

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Marko KOKALJ

**KAKOVOST LUCERNINIH SILAŽ PRIPRAVLJENIH Z DODATKOM
RAZLIČNIH VRST TANINSKIH IZVLEČKOV**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij – 2. stopnja

**QUALITY OF LUCERNE SILAGES PREPARED WITH DIFFERENT
TYPES OF TANNIN EXTRACTS**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2015

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa druge stopnje Znanost o živalih. Delo je bilo opravljeno na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje Oddelka za zootehniko je za mentorja magistrskega dela imenovala prof. dr. Andreja Lavrenčiča.

Recenzentka: doc. dr. Vida Rezar.

Komisija za oceno in zagovor:

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

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

Član: doc. dr. Vida REZAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Podpisani izjavljam, da je naloga rezultat lastnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačano, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Marko KOKALJ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2
DK UDK 636.084/.087(043.2)=163.6
KG živinoreja/prehrana živali/krma/lucernina silaža/kakovost/hranilna vrednost/tanini/silirni dodatki/kostanjev tanin/kebračo tanin
KK AGRIS LO2
AV KOKALJ, Marko, dipl. inž. kmet. zootehnik (VŠŠ)
SA LAVRENČIČ, Andrej (mentor)
KZ SI- 1230 Domžale, Groblje 3
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
LI 2015
IN KAKOVOST LUCERNINIH SILAŽ PRIPRAVLJENIH Z DODATKOM RAZLIČNIH VRST TANINSKIH IZVLEČKOV
TD Magistrsko delo (Magistrski študij – 2. stopnja)
OP X, 56 str., 9 pregl., 1 sl., 56 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Namen naše naloge je bil ugotoviti vpliv različnih vrst in koncentracij taninskih izvlečkov na hranilno vrednost lucernine silaže. V poskusne silose smo silirali svežo lucerno, ki smo ji kot silirni dodatek dodali dve vrsti taninskih izvlečkov (kostanjev in kebračo) v različnih koncentracijah (0, 5, 15, 25 g/kg sveže snovi). Po mesecu dni smo silose odprli in določili kemično sestavo silaž, vsebnost amoniaka in v nevtralnem detergentu netopnih vlaken (NDV). S plinsko kromatografijo smo določili vsebnosti hlapnih maščobnih kislin (HMK), mlečne kisline (MLK), metanola in etanola. Z *in vitro* inkubacijo vzorcev v vampovem soku smo določili *in vitro* navidezno (IVNRSS) in *in vitro* pravo razgradljivost suhe snovi (IVPRSS). Kakovost silaž smo ocenili po različnih ključih za ocenjevanje silaž. Kemična sestava silaž (vsebnosti suhe snovi (SS), surovih beljakovin (SB), surovih maščob (SM), surovega pepela (SP), surove vlaknine (SV) in NDV) je bila podobna. Nobeden od taninskih izvlečkov ni vplival ($P > 0,05$) na vsebnosti MLK, etanola, očetne, propionske in maslene kisline ter amoniaka. Vrsta taninskih izvlečkov ni imela vpliva na IVNRSS in IVPRSS. Dodatek kostanjevega taninskega izvlečka je zmanjšal vsebnosti ($P < 0,05$) metanola. Koncentracije taninskih izvlečkov so vplivale ($P < 0,05$) na zmanjšanje vsebnosti amoniaka v silažah. Koncentracija taninskih izvlečkov ni vplivala na IVNRSS in IVPRSS ter na vsebnosti MLK, SB, SM, SV, SP, NDV, očetne, propionske in maslene kisline v silažah. Dodatek taninskih izvlečkov ni vplival na kakovost silaž, ocenjenih po AGFF in ÖAG ključih. Pri ocenjevanju silaž s ključem po Demarquillyu sta vsebnosti amoniaka in očetne kisline vplivale na kakovost silaž. Vse silaže so bile zaradi majhne vsebnosti maslene kisline ocenjene kot odlične, glede na vsebnost propionske kisline pa kot dobre. Vse silaže pa so bile ocenjene kot nestabilne, saj tanin ni vplival na znižanje pH vrednosti. Pri ocenjevanju silaž po novem DLG ključu je dodatek kostanjevega taninskega izvlečka v koncentracija 5 (FAR-5) in 25 g/kg (FAR-25) silirnega materiala izboljšal kakovost silaž od dobre na zelo dobro, medtem ko dodatek kebračo taninskega izvlečka na kakovost silaž ni imel vpliva.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2
DC UDC 636.084/.087(043.2)=163.6
CX animal production/animal nutrition/forage/lucerne silage/quality/nutritional value/tannins/silage additive/chestnut tannin/quebracho tannin
CC AGRIS LO2
AU KOKALJ, Marko
AA LAVRENČIČ, Andrej (supervisor)
PP SI- 1230 Domžale, Groblje 3
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of Animal Science
PY 2015
TI QUALITY OF LUCERNE SILAGES PREPARED WITH DIFFERENT TYPES OF TANNIN EXTRACTS
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
NO X, 56 p., 9 tab., 1 fig., 56 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The aim of our study was to determine the effect of different types and concentrations of tannin extracts on lucerne silage nutrition value. Fresh lucerne was ensiled in experimental siloses with different concentrations (0, 5, 15, 25 g/kg fresh matter) and types of tannin extracts (chestnut and quebracho) as silage additives. After a month we opened silos and determine the chemical composition of silages, contents of ammonia and neutral detergent fibre (NDF). The contents of volatile fatty acids (VFA), lactic acid (LA), methanol and ethanol were determined with gas chromatography. *In vitro* apparent (IVADDM) and *in vitro* true degradabilities (IVTDDM) of silage dry matter were determined with *in vitro* incubations in the ruminal fluid. The quality of silages was also estimated with various keys for the silage evaluation. Chemical composition of silages (concentration of NDF, crude ash (CA), dry matter (DM), crude fibre, crude protein (CP) and crude fat (EE)) was similar. The addition of tannin extracts had no effect ($P > 0,05$) on LA, ethanol, ammonia, acetic, propionic and butyric acid contents. Type of tannin extracts had no influence on IVADDM and IVTDDM. The addition of chestnut tannin extracts decreased ($P < 0,05$) contents of methanol. The concentrations of tannin extracts affected ($P < 0,05$) DM, CA and ammonia contents of silages. The concentrations of tannin extracts had no influence on IVADDM and IVTDDM and on LA, CP, crude fibre, CA, NDF, acetic, propionic and butyric acid contents of silages. The addition of tannin extracts had no effect on the quality of silages, estimated with the AGFF and ÖAG keys. When we estimated the silages with Demarquilly's key the ammonia and acetic acid content affected the quality of silages. Due to the small content of the butyric acid in all silages, these silages were estimated as excellent, while higher concentrations of propionic acid content defined them as good. All silages were estimated as unstable on air because tannin extracts did not decrease their pH. With the use of new DLG key the addition of chestnut tannin extract in concentration with 5 g (FAR-5) and 25 g (FAR-25) kg silage material improved the quality of silages from good to very good, while the addition of quebracho tannin extract had not effect on silage quality.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
SEZNAM GESEL.....	XI
1 UVOD	1
2 PREGLED LITERATURE	2
2.1 LUCERNA	2
2.2 SILIRANJE IN FERMENTACIJA V SILAŽAH	2
2.2.1 Vplivi na fermentacijo v silažah	4
2.3 SILIRNI DODATKI	5
2.3.1 Vrste silirnih dodatkov	6
2.4 TANINI	9
2.4.1 Proantocianidini ali kondenzirani tanini	10
2.4.2 Hidrolizirajoči tanini	11
2.4.3 Biološki učinki taninov	12
2.4.4 Interakcija med beljakovinami in tanini	14
2.4.5 Vpliv taninov na ohranitev beljakovin med procesom fermentacije silaže	16
2.4.6 Vpliv taninov na fermentacijo silaž	18
2.4.7 Vpliv taninov na pH v silažah	19
2.4.8 Tanini kot zaviralci mikrobne razgradnje beljakovin v vampu	20
2.4.9 Vpliv taninov na prebavljivost krme	23
2.4.10 Priporočene količine taninov v krmi	24
3 MATERIALI IN METODE	26
3.1 MATERIALI	26
3.1.1 Substrat	26
3.1.2 Silirni dodatki	26
3.2 METODE	26
3.2.1 Siliranje	26
3.2.2 Kemijske analize vzorcev silaž	27
3.2.3 Analiza fermentacijskih produktov v vzorcih silaž	28
3.2.4 In vitro določanje navidezne in prave razgradljivosti SS vzorcev silaž	29
3.2.5 Organoleptično ocenjevanje vzorcev silaž po ključih	29
3.2.6 Statistična obdelava podatkov	30
4 REZULTATI	32
4.1 KEMIJSKA SESTAVA VZORCEV SILAŽ	32
4.2 FERMENTACIJSKI PRODUKTI VZORCEV SILAŽ	33
4.3 <i>IN VITRO</i> NAVIDEZNA IN PRAVA RAZGRADLJIVOST SS VZORCEV SILAŽ	35

4.4	ORGANOLEPTIČNE OCENE VZORCEV SILAŽ PO KLJUČIH	36
5	RAZPRAVA	40
6	SKLEPI	48
7	POVZETEK	49
8	VIRI	51
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Običajni obsegi koncentracij končnih produktov fermentacije deteljnih in travnih silaž glede na vsebnost SS (Kung in Shaver, 2001)	5
Preglednica 2: Oznake vzorcev silaž	27
Preglednica 3: Potrebni podatki o vsebnostih za ocenjevanje vzorcev silaž po ključih	29
Preglednica 4: Potrebni podatki za izračun in rezultati o količini amoniaka od skupnega N	30
Preglednica 5: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na kemijsko sestavo vzorcev silaž (g/kg SS)	32
Preglednica 6: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na pH in vsebnosti fermentacijskih produktov vzorcev silaž (g/kg SS)	34
Preglednica 7: Podatki o <i>in vitro</i> navidezni in pravi razgradljivosti SS (g/kg SS) vzorcev silaž	36
Preglednica 8: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na oceno parametrov vzorcev silaž po Demarquillyu	38
Preglednica 9: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na oceno vzorcev silaž po novem DLG ključu	39

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Lucernina silaža	27

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

HMK: hlapne maščobne kisline

IVNRSS: *in vitro* navidezna razgradljivost suhe snovi

IVPRSS: *in vitro* prava razgradljivost suhe snovi

MLK: mlečna kislina

PGG: pentagaloil glukoza

SEZNAM GESEL

Taninski izvleček: snov pridobljena z vodno ekstrakcijo rastlin, ki vsebujejo tanin.

Tanin: je rastlinska polifenolna spojina z različnimi biološkimi učinki.

Silirni dodatek: snov za dodajanje v krmo, za izboljšanje kakovosti in priprave silaže.

Siliranje: postopek konzerviranja krme, za ohranjanje hranil v krmi, da jo lahko krmimo kasneje.

Silažna fermentacija: naravni proces, ki poteka brez prisotnosti zraka pod delovanjem naravno prisotnih bakterij.

Lucerna: krmna metuljnica.

Kakovost silaže: ocenjevanje končnih produktov silažne fermentacije.

Kakovostna silaža: je stabilna, se ne spremeni v sestavi potem, ko se odstrani zrak in je dosežen nizek pH.

1 UVOD

Lucerna je visokodonosna in hranljiva krmna stročnica (Tabacco in sod., 2006). Priljubljena je zaradi visoke vsebnosti beljakovin, saj ima v primerjavi s senom in travno silažo več surovih beljakovin (Verbič, 2012). Pri konzerviranju s siliranjem se trudimo ohraniti v izhodni surovini kar največ hranljivih snovi. S primernimi postopki se lahko med siliranjem izognemo velikemu delu izgub (Stekar, 1999). V procesu siliranja poteka proteoliza, zaradi česar se poveča delež amoniaka in prostih aminokislin v silaži (McDonald in sod., 2002). Na voljo imamo množico silirnih dodatkov, s katerimi največkrat želimo izboljšati hranilno vrednost in zmanjšati izgube suhe snovi (Stekar, 1999). Z dodajanjem taninov v krmo pred siliranjem lahko omejimo razgradnjo beljakovin med procesom siliranja (Salawu in sod., 1999).

Beljakovine v prehrani prežvekovalcev so slabo izkoriščene zaradi obsežne mikrobne razgradnje v vampu. Rezultat razgradnje je izguba beljakovin, predvsem pri krmljenju zelo produktivnih prežvekovalcev, ki imajo visoke potrebe po beljakovinah. Zaščita beljakovin je pomembna, če potreb živali po beljakovinah ni mogoče zadostiti z mikrobno sintezo beljakovin v vampu. Krmljenje prežvekovalcev z beljakovinami, ki so odporne na mikrobno razgradnjo v vampu in se prebavljajo v tankem črevesu, poveča priraste in prirejo mleka (Bunglavan in Dutta, 2013). Zato je zelo pomembno, da razvijemo metode, s katerimi bi zmanjšali razgradljivost beljakovin v vampu. Eden od načinov je tudi dodajanje taninov. Tanini so sekundarni rastlinski presnovki, ki se lahko povežejo z beljakovinami in ostanejo kot kompleksi tudi pri pH, ki ga najdemo v vampu. S tvorbo vezi med tanini in beljakovinami se proteoliza zmanjša, kar omogoča večjo količino beljakovin za prebavo v tankem črevesju (Tabacco in sod., 2006).

Namen našega dela je bil ugotoviti, kakšen je vpliv različnih vrst taninskih izvlečkov in njihovih koncentracij na hranilno vrednost lucernine silaže. Zanimali so nas predvsem vplivi taninskih izvlečkov na vsebnost surovih beljakovin in na *in vitro* prebavljivost in razgradljivost suhe snovi, s čimer bi vsaj posredno lahko ugotovili ali so hranljive snovi zaščitene pred mikrobno prebavo v vampu. Poleg tega pa smo želeli ugotoviti, ali dodatek taninskih izvlečkov vpliva tudi na kakovost silaž, ki jo ocenjujemo na podlagi različnih ključev.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 LUCERNA

Med krmnimi metuljnicami je najbolj razširjena lucerna (*Medicago sativa* L.), saj ima globoke korenine in dobro prenaša sušo. Ustrezajo ji topla, nekisla in zračna tla. Priljubljena je zaradi visoke vsebnosti beljakovin, še posebej, če jo primerjamo s travniškim senom in travno silažo. Pri lucerni se vsebnost beljakovin s starostjo zmanjšuje. V fazi brstenja ima lahko tudi 220 g surovih beljakovin (SB) na kg suhe snovi (SS), po cvetenju pa vsebnost pade na 150 g/kg SS. Sušenje lucerne za seno ni primerno, ker lahko izgubimo lističe, ki vsebujejo dva do tri krat več beljakovin kot stebela. Zato je bolj primerno siliranje, kjer izgubimo najmanj lističev in ohranimo surove beljakovine. Beljakovine pa ne ohranijo svojih lastnosti. Med siliranjem se beljakovine razgradijo, razgradnja pa je v primerjavi z drugimi travami in metuljnicami največja ravno pri lucerni. Tako razgrajene se v vampu nadalje razgradijo do amoniaka, ki ga lahko izgubimo, če bakterije nimajo na razpolago dovolj energije, da ga vgradijo v svoje beljakovine. Lucernino seno vsebuje več v vampu nerazgradljivih beljakovin kot lucernina silaža. Zaradi slabe prebavljivosti vlaknine, ki je značilna za lucerno in velike vsebnosti beljakovin je vsebnost energije v lucerni manjša kot pri drugi krmni s travinja in koruzni rastlini. Za lucerno je znano, da se težko silira, ker vsebuje malo sladkorjev ter ima visoko pufersko kapaciteto. To pomeni, da med siliranjem lucerne nastane malo mlečne kisline, ki jo nevtralizirajo pufri. Z venenjem in silirnimi dodatki pa lahko vseeno pripravimo kakovostno silažo. Dobra lastnost lucerne je, da spodbuja k zauživanju krme ter s tem kompenzira njeno slabšo energijsko vrednost. Lucerna spodbuja k prežvekovanju in s tem spodbuja izločanje slin ter preprečuje zakisanje vampa. Lucerna vsebuje veliko pektinskih snovi (100 do 150 g/kg SS), ki se hitro prebavijo in naredijo prostor v prebavilih, kar poveča zauživanje krme (Verbič, 2012).

2.2 SILIRANJE IN FERMENTACIJA V SILAŽAH

V Sloveniji večinoma siliramo travo in koruzo, v manjšem obsegu pa tudi druge krmne rastline, kot so lucerna, prava žita, sudanska trava in grah. Silaže smo najprej uporabljali za

pripravo zimskega obroka, iz katerega je izrinila seno. Kasneje pa smo silaže začeli vključevati v obroke, ki jih krmimo celo leto (Verbič in sod., 2007). Mohorko in sod. (2009) pravijo, da se pridelava lucerne v Sloveniji širi in se bo še povečevala zaradi podnebnih sprememb in zahtev po kolobarju.

Po košnji se dihanje v rastlini nadaljuje še nekaj ur. Takrat so rastlinski encimi še vedno aktivni. Hitro odstranjevanje zraka pri siliranju je pomembno, ker preprečuje rast nezaželenih aerobnih bakterij, plesni in kvasovk, ki tekmujejo s koristnimi bakterijami za substrat. Če zrak ni odstranjen, hitro opazimo, da se material greje. Za pripravo dobre silaže moramo zagotoviti ustrezno vsebnost suhe snovi, ustrezno dolžino delcev krme, enakomerno porazdelitev krme v silosu in hitro zapiranje silosa (Kung, 2001).

Za pripravo dobre silaže moramo zagotoviti naslednje (Kung, 2001):

- hitro odstranjevanje zraka,
- hitro nastajanje mlečne kisline, kar vodi do hitrega padca pH,
- preprečevanje dostopa zraka do silaž med skladiščenjem.

Fermentacija se lahko prične, ko odstranimo zrak v materialu za siliranje. Med fermentacijo nastane več produktov, katerih večina je povezana z nezaželeno fermentacijo. Med številnimi kislinami, ki nastanejo med fermentacijo, je mlečna kislina najmočnejša (je desetkrat močnejša od ostalih kislin) in je tudi najbolj zaželena. Zaželena je torej fermentacija, pri kateri nastane v večini mlečna kislina, ki ohrani največ hranil in SS silaže. Pri nezaželeni fermentaciji nastane velika količina CO₂, ki se izgubi v okolje. Mlečnokislinske bakterije uporabljajo vodotopne ogljikove hidrate za tvorbo mlečne kisline, ki zniža pH silaži. Odvisno od poljščine in rastlinskega materiala ima lahko silaža pH med 5 in 6, lahko pa tudi nižji, od 4,5 do 3,6. Hitro znižanje pH pri silaži preprečuje proteolizo, poleg tega pa hitri padec pH prepreči rast nezaželenih anaerobnih mikroorganizmov, kot so enterobakterije in klostridiji. Nastajanje mlečne kisline in znižanje pH zavirata rast vseh bakterij. Dobre silaže imajo nizek pH, postanejo stabilne, njihova sestava pa se ne spreminja. Če je silaža med skladiščenjem izpostavljena zraku, se lahko hitro pokvari. Glavni mikroorganizmi, ki povzročajo aerobno kvarjenje silaže, so kvasovke. Te presnavljajo mlečno kislino, kar privede do dviga pH. To omogoča bakterijam, ki jih je zaviral nizek pH, razvoj, kar še dodatno kvari silažo. Končne produkte

fermentacije v silažah uporabljamo za ocenjevanje kakovosti silaž. Nezaželena je visoka vsebnost amoniaka, ocetne kisline, maslene kisline in etanola (Kung, 2001).

2.2.1 Vplivi na fermentacijo v silažah

Na fermentacijo v silosu vpliva veliko dejavnikov. Puferska kapaciteta krme lahko ima vpliv na proces fermentacije. Lucerna ima visoko pufersko kapaciteto, zato je za doseganje nižjega pH potrebno več kisline pri lucernini kot pri koruznini silaži. Vsebnost suhe snovi v krmi močno vpliva na proces siliranja s pomočjo številnih mehanizmov (Kung, 2001):

- suhih silaž ni dobro skladiščiti, ker je težko izločiti ves zrak iz mase krme,
- ko se vsebnost suhe snovi povečuje, se rast mlečno kislinskih bakterij omejuje in povzroči zmanjšan obseg fermentacije (zakisanje poteka počasneje in skupne količine mlečne kisline je manj),
- nezaželjene bakterije, kot so klostridiji, uspevajo v zelo mokrih silažah in lahko povzročijo prekomerno razgradnjo beljakovin, izgube suhe snovi in nastanek toksinov.

Venenje krme nad vsebnost 30 do 35 % suhe snovi pred siliranjem lahko zmanjša pojavnost klostridijev, saj ti ne prenašajo osmoze v suhih silažah. Še en dejavnik, ki lahko vpliva na proces siliranja, je količina vodotopnih ogljikovih hidratov (Kung, 2001) ali sladkorjev, ki omogočajo nastajanje mlečne kisline. Glede na količino sladkorjev lahko razvrstimo krmo v tri kategorije (SIL-ALL, 2014):

- enostavna za siliranje: > 3 % sladkorja v svežem materialu (koruza),
- srednje dobra za siliranje: od 1,5 do 3 % sladkorja v svežem materialu,
- težka za siliranje: < 1,5 % sladkorja v svežem materialu (lucerna, grah, soja, fižol).

Količina nastale mlečne kisline je odvisna od začetne populacije mlečnokislinskih bakterij na rastlinah ter od dostopnosti hranil v surovini. Na dostopnost hranil vpliva obdelava krme pred siliranjem. Krmo lahko pred siliranjem zrežemo, zmeljemo, zgnetemo in zmečkamo. Pri taki krmi so hranila za rast mlečnokislinskih bakterij hitreje dostopna in pospešijo njihovo rast (Stekar, 1999). Preglednica 1 prikazuje običajne obsege koncentracij končnih produktov fermentacije.

Preglednica 1: Običajni obsegi koncentracij končnih produktov fermentacije deteljnih in travnih silaž glede na vsebnost SS (Kung in Shaver, 2001)

Produkti fermentacije	Deteljne silaže (30 – 40 %)	Deteljne silaže (45 – 55 %)	Travne silaže (30 – 35 %)
pH	4,3 – 4,7	4,7 - 5	4,3 – 4,7
Mlečna kislina (%)	7 - 8	2 - 4	6 - 10
Ocetna kislina (%)	2 - 3	0,5 - 2	1 - 3
Propionska kislina (%)	<0,5	<0,1	<0,1
Maslenska kislina (%)	<0,5	0	0,5 - 1
Etanol (%)	0,2 - 1	0,5	0,5 – 1
Amoniak (% SB)	10 - 15	<12	8 - 12

2.3 SILIRNI DODATKI

Krmni dodatki so proizvodi iz snovi ali mikroorganizmov, ki jih uporabljamo v prehrani živali za izboljšanje kakovosti krme, živil živalskega izvora in izboljšanje proizvodne lastnosti živali. Zaradi njihovih funkcij in lastnosti jih razvrščamo v kategorije, kot so tehnološki dodatki, senzorični dodatki, nutritivni dodatki, zootehnični dodatki, kokcidiostiki in sredstva proti histomonijazi. Kategorija tehnoloških dodatkov vključuje skupino s silirnimi dodatki, ki je definirana kot skupina, ki vključuje snovi, encime ali mikroorganizme za dodajanje v krmo za izboljšanje kakovosti ali priprave silaže. Med silirnimi dodatki ima dovoljenje od Evropske Komisije za dajanje na trg tudi taninski ekstrakt iz lesa pravega kostanja (*Castanea Sativa Mill*, CAS št.1401-55-4). Za uporabo silirnih dodatkov se odločamo predvsem takrat, ko lastnosti krme niso primerne za siliranje. To je v primeru, ko nam objektivne okoliščine ne omogočajo pripraviti primerne krme za zadostno mlečnokislinsko vrenje in za zadostno obstojnost silaže na zraku. Taka krma je preveč ali premalo ovela. Če siliramo primerno ovelo travo, pravilno polnimo, pokrijemo in praznimo silos, so silirni dodatki nepotrebni. Smiselno jih je uporabljati, če je krma preveč ali premalo ovenjena (Mohorko in sod., 2009).

Siliramo lahko po sestavi in značilnostih raznoliko skupino krmnih rastlin, vendar nam pri tem lahko zagode slabo vremo (Stekar, 1999). Takrat lahko z dodajanjem silirnih dodatkov optimiziramo fermentacijo krme.

Noben dodatek nam ne bo zagotovil kakovostne silaže, če ne obvladamo osnov siliranja. Lucerna ima veliko pufersko kapaciteto, kar otežuje hitro zmanjšanje pH v procesu siliranja. Pomagamo si lahko z dodajanjem silirnih dodatkov, ki vsebujejo bakterije in encime, da dosežemo hitrejšo zmanjšanje pH in učinkovitejšo zakisanje (Klemenčič, 2005). Največkrat želimo, da dodatek izboljša hranilno vrednost silaže in zmanjša izgube suhe snovi. Uporaba silirnega dodatka je vedno povezana z učinkom in ceno (Stekar, 1999).

2.3.1 Vrste silirnih dodatkov

Stekar (1999) je različne vrste silirnih dodatkov razdelila v dve skupini. Eni pospešujejo vrenje in omogočajo mlečnokislinskim bakterijam, da prevladajo, drugi pa ga zavirajo. Mohorko in sod. (2009) pravijo, da se v Sloveniji kažejo največje potrebe po silirnih dodatkih za izboljšanje obstojnosti silaž na zraku zaradi majhnega dnevnega odvzema na majhnih kmetijah ter slabo potlačenih silaž (prelahki traktorji za tlačenje).

2.3.1.1 Pospeševalci vrenja

Eden od načinov, kako pospešiti fermentacijo v silažah je, da mlečnokislinskim bakterijam damo energijo. To storimo z dodatki, ki vsebujejo topne ogljikove hidrate. Te uporabljamo pri siliranju krmil z majhno vsebnostjo topnih ogljikovih hidratov. Največkrat uporabimo melaso. Ta silaži dvigne vsebnost suhe snovi, zniža pH vrednost in vsebnost amoniaka. Kot vir topnih ogljikovih hidratov lahko dodajamo glukozo, saharozo, krompir in ostanke iz živilske industrije (Stekar, 1999).

Skupaj z bakterijami, imajo encimi pomembno vlogo za uspešno fermentacijo (SIL-ALL, 2014). Z njimi lahko podpremo delovanje mlečnokislinskih bakterij (Stekar, 1999). Encimi razgrajujejo celulozo in hemiceluloze, s čimer povečujejo nivo sladkorja v silaži ter tako zagotovijo substrat za delovanje mlečnokislinskih bakterij. Encimi zahtevajo za optimalno

delovanje ustrezno temperaturo in pH (SIL-ALL, 2014). Ti silažni dodatki vsebujejo celulolitične, hemicelulolitične in amilolitične encime (Stekar, 1999).

Ker na rastlinah za siliranje včasih ni dovolj mlečnokislinskih bakterij, moramo za uspešno siliranje dodati mlečnokislinske bakterije. Iz silaž so izolirali 81 različnih vrst mlečnokislinskih bakterij. A med njimi je bila le ena vrsta bakterije sposobna za hitro znižanje pH. To je *Lactobacillus plantarum arabinosus*. Ker bakterije ne smejo razkrajati beljakovin in aminokislin, ne pridejo v poštev bakterije rodu *Leuconostoc* in heterofermentativni laktobacili. Uporabni so le pediokoki in homofermentativni laktobacili. Zato *Lactobacillus plantarum* pri siliranju ovelega in neovelega zelinja hitro zakisa material in da silažo z majhno vsebnostjo amoniaka in očetne kisline (Stekar, 1999).

Homo-fermentativni silirni dodatki vsebujejo homo-fermentativne bakterije, ki neposredno pretvarjajo sladkor v mlečno kislino, pri tem pa ne tvorijo CO₂ in drugih nezaželenih sekundarnih presnovkov. Obstaja več vrst homo-fermentativnih bakterij, ki se v komercialnih silirnih dodatkih uporabljajo posamično ali v kombinaciji. To so *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* (SIL-ALL, 2014).

Hetero-fermentativni dodatki vsebujejo hetero-fermentativne bakterije, ki proizvajajo več različnih snovi. Ti dodatki vsebujejo naslednje bakterije: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri* in *Propionibacterium acidipropionici* (SIL-ALL, 2014).

Večvrstni pripravki vsebujejo različne bakterije, ki so izbrane tako, da je zniževanje pH širšega razpona (SIL-ALL, 2014). Dobro se obnese kombinacija *Enterococcus faecalis* in *Lactobacillus plantarum* pri siliranju neovelega zelinja, ker *Enterococcus faecalis* hitro raste v prisotnosti zraka in zakisa material v začetku siliranja. Ker ne prenaša kislega okolja, prepusti pri pH pod 5 delovanje *Lactobacillus plantarum*. Pri siliranju neovele krme je pH nižji pri silaži z dodatkom bakterij. Dodatek bakterij pri siliranju ovelega zelinja ne pomaga pri znižanju končne pH vrednosti, ampak pomaga pri hitrejšem znižanju (Stekar, 1999). Večvrstni pripravki bolje od enovrstnih pospešujejo fermentacijo, zmanjšujejo izgube SS ter v silaži ohranjajo potencial sveže krme. Enovrstni pripravki ne

znižajo pH tako kot večvrstni, zato se moramo zanašati na delovanje manj učinkovitih naravno prisotnih bakterij, kar vodi do večjih izgub SS (SIL-ALL, 2014).

Homo-hetero-fermentativni pripravki vsebujejo kombinacijo bakterij, ki bodo vodile fermentacijo in ohranile hranila. Učinkovitost takega silirnega dodatka je odvisna od tega, ali so posamezne bakterije zastopane v učinkovitem razmerju (SIL-ALL, 2014).

Z ustrezno kombinacijo bakterij in encimov dobimo najbolj učinkovite silirne dodatke. Encimi zagotavljajo bakterijam zadostno količino sladkorja, ki ga fermentirajo v mlečno kislino in tako znižajo pH. Pri takšni fermentaciji se hranljive snovi najbolj ohranijo. Takšne kombinacije so zelo pomembne pri siliranju krme z majhno vsebnostjo sladkorja (SIL-ALL, 2014).

2.3.1.2 Zaviralci vrenja

Zaviralci vrenja so kombinacije soli sorbatov, benzoatov, propionatov ali nitratov. Te soli so dobro topne v vodi. Ker delujejo kot antibiotiki, zavirajo rast mikroorganizmov. Za učinkovito delovanje jih moramo dodati v ustrezni koncentraciji. Kombinacije soli so bolj učinkovite kot posamezne soli. Taki silirni dodatki morajo vsebovati tudi bakterije, ki bodo vodile fermentacijo, saj te soli preprečijo delovanje velikemu deležu zaželenih bakterij (SIL-ALL, 2014).

Kot silirni dodatek uporabljamo tudi kisline. Najbolj primeren čas za njihovo uporabo je, ko obstaja nevarnost neustrezne fermentacije silaže. Krmo sterilizirajo, saj uničijo vse mikroorganizme, s katerimi pridejo v stik. Potrebujejo več časa za znižanje pH silaž, kar povzroči izgube SS. Količina dodatka je odvisna od pogojev siliranja. Kjer so pogoji za siliranje težki, je nivo dodajanja kisline lahko tudi osem litrov na tono krme. Kisline uporabljamo takrat, ko ima krma majhno vsebnost SS, sladkorjev in so pogoji za bakterijsko fermentacijo neustrezni (SIL-ALL, 2014). Ravnanje s to vrsto silirnih dodatkov je nevarno (Stekar, 1999). Za siliranje uporabljamo različne kisline: žveplovo, mravljično in propionsko (SIL-ALL, 2014) ter klorovodikovo in fosforjevo kislino (Stekar, 1999).

Silaža z dodatkom klorovodikove kisline je imela pH vrednost 3,7 in je vsebovala 280 g topnega N in 20 g amoniaka/kg skupnega dušika, kar je skoraj toliko kot sveža detelja (260 g topnega N in 15 g amoniaka/kg skupnega dušika). Kontrolna silaža je imela pH vrednost 4,5 in je vsebovala 650 g topnega N in 220 g amoniaka/kg skupnega dušika (Stekar, 1999).

2.4 TANINI

Rastline skladiščijo široko paleto sekundarnih spojin vključno z alkaloidi, terpeni in fenoli. Čeprav te spojine navidezno nimajo funkcije v primarni presnovi, kot so biosinteza, biorazgradnja in ostale energijske pretvorbe intermediarne presnove, imajo različne biološke učinke, ki segajo od toksičnosti, posnemajo hormone in lahko igrajo vlogo v varovanju rastlin pred rastlinojedi in boleznimi. Presnova fenolov je v rastlinah zapletena, nastajajo najrazličnejše spojine v razponu od znanih rastlinskih barvil do kompleksnih fenolov celičnih sten (lignin). Skupina fenolnih spojin, znana kot tanini, se jasno razlikujejo od ostalih rastlinskih sekundarnih fenolov v njihovi kemični in biološki aktivnosti. Tradicionalna uporaba taninov kot sredstvo za pretvorbo živalske kože v usnje je odraz najbolj izražene uporabe taninov zaradi njihove sposobnosti za obarjanje beljakovin. Izraz tanin prihaja od starodavne keltske besede za hrast, tipičnega vira za tanin, ki se ga uporablja za izdelavo usnja. Bate-Smith (1962) je definiral tanine kot »vodotopne fenolne spojine, ki imajo molekularno maso med 500 in 3.000, dajejo običajne fenolne reakcije, imajo posebne značilnosti, kot je sposobnost za obarjanje alkaloidov, želatine in ostalih beljakovin«. Za njim je Haslam (1966) nadomestil izraz »polifenol« za »tanin«, ker je hotel poudariti razlike v lastnostih fenolnih skupin. Ugotovil je, da je molekularna masa taninov višja od 20.000 in da se tanini ne povezujejo le z beljakovinami in alkaloidi, ampak tudi z nekaterimi polisaharidi (Hagerman, 2002).

Tanine lahko delimo po njihovi kemijski strukturi ali po njihovi topnosti. Glede na kemijsko strukturo (strukturo monomerov) jih razdelimo v štiri glavne skupine (Serrano in sod., 2009):

- proantocianidini ali kondenzirani tanini,
- hidrolizirajoči tanini,
- florotanini (v algah),

- kompleksni tanini.

Ker smo v našem poskusu proučevali vpliv taninov in to kostanjevega in kebračo tanina, bomo na kratko opisali samo hidrolizirajoče tanine, med katere spadajo kostanjevi tanini, in kondenzirane tanine, med katere spada kebračo tanin.

2.4.1 Proantocianidini ali kondenzirani tanini

Proantocianidini ali kondenzirani tanini so polimeri flavanoidov. Flavanoidi so raznolika skupina sekundarnih presnovkov, ki nastanejo iz fenilalanina. Biosintezna pot za sintezo flavanoidov je dobro znana, čeprav koraki, ki vodijo do kondenzacije in polimerizacije, še niso pojasnjeni. Najbolj značilni tanini so povezani z vezjo med ogljikovimi atomi (C-C vezi). Izraz kondenzirani tanini je še vedno najbolj pogosto uporabljen za opisovanje na flavanoidih temelječih polifenolov. Vendar je izraz proantocianidini čedalje bolj pogosto uporabljan. Proantocianidini so spojine, ki vsebujejo antocianidinska barvila, ki nastanejo po oksidativni cepitvi (ne hidroliza) v vročih alkoholih (butanolom). Produkti reakcije med kislino in butanolom so obarvani antocianidini, ki so nastali s podaljševanjem enot. Drug tip povezovanja, ki ni pogosto predmet raziskovanja, vključuje vezi med atomi ogljika in kisika (C-O vezi) med flavanoidnimi obroči, da dobimo povezane proantocianidine (Hagerman, 2002). Zaradi njihove omejene topnosti in omejene ekstrakcije imajo kondenzirani tanini majhno prehransko vrednost (Xiaohong in Huapeng, 1998). Kebračo drevesa so pomemben vir rastlinskih kondenziranih taninov in lesa. Ime kebračo izvira iz španske besede »quiebrahacha«. Obstaja več drevesnih vrst, ki se razlikujejo po vsebnosti taninov. Pri pridobivanju vodotopnega ekstrakta s toplo vodo odstranimo skorjo od stržena. Stržen zmeljemo in ekstrahiramo v vreli vodi. Ekstrakt pridobljen s hladno vodo pridobimo pri obdelavi ekstrakta, pridobljenega s toplo vodo, z bisulfitom ali pa z neposredno ekstrakcijo taninov iz raztopine vrele vode in bisulfitu. Ekstrakt vsebuje okoli 95 % kondenziranih taninov ali proantocianidinov in 5 % vodotopnih sladkorjev. Polimeri proantocianidinov v kebraču vsebujejo homologne enote oligomerov, ki temeljijo na flavan-3-olu. Osnovna enota je vedno katehin, ki je povezana z enotami fisetinidola. Ekstrakt vsebuje 33 % dimerov, 37 % trimerov, 21 % tetramerov, 8 % pentamerov in 1 %

heptamerov flavan-3-ola. Kebračo proantocianidini imajo na kislino odporne vezi zaradi odsotnosti 5-OH skupin v fisetinidolu (Venter in sod., 2012).

2.4.2 Hidrolizirajoči tanini

Hidrolizirajoči tanini so derivati galne kisline. Galna kislina je zaestrena na jedro poliola. Takšne galoilne skupine se lahko nadalje zaestrijo ali oksidativno povežejo do bolj kompleksnih hidrolizirajočih taninov (Hagerman, 2002).

Najbolj preprosti hidrolizirajoči tanini so galotanini, ki so preprosti estri poligaloilne skupine in glukoze. Tipični galotanin je pentagaloil glukoza ali PGG, ki ima pet na enak način povezanih estrov, ki vključujejo alifatične hidroksilne skupine na sladkornem jedru. Kot vsi galotanini ima PGG veliko izomer. Molekulska masa vseh izomer PGG je ista (940 g/mol), vendar se izomere razlikujejo po (Hagerman, 2002):

- kemijskih lastnostih, kot je npr. dovzetnost za hidrolizo in različnih separacijskih lastnostih ob kromatografiji,
- biokemičnih lastnostih, kot je sposobnost za obarjanje beljakovin.

Verige poligaloil estrov, najdene pri galotaninih, so oblikovane bodisi z meta ali para-depsidnimi vezmi, ki vključujejo fenolni hidroksil namesto alifatične hidroksilne skupine. Depsidna vez hitreje hidrolizira kot alifatična esterska vez. Preproste galotanine z do 12 zaestrenimi galoilnimi skupinami na jedro glukoze (npr. taninsko kislino) so našli v taninih ruja in hrastovih šiškah. Komercialni proizvajalci zagotavljajo nazivno molekularno maso taninske kisline (1294 g/mol), vendar so preparati heterogeni in so zelo variabilna mešanica galoilnih estrov (Hagerman, 2002).

Oksidativno povezovanje galoilnih skupin pretvori galotanine v elagitanine. Preprosti elagitanini so estri heksahidroksidifenske kisline. Ta se spontano laktonizira do elagne kisline v vodni raztopini. Elagitanini se lahko podvrženi znotraj molekularnemu oksidativnemu povezovanju z drugimi hidrolizirajočimi tanini do dimerov (Hagerman, 2002).

Kostanjevi tanini so sestavni del naravnega izvlečka iz lesa pravega kostanja (*Castanