtem ko so bile krave v skupini K-TAN v povprečju v 2,75 laktaciji. Skupina K-TAN je imela v mleku nekoliko več maščob (3,74 %) in beljakovin (3,36 %) kot skupina K-KON (3,58 % MM in 3,28 % MB). V vsebnosti laktoze med

skupinama ni bilo razlik, prav tako pa sta obe skupini v povprečju zauživali enako količino sestavljene krmne mešanice.

## 4.2 MLEČNOST

Mlečnost živali v poskusnem obdobju je prikazana v preglednici 2 in sliki 4.

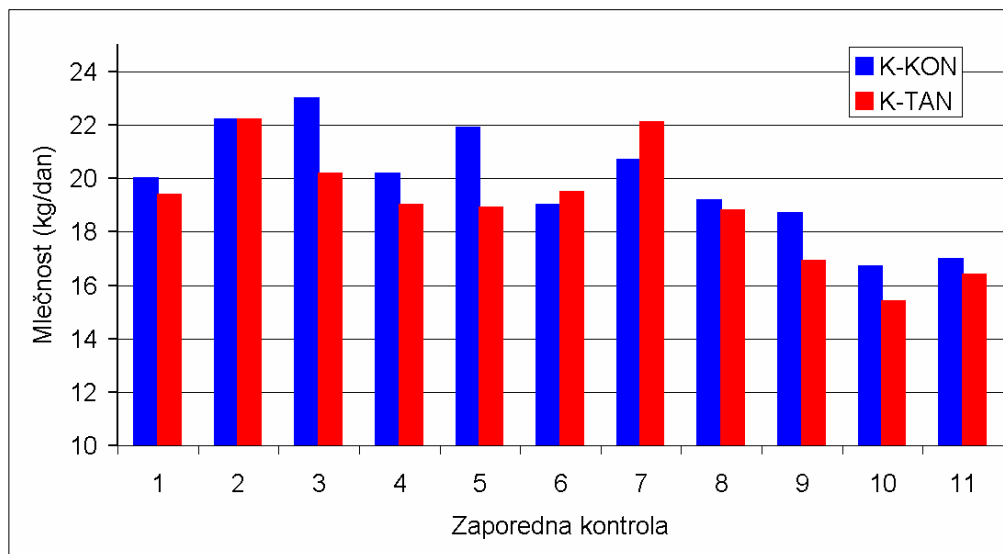
Preglednica 2: Mlečnost krav (kg/dan) ob mlečnih kontrolah kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

Zaporedna kontrola	K-KON	K-TAN	P =
1 (pred poskusom)	20,0 ± 4,27*	19,4 ± 2,90*	0,78
2	22,2 ± 5,76	22,2 ± 5,07	1,00
3	23,0 ± 3,79	20,2 ± 5,01	0,24
4	20,2 ± 2,72	19,0 ± 5,50	0,44
5	21,9 ± 2,58	18,9 ± 7,16	0,32
6	19,0 ± 2,88	19,5 ± 3,18	0,74
7	20,7 ± 3,54	22,1 ± 4,58	0,51
8	19,2 ± 4,95	18,8 ± 5,40	0,87
9	18,7 ± 4,75	16,9 ± 4,62	0,46
10	16,7 ± 4,32	15,4 ± 3,88	0,57
11	17,0 ± 4,23*	16,4 ± 3,25*	0,74

\* srednja vrednost ± standardna deviacija

Povprečna mlečnost krav v obeh skupinah (K-KON in K-TAN) se je do druge kontrole (prve kontrole po začetku krmljenja taninov skupini K-TAN) dvignila na 22,2 kg mleka. To je bila tudi največja dosežena mlečnost krav v skupini K-TAN v poskusnem obdobju. Po drugi kontroli se je mlečnost krav v tej skupini zmanjšala na 18,9 kg mleka v peti kontroli in se

dvignila na 22,1 kg ob sedmi kontroli. Potem se je mlečnost krav v tej skupini zmanjševala do konca poskusnega obdobja. Povprečna mlečnost krav v skupini K-KON se je po povečevala še do tretje kontrole (23,0 kg mleka), potem pa se je zmanjševala do konca poskusnega obdobja.



Slika 4: Mlečnost krav (kg/dan) ob mlečnih kontrolah kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

Razlike v mlečnosti krav med skupinama niso bile statistično značilne ( $P > 0,05$ ). Mlečnost krav v skupini K-KON je bila ob vseh kontrolah večja kot pri kravah v skupini K-TAN, razen ob sedmi kontroli, ko so krave iz skupine K-TAN molzle povprečno 22,1 kg mleka, medtem ko so krave iz skupine K-KON dale 20,7 kg mleka. Ob zadnji kontroli, ko so živali dobivale že zimski obrok, se je mlečnost glede na predhodno kontrolo v skupini krav K-TAN povečala za okoli 1 kg, medtem ko je v skupini K-KON ostala praktično nespremenjena.

#### 4.3 MLEČNE MAŠČOBE (MM)

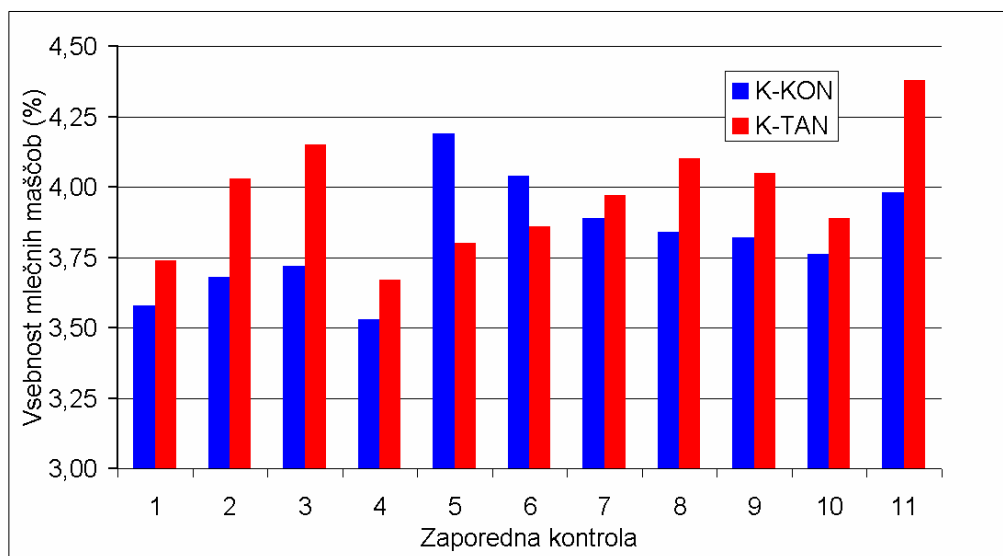
Vsebnost mlečnih maščob ob mlečnih kontrolah v skupinah krav K-KON in K-TAN je prikazana v preglednici 3 in sliki 5. Skupina krav, ki je s sestavljenim močnim krmilom

zauživala tanine (K-TAN), je imela v celotnem poskusnem obdobju v mleku več mlečnih maščob kot kontrolna skupina (K-KON), razen v peti in šesti kontroli, ko je mleko skupine K-KON imelo več mlečnih maščob. Odstotek mlečnih maščob se je v skupini K-TAN povečevala do tretje kontrole, ob četrti kontroli dosegel najnižjo vrednost (3,67 %) in se nato do konca poskusa povečevala.

Preglednica 3: Vsebnost mlečnih maščob (%) ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN).

Zaporedna kontrola	K-KON	K-TAN	P =
1 (pred poskusom)	3,58 ± 0,35*	3,74 ± 0,50*	0,49
2	3,68 ± 0,49	4,03 ± 0,36	0,12
3	3,72 ± 0,51	4,15 ± 0,44	0,10
4	3,53 ± 0,66	3,67 ± 0,85	0,60
5	4,19 ± 0,51	3,80 ± 0,49	0,14
6	4,04 ± 0,27	3,86 ± 0,67	0,54
7	3,89 ± 0,72	3,97 ± 0,73	0,84
8	3,84 ± 0,77	4,10 ± 0,57	0,30
9	3,82 ± 0,75	4,05 ± 0,78	0,54
10	3,76 ± 0,81	3,89 ± 0,66	0,74
11	3,98 ± 0,67*	4,38 ± 0,87*	0,32

\* srednja vrednost ± standardna deviacija



Slika 5: Vsebnost mlečnih maščob (%) ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

Vsebnost MM se je v skupini K-KON do tretje kontrole nekoliko povečevala, in potem, podobno kot pri skupini K-TAN, dosegla najnižjo vrednost ob četrti kontroli (3,53 %). Po četrti kontroli se je vsebnost MM v skupini K-KON povečevala do šeste kontrole (4,04 %) in nato do desete kontrole (3,76 %) upadala. Ko so živali popolnoma prešle na zimski obrok (ob 11. kontroli), se je vsebnost mlečnih maščob v obeh skupinah povečala in dosegla 4,38 % v skupini K-TAN in 3,98 % v skupini K-KON. Ne glede na razlike v gibanju vsebnosti MM med posameznimi kontrolami, nismo ugotovili nobenih statistično značilnih razlik v vsebnosti MM med obema skupinama ob posameznih kontrolah.

#### 4.4 MLEČNE BELJAKOVINE (MB)

Preglednica 4 in slika 6 prikazujeta gibanje vsebnosti MB v obeh skupinah med kontrolami. Razen ob sedmi in enajsti kontroli je bila vsebnost MB večja v skupini K-KON. Razlike med skupinama v vsebnosti MB so bila največje ob drugi kontroli (0,17 %), najmanjše pa ob sedmi kontroli (0,03 %), vendar ob nobeni kontroli niso bile statistično značilne ( $P > 0,05$ ). Vsebnost

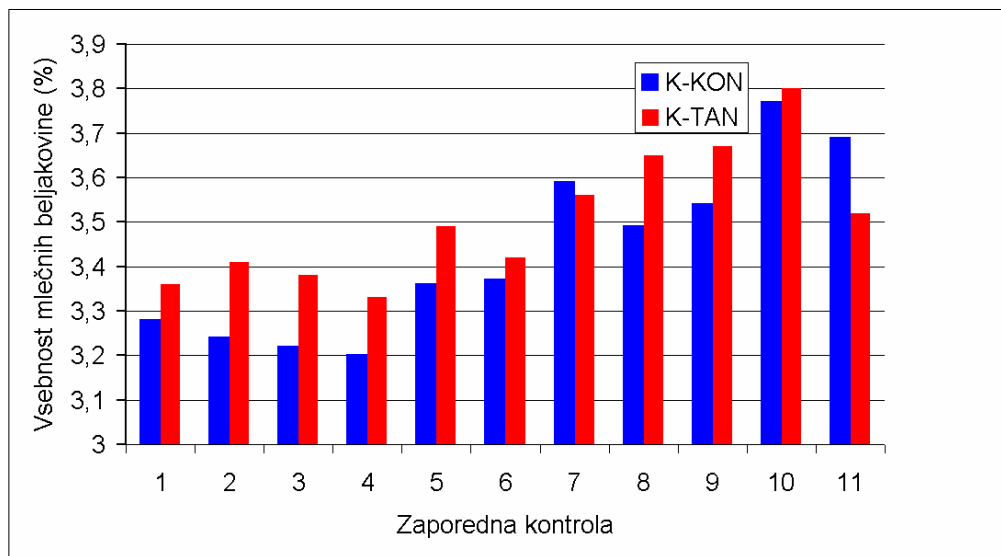
MB v mleku obeh skupin je bila do četrte kontrole bolj ali manj enaka in se je potem začela povečevati vse do desete kontrole. Ob enajsti kontroli, ko so živali prejemale zimski obrok, smo zabeležili nekoliko manjše vsebnosti MB kot ob deseti kontroli (3,52 oz. 3,77 % ob enajsti kontroli in 3,80 oz. 3,69 % ob deseti kontroli v skupini K-TAN oz. K-KON).

Preglednica 4: Vsebnost mlečnih beljakovin (%) ob mlečnih kontrolah v mleku kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

Zaporedna kontrola	K-KON	K-TAN	P =
1 (pred poskusom)	3,28 ± 0,20*	3,36 ± 0,28*	0,54
2	3,24 ± 0,19	3,41 ± 0,31	0,21
3	3,22 ± 0,13	3,38 ± 0,28	0,20
4	3,20 ± 0,12	3,33 ± 0,26	0,09
5	3,36 ± 0,13	3,49 ± 0,37	0,38
6	3,37 ± 0,17	3,42 ± 0,36	0,74
7	3,59 ± 0,14	3,56 ± 0,36	0,82
8	3,49 ± 0,25	3,65 ± 0,33	0,16
9	3,54 ± 0,22	3,67 ± 0,36	0,42
10	3,77 ± 0,29	3,80 ± 0,30	0,84
11	3,69 ± 0,37*	3,52 ± 0,30*	0,33

\* srednja vrednost ± standardna deviacija





Slika 6: Vsebnost mlečnih beljakovin (%) ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

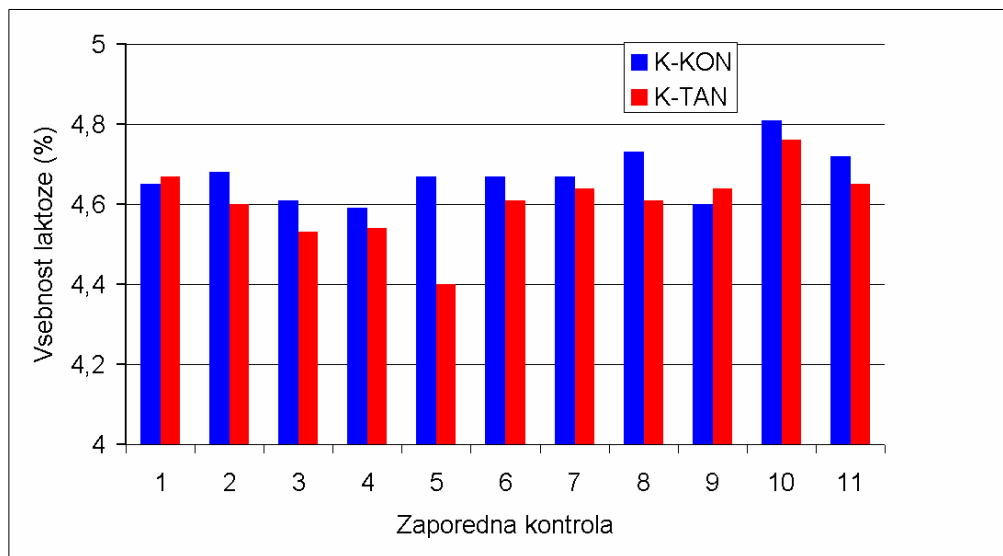
#### 4.5 LAKTOZA V MLEKU

Vsebnost laktoze v mleku ob mlečnih kontrolah je za skupini krav K-KON in K-TAN prikazana v preglednici 5 in sliki 7. Ob prvi kontroli, ki je bila opravljena pred poskusom, sta bili skupini glede na vsebnost laktoze v mleku izenačeni. Po prvi kontroli je vsebnost laktoze v skupini krav K-TAN padala vse do 5 kontrole, ko je dosegla najnižjo vsebnost (4,40 %). V skupini krav K-KON se je vsebnost laktoze ob drugi kontroli nekoliko povečala, v naslednjih kontrolah pa je upadala, vendar zmanjševanje vsebnosti ni bilo tolikšno kot pri skupini K-TAN. Po peti kontroli, se vsebnost laktoze pri obeh skupinah povečala in dosegla največjo vrednost pri obeh skupinah v 10 kontroli (4,76 oziroma 4,81 za skupini K-TAN oziroma K-KON). Skupina krav K-TAN je imela večjo vsebnost laktoze v mleku samo ob prvi in deveti kontroli.

Preglednica 5: Vsebnost laktoze (%) ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in krav skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

Zaporedna kontrola	K-KON	K-TAN	P =
1 (pred poskusom)	4,65 ± 0,11*	4,67 ± 0,23*	0,88
2	4,68 ± 0,22	4,60 ± 0,26	0,53
3	4,61 ± 0,18	4,53 ± 0,30	0,54
4	4,59 ± 0,18	4,54 ± 0,24	0,48
5	4,67 ± 0,21	4,40 ± 0,68	0,33
6	4,67 ± 0,23	4,61 ± 0,26	0,64
7	4,67 ± 0,13	4,64 ± 0,23	0,74
8	4,73 ± 0,22	4,61 ± 0,28	0,18
9	4,60 ± 0,17	4,64 ± 0,14	0,60
10	4,81 ± 0,23	4,76 ± 0,16	0,64
11	4,72 ± 0,22*	4,65 ± 0,28*	0,61

\* srednja vrednost ± standardna deviacija



Slika 7: Vsebnost laktoze (%) ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in krav skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

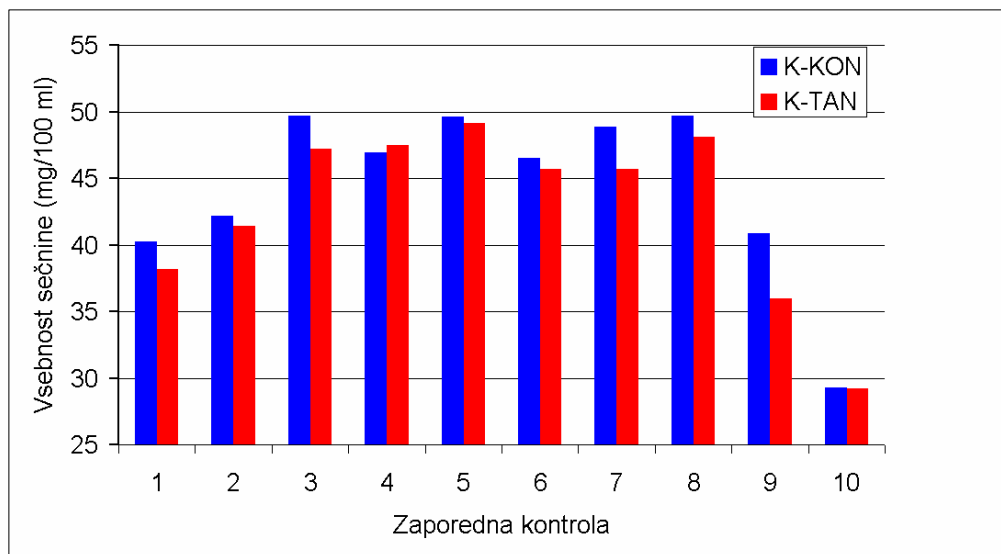
#### 4.6 SEČNINA V MLEKU

Gibanja vsebnosti sečnine v mleku pri kontrolni skupini (K-KON) in skupini, ki je zauživala tanine (K-TAN) so prikazana v preglednici 6 in sliki 8. Pred začetkom poskusa meritve sečnine niso bile opravljene, zato ta kontrola v preglednici 6 in sliki 8 ni navedena. Spremembe v vsebnosti sečnine med kontrolami so zelo podobne pri obeh skupinah živali. Tako se vsebnost sečnine do četrte kontrole povečuje, takrat pa doseže plato, ko spremembe v vsebnosti niso zelo velike. Po deveti kontroli vsebnost sečnine v mleku prične upadati in doseže najmanjšo vrednost pri obeh skupinah živali ob enajsti kontroli (29,18 oz. 29,30 mg/100 ml mleka za K-TAN in K-KON).

Preglednica 6: Vsebnost sečnine (mg/100 ml) ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN)

Zaporedna kontrola	K-KON	K-TAN	P =
2	40,22 ± 4,24*	38,18 ± 5,96*	0,55
3	42,20 ± 8,46	41,39 ± 5,66	0,83
4	49,67 ± 6,22	47,19 ± 7,12	0,31
5	46,93 ± 4,45	47,45 ± 7,45	0,87
6	49,61 ± 4,23	49,11 ± 7,25	0,87
7	46,55 ± 3,48	45,68 ± 5,63	0,71
8	48,86 ± 6,19	45,67 ± 6,32	0,17
9	49,69 ± 4,74	48,07 ± 7,14	0,60
10	40,84 ± 6,76	35,97 ± 2,60	0,08
11	29,30 ± 4,56*	29,18 ± 2,38*	0,95

\* srednja vrednost ± standardna deviacija



Slika 8: Vsebnost sečnine (mg/100 ml) ob mlečnih kontrolah v mleku krav kontrolne skupine (K-KON) in skupine, ki je zauživala tanine (K-TAN).

Med skupinama K-KON in K-TAN ob posameznih kontrolah ni bilo statistično značilnih razlik ( $P > 0,05$ ), vendar pa je ob posameznih kontrolah mleko krav skupine K-TAN vedno vsebovalo manj sečnine kot mleko krav kontrolne skupine (K-KON).

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

Pogoj za prirejo velikih količin mleka, je ustrezna oskrbljenost živali z vsemi hranljivimi snovi, ki so potrebni za ohranjanje telesnih funkcij, prirejo in reprodukcijo. Mlečnost živali je v veliki meri odvisna od količine in kakovosti zaužite krme. Lavrenčič (2001) navaja, da pri intenzivni reji selekcioniranih prežvekovalcev prirast mikrobne mase pogosto ne zadovolji vseh potreb prežvekovalcev po beljakovinah. V tem primeru je treba obrok dopolniti s krmili, katerih beljakovine se v večjem obsegu izogonejo razgradnji v predželodcih in se prebavijo šele v siriščniku ter tankem črevesu.

Preveliki razgradnji rastlinskih beljakovin v predželodcih se lahko izognemo, če v obrok vključujemo tanine, ki v prebavnem traktu z beljakovinami obroka tvorijo komplekse, ki jih vampni mikroorganizmi in njihovi encimi niso sposobni razgraditi (Mangan, 1988; Kumar in Vaithyanathan, 1990; Reed, 1995; Butter in sod., 1999). Večjo prirejo živali, opaženo ob dodajanju manjše količine taninov, so Waghorn in Shelton (1997, cit. po Makkar, 2003) pripisali zaščiti beljakovin krme pred razgradnjo v predželodcih. To pa pomeni, da se poveča pretok aminokislin v tanko črevo in se poveča absorpcija teh aminokislin iz črevesja.

V našem poskusu smo tako pričakovali ugoden vpliv kostanjevih taninov na mlečnost in sestavo mleka. Vendar pa se mlečnost ni izboljšala. Pri tem gre omeniti tudi to, da imata na mlečnost živali velik vpliv tudi zaporedna laktacije in stadij laktacije, ki smo ju v naši raziskavi upoštevali zgolj za razporeditev živali po skupinah (preglednica 1), nismo ju pa upoštevali pri statistični analizi. Ravno stadij laktacije se je med poskusom najbolj spreminjal, saj smo v posamezne skupine vključevali živali, ki so med izvajanjem poskusa telile. Najverjetneje so to poglavitni vzroki, da se mlečnost živali zaradi dodajanja taninov ni izboljšala. Možno pa je, da je bila količina zaužitih taninov premajhna, saj taninski ekstrakt predstavlja samo 0,5% suhe snovi obroka (120g/ žival na dan).

Tudi Orešnik (1996) je v svojih poskusih, ki jih je izvedel na treh kmetijskih obratih, usmerjenih v prirejo mleka, ugotovil, da kostanjevi tanini v količini 75-100g/ žival na dan niso imeli vpliva na mlečnost krav. Maasdorp in sod. (1999), ki so kravam molznicam krmili liste drevesne vrste *Calliandra calothyrsus* (1,5 kg/dan), ki vsebuje kondenzirane tanine ter zraven dodali še polietilen glikol, so prišli do podobnih ugotovitev, da dodani tanini *Calliandra calothyrsus* niso imeli vpliva na mlečnost krav. V istem poskusu pa so Maasdorp in sod. (1999) ugotavljali, tudi upliv listov bogatih z kondenziranimi tanini drevesnih vrst *Leucaena leucocephala* in *Acacia boliviana* ter zraven dodanim polietilen glikolom. Ugotovili so, da z njimi lahko povečamo mlečnost pri kravah molznicah. Največja mlečnost 13,9 kg mleka je bila ugotovljena pri skupini, ki so ji v obroku ponudili 1,5 kg listov vrste *Leucaena leucocephala*. Razlika v količini mleka, je bila glede na kontrolno skupino, ki je zauživala samo osnovni obrok in je bila njena mlečnost (11,36 kg) statistično značilna ( $P < 0,001$ ). Pri molznicah, ki so zauživale poleg osnovnega obroka še 1,5 kg listov drevesne vrste *Acacia boliviana*, se je mlečnost povečala za 0,58 kg dnevno, kar je manj kot pri krmljenju *Leucaena leucocephala*. Tudi v poskusu Woodward in sod. (1999), kjer so preučevali vpliv kondenziranih taninov navadne nokote (*Lotus corniculatus*) na mlečnost, so ugotovili, da se mlečnost krav zaradi taninov poveča. V skupini krav krmljenih z nokoto je bila mlečnost 16,5 kg mleka dnevno, medtem ko je bila mlečnost pri skupini, krmljeni z nokoto in dodatkom polietilen glikola (PEG), manjša (13,8 kg dnevno). Prav tako je bila mlečnost večja, če so krmili živali z ljuljko (10,2 kg dnevno), kot pri krmljenju ljuljk z dodatkom PEG (9,9 kg dnevno). Kondenzirani tanini so v poskusu Woodward in sod. (1999) povečali mlečnost za okoli 35 %.

Sestava mleka (vsebnost mlečnih maščob in beljakovin) se v našem poskusu med skupinama ni razlikovala. Skupina K-TAN je imela že pred poskusom in večino časa poskusa v mleku nekoliko večjo vsebnost mlečnih maščob in beljakovin kot kontrolna skupina. Statistično značilnih razlik v vsebnosti mlečnih maščob in beljakovin znotraj kontrol med skupinama ni bilo ( $P > 0,05$ ). Tudi tu imajo lahko drugi vplivi, kot sta stadij laktacije in zaporedna laktacija, večji vpliv na sestavo mleka kot dodajanje kostanjevih taninov v obrok. Lahko tudi, da je bila

količina zaužitih taninov premajhna in ni dosti vplivala na sestavo mleka. Nasprotno pa Orešnik (1996) meni, da bi s krmljenjem kostanjevega tanina lahko vplivali na razgradnjo beljakovin in njihovo izkoriščanje pri prežvekovalcih in tako posredno vplivali tudi na sestavo mleka. Vsebnost beljakovin v mleku krav molznic je odvisna od količine absorbiranih beljakovin krme. Orešnik (1996) je v svojem poskusu z dodajanjem kostanjevih taninov dokazal, da je oskrba živali z beljakovinami boljša in tako povečuje vsebnost beljakovin v mleku, saj se je ob krmljenju krmne mešanice z 2,5 % kostanjevih taninov vsebnost beljakovin mleka povečala za 0,15 %.

Bhatta in sod. (2000) so v svojem poskusu ugotavljali učinek krmljenja lupin semen tamarinda (*Tamarindus indica*) na prebavljivost hranljivih snovi in na prirejo mleka. Pri skupini krav, ki so bile poleg osnovne krme dobile še 7,5 % lupin tamarinda, se je pokazalo, da se je vsebnost beljakovin v mleku povečala za 0,04 % (od 3,49 % pri kontrolni skupini na 3,53 % pri testni skupini). Kljub temu, da je bilo povečanje vsebnosti beljakovin zelo majhno, pa je bila razlika v vsebnosti med skupinama statistično značilna ( $P < 0,07$ ).

Tudi Woodward in sod. (1999) so ugotovili, da krmljenje navadne nokote poleg povečanja mlečnosti, vpliva tudi na vsebnost beljakovin v mleku. Mleko skupine krav, ki so jo krmili z navadno nokoto je vsebovalo 3,61% mlečnih beljakovin, medtem ko je mleko skupine, ki so jo krmili poleg nokote še z polietilen glikolom (PEG) vsebovalo 3,44% mlečnih beljakovin. Za primerjavo: mleko skupine živali, krmljene z ljujko je vsebovalo 3,31%, če pa so ljujki dodali PEG, le ta na vsebnost beljakovin mleka ni imel nobenega vpliva. Woodward in sod. (1999) omenjajo tudi, da kondenzirani tanini nimajo nobenega vpliva na vsebnost maščobe in laktoze v mleku, kar smo ugotovili tudi v našem poskusu.

Če s pomočjo taninov zamnjšamo razgradljivost beljakovin, ki je še posebej velika na obrokih s pašo, potem bi se moralo to poznati tudi na vsebnosti sečnine v mleku. V poskusu smo ugotovili, da je bila vsebnost sečnine pri skupini, ki smo jo krmili s kostanjevim taninom (K-TAN), pri vseh kontrolah, razen pri peti in šesti, res nekoliko manjša od tiste, ugotovljene v



mleku kontrolne skupine. Razlike sicer niso bile statistično značilne. Do podobnih rezultatov so prišli tudi De Campeneere in De Brabander (2005), ki so krmili krave z 20 in 40 g kostanjevega izvlečka na dan in ugotovili, da tanini statistično značilno zmanjšajo vsebnost sečnine v mleku. Njuni in naši rezultati potrjujejo tezo, da kostanjevi tanini vplivajo na razgradnjo in presnovo beljakovin.

## 5.2 SKLEPI

1. Krmljenje krav s kostanjevim izvlečkom ni vplivalo na mlečnost krav. Kontrolna skupina živali (K-KON) je imela v celotnem obdobju večjo mlečnost kot testna skupina živali (K-TAN), razen ob nekaterih kontrolah. Ob nobeni kontroli razlike niso bile statistično značilne. Predvidevamo, da sta na mlečnost bolj vplivala stadij laktacije in zaporedna laktacija kot dodatek taninov.
2. Skupina K-TAN je imela v celotnem obdobju poskusa nekoliko več mlečnih maščob kot kontrolna skupina, kar pa ne moremo pripisati delovanju kostanjevih taninov, saj so razlike med skupinama majhne in niso bile statistično značilne. Predvidevamo, da sta na vsebnost mlečne maščobe bolj vplivala stadij laktacije in zaporedna laktacija kot dodatek taninov.
3. Tudi vsebnost mlečnih beljakovin je bila v obeh skupinah živali enaka. Kljub pričakovanju, da bo dodatek taninov v obroki za krave molznice povečal vsebnost mlečnih beljakovin se to ni zgodilo. Nekoliko večja vsebnost mlečnih beljakovin v mleku krav testne skupine (K-TAN) je lahko posledica razlik med skupinama, zaradi razdeljevanja živali v skupine in zaradi razlik v stadiju laktacije in zaporedni laktaciji.
4. Dodatek kostanjevih taninov ni ob nobeni kontroli vplival na vsebnost laktoze v mleku.
5. Vsebnost sečnine v mleku je bila pri skupini K-TAN skoraj ves čas, z izjemo ene kontrole manjša kot pri kontrolni skupini (K-KON), vendar razlike niso bile statistično značilne. Ker ima na vsebnost sečnine največji vpliv sestava obroka, lahko sklepamo, da je na zmanjšanje njene vsebnosti vplival dodatek tanina v obroki. Vsebnost sečnine je bila pri vseh kontrolah razen zadnji, večja od 40 mg/100 ml mleka, kar je še vedno precej nad zgornjimi priporočenimi vrednostmi za dano mlečnost (30 mg/100 ml mleka).

## 6 POVZETEK

Molznice lahko s sintezo mikrobnih beljakovin v predželodcih priredijo do 4500 litrov mleka v laktaciji. To pomeni, da pri zmerni intenzivnosti prireje mleka, oskrba z beljakovinami ni problematična, pri veliki prireji mleka, torej pri intenzivni reji na mlečnost močno selekcioniranih molznic, pa prirast mikrobne biomase ne zadošča, saj so potrebe po beljakovinah večje od njihove sinteze v predželodcih. V tem primeru moramo sestavljati obroke tako, da so v njih vključena krmila, katerih beljakovine se v večjem obsegu izogonejo razgradnji v predželodcih in se prebavijo šele v siriščniku ter tankem črevesu. To pa ni vedno mogoče, zato si želimo zaščititi beljakovine pred razgradnjo v predželodcih. Eden od načinov zaščite beljakovin krme pred pretirano razgradnjo v predželodcih je tudi izkoriščanje sposobnosti taninov za tvorbo kompleksov z beljakovinami. Ti kompleksi so pri pH vrednostih, ki jih najdemo v predželodcih obstojni in jih mikroorganizmi ne morejo razgraditi, ob spremembi pH pa ti kompleksi razpadejo, beljakovine pa so podvržene encimski prebavi. Zaradi večjega pretoka kakovostnih beljakovin v tanko črevo se izboljšata tako prireja kot sestava mleka. V diplomski nalogi smo preučili, kako dodatek taninskega ekstrakta iz kostanjevega lesa (Farmatan 75; Tanin, Sevnica) v krmno mešanico za mleko vpliva na mlečnost in sestavo mleka. Pri tem smo posebno pozornost posvetili vplivu taninskega ekstrakta na vsebnost beljakovin mleka in na vsebnost sečnine v mleku. V poskus smo vključili 20 krav molznic rjave pasme. Živali smo razdeli v dve skupini (po 10 živali) glede na njihovo mlečnost, ki je bila v prvi skupini 20,0 kg, v drugi skupini pa 19,6 kg mleka, glede na stadij laktacije (prva skupina 110 dni in druga skupina 103 dni) ter glede na zaporedno laktacijo (prva skupina 3,86 let in druga skupina 2,75 leta). Obroka obeh skupin krav molznic sta se razlikovala le v tem, da je druga skupina s sestavljenim močnim krmilom dobila še taninski ekstrakt (30 g/kg krmne mešanice; skupina K-TAN), medtem ko jih prva skupina (K-KON) ni dobila. Dne 20. junija 2004 smo skupini K-TAN začeli krmiti krmno mešanico s tanini, ki so jo živali zauživale do 24. novembra 2004, ko so prešle na polni zimski obrok. Pri obeh skupinah smo na vsakih 14 dni izmerili namolženo količino mleka in določili vsebnost mlečnih maščob, mlečnih beljakovin, laktoze in sečnine v mleku. Skupaj smo v času poskusa opravili 11 kontrol. Skupina K-KON je imela že ob delitvi živali v skupini nekoliko večjo

mlečnost (0,6 kg mleka) kot skupina K-TAN, večjo mlečnost pa je skupina K-KON imela tudi v času krmljenja taninov. Izjemi sta mlečnosti ob peti in šesti kontroli, ko je skupina K-TAN imela večjo mlečnost (19,5 oz. 22,1 kg mleka/dan) kot skupina K-KON (19,0 oz. 20,7 kg mleka/dan). Kljub temu pa razlike v mlečnosti med skupinama K-TAN in K-KON niso bile statistično značilne ( $P > 0,05$ ), kar ni bilo v skladu s pričakovanji, saj smo pričakovali, da bodo tanini vplivali na mlečnost živali. Podobno so bile vsebnosti laktoze v mleku vedno manjše v skupini K-TAN, kot v skupini K-KON, a ob nobeni kontroli niso bile statistično značilne ( $P > 0,05$ ). Takšne rezultate smo tudi pričakovali, saj nismo nikjer zasledili podatkov o tem, da bi tanini lahko vplivali na vsebnost laktoze v mleku. Nasprotno pa je mleko skupine K-TAN vsebovalo v celotnem obdobju poskusa več mlečnih maščob (razen ob peti in šesti kontroli) in mlečnih beljakovin (razen ob sedmi in enajsti kontroli) kot skupina K-KON. Razlike v vsebnosti mlečnih maščob med skupinama so bile ob posameznih kontrolah tudi večje od 0,4 % (druga, peta in enajsta kontrola), a ob nobeni kontroli niso bile statistično značilne ( $P > 0,05$ ). Razlike v vsebnosti mlečnih beljakovin so bile med skupinama majhne, saj niso presegale 0,2 % in niso bile statistično značilne ( $P > 0,05$ ). Dobljeni rezultati niso bili pričakovani, saj smo menili, da bo dodatek taninov spremenil potek fermentacije beljakovin v predželodcih tako, da se bo vsebnost beljakovin v mleku povečala. Vsebnosti sečnine v mleku obeh skupin so bile v času paše živali vedno večje od 35 mg/100 ml mleka in so se šele po prehodu na zimski obrok zmanjšale pod 30 mg/100 ml mleka. Mleko skupine K-TAN je v celotnem poskusu vsebovalo nekoliko manj sečnine v mleku kot mleko skupine K-KON, a razlike med skupinama niso bile statistično značilne ( $P > 0,05$ ). Ti rezultati se ujemajo s pričakovanji, vendar pa smo pričakovali nekoliko večje (statistično značilne) razlike med obema skupinama. Iz vsega navedenega lahko zaključimo, da dodatek 30 g taninskega ekstrakta na kg krmne mešanice za mleko ni vplival na mlečnost oziroma na sestavo mleka, kar lahko pomeni tudi, da je bila količina taninov v obroku premajhna, da bi vplivala na mlečnost in sestavo mleka. Ker je bilo v poskus vključenih relativno malo živali (10 na vsako skupino), ki so bile v različnih stadijih laktacije in v različnih zaporednih laktacijah, je najverjetneje, da so ravno te lastnosti bolj vplivale na mlečnost in sestavo mleka, kot pa dodatek kostanjevih taninov.

## 7 VIRI

- Barry T.N., Duncan S.J. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 1. Voluntary intake. *British journal of nutrition*, 51: 485-491
- Barry T.N., Manley T.R., Duncan S.J. 1986. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 4. Site of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentrations. *British journal of nutrition*, 55: 123-137
- Bhatta R., Krishnamoorthy U., Mohammed F. 2000. Effect of feeding tamarind (*Tamarindus indica*) seed husk as a source of tannin on dry matter intake, digestibility of nutrients and production performance of crossbred dairy cows in mid-lactation. *Animal feed science and technology*, 83: 67-74
- Broderick G.A., Wallace R.J., Orskov E.R. 1991. Control of rate and extent of protein degradation. V: *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. Proceedings of 7<sup>th</sup> international symposium on ruminant physiology*, Sendai, 28. sept. 1989. London, Academic press: 542-579
- Brooker J.D., Donovan L.A., Skene I., Clarke K., Blackall L., Muslera P. 1994. *Streptococcus caprinus* sp. Nov, a tannin-resistant ruminal bacterium from feral goats. *Letters in applied microbiology*, 18: 313-318
- Butter N.L., Dawson J.M., Buttery P.J. 1999. Effects of dietary tannins on ruminants. V: *Secondary plant products*. Caygill J.C., Mueller-Harvey I. (eds.). Nottingham, Nottingham University Press: 51-70
- Dawson J.M., Buttery P.J., Jenkins D., Wood C.D., Gill M. 1999. Effects of dietary quebracho tannins on nutrient utilisation and tissue metabolism in sheep and rats. *Journal of the science of food and agriculture*, 79: 1423-1430
- De Campeneere L. in De Brabander D.L. 2005. Influence of Globatan on milk production and composition in dairy cattle. Melle, Ministry of the Flemish Community Centre for Agricultural Research Department of Animal Nutrition and Husbandry (osebni vir junij 2005)

- Frutos P., Hervas G., Giraldez F.J., Fernandez M., Mantecon A.R. 2000. Digestive utilization of quebracho-treated soya bean meals in sheep. *Journal of agricultural science*, 134: 101-108
- Garg S.K., Makkar H.P.S., Nagal K.B., Sharma S.K., Wadhwa D.R., Singh B. 1992. Toxicological investigations into oak (*Quercus incana*) leaf poisoning in cattle. *Veterinary and human toxicology*, 34: 161-164
- Harborne J.B. 1999. An overview of antinutritional factors in higher plants. V: Secondary plant products. Caygill J.C., Mueller-Harvey I. (eds.). Nottingham, Nottingham University Press: 7-16
- Hedqvist H., Mueller-Harvey I., Reed J.D., Krueger C.G., Murphy M. 2000. Characterisation of tannins and in vitro protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties. *Animal feed science and technology*, 87: 41-56
- Jansman A.J.M. 1993. Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. *Nutrition research reviews*, 6: 209-236
- Kumar R., Vaithyanatha S. 1990. Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. *Animal feed science and technology*, 30: 21-38
- Lavrenčič A. 2001. Razgradljivost beljakovin v predželodcih prežvekovalcev. V: Uporaba kostanjevega tanina v prehrani živali. 9. tradicionalno posvetovanje, Podčetrtek, 22 mar. 2001. Sevnica, Tanin Sevnica: 39-47
- Lowry J.B., McSweeney C.S., Palmer B. 1996. Changing perceptions of the effect of plant phenolics on nutrient supply in the ruminant. *Australian journal of agricultural research*, 47: 829-842
- Maasdorp B.V., Muchenje V., Titterton M. 1999. Palatability and effect on dairy cow milk yield of dried fodder from the forage trees *Acacia boliviana*, *Calliandra calothyrsus* and *Leucaena leucocephala*. *Animal feed science and technology*, 77: 49-59
- Makkar H.P.S. 2003. Effects and tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small ruminant research*, 49: 241-256

- Makkar H.P.S., Becker K., Abel H., Pawelzik E. 1997. Nutrient contents, rumen degradability and antinutritional factors in some colours- and white-flowering cultivars of *Vicia faba* beans. *Journal of the science of food and agriculture*, 75: 511-520
- Makkar H.P.S., Blummel M., Becker K. 1995a. In vitro effects and interactions of tannins and saponins and fate of tannins in rumen. *Journal of the science of food and agriculture*, 69: 481-493
- Makkar H.P.S., Becker K., Abel H., Szegletti C. 1995b. Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effect of QT on fermentation processes in the RUSITEC. *Journal of the science of food and agriculture*, 69: 495-500
- Mangan J.L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutrition research reviews*, 1: 209-231
- McSweeney C.S., Palmer B., Bunch R., Krause D.O. 1999. Isolation and characterisation of proteolytic ruminal bacteria from sheep and goats fed the tannin-containing shrub legume *Calliandra calothyrsus*. *Applied and environmental microbiology*, 65: 3075-3083
- McSweeney C.S., Palmer B., Kennedy P.M., Krause D.O. 1998. Effect of *Calliandra* tannins on rumen microbial function. *Proceedings of Australian society of animal production*, 22: 289
- McSweeney C.S., Palmer B., McNelli D.M., Krause D.O. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal feed science and technology*, 91: 83-93
- Orešnik A. 1996. The effect of chestnut tannins on milk protein content in dairy cattle. *Krmiva*, 38: 21-24
- Orešnik A. 2001. Gospodarnost prireje mleka je odvisna od postopkov vzreje in prehrane telet. V: *Uporaba kostanjevega tanina v prehrani živali*. 9. tradicionalno posvetovanje, Podčetrtek, 22 mar. 2001. Sevnica, Tanin Sevnica: 36-38
- Pritchard D.A., Martin P.R., Rourke P.K. 1992. The role of condensed tannins in the nutritive value of mulga (*Acacia aneura*) for sheep. *Australian journal of agricultural research*, 43: 1739-1746

- Reed J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of animal science*, 73: 1516-1528
- Schultz J.C., Hunter M.D., Appel H.M. 1992. Antimicrobial activity of polyphenols mediates plant-herbivore interactions. V: *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance*. Hemingway R.W., Laks P.E., Branham S.J. (eds.). New York, Plenum Press: 621-637
- Singh B., Bhata T.K., Sharma O.P. 2001. Biodegradation of tannic acid in an in vitro ruminal system. *Livestock production science*, 68: 259-262
- Skubic V., Simčič I., Mrzel I., Štruklec M. 1995. Uporabnost kostanjevih taninov v veterinarski medicini. *Veterinarske novice*, 21: 2-6
- Sliwinski B.J., Soliva C.R., Machmuller A., Kreuzer M. 2002. Efficacy of plant extracts in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Animal feed science and technology*, 101: 101-114
- Waghorn C.G. 1990. Effect of condensed tannin on protein digestion and nutritive value of fresh herbage. *Proceedings of Australian society of animal production*, 18: 412-415
- Waghorn C.G., Ulyatt M. J., John A., Fisher M.T. 1987. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L. *British journal of nutrition*, 57: 115-126
- Woodward S.L., Auldred M.J., Laboyria P.J., Jansen E.B.L. 1999. Effect of *Lotus corniculatus* and condensed tannins on milk yield and milk composition of dairy cows. *Proceedings of the New Zealand society of animal production*, 59: 152-155
- <http://www.gateway.ut.ovid.com/gw1/ovidweb.cgi> (14. apr. 2005)

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju doc. dr. Andreju Lavrenčiču za pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge in izvedbi poskusa. Zahvaljujem se mentorju doc. dr. Andreju Lavrenčiču tudi za pripravljenost in pomoč kadarkoli je bilo potrebno.

Ge. Ireni Jereb in ostalim zaposlenim v laboratoriju za mlekarstvo na Rodici se iskreno zahvaljujem za sprejem in pregled vzorcev mleka.

Podjetju Tanin Sevnica se zahvaljujem za podporo pri izvedbi poskusa z financiranjem in dostavo ekstrakta kostanjevih taninov (Farmatan 75) na kmetijo.

Go. Markotu Sovinšku se iskreno zahvaljujem za izvedbo in pomoč pri kontroli mleka v času poskusa.

Dr. Nataši Siard se zahvaljujem za pregled diplomske naloge in za potrpežljivost. Tudi ge. Cvetki Grbec in ge. Jerneji Bogataj se zahvaljujem za pomoč pri iskanju literature.

Maji Orehek in Anji Černevshek se zahvaljujem za prevajanje angleškega teksta in prijateljski klepet.

In nenazadnje tudi zahvala mami in atu ter družini za pomoč pri izvedbi poskusa in podporo v času študija.

Tudi vsem neimenovanim se iskreno zahvaljujem za kakršno koli pomoč v času študija in izdelavi diplomske naloge.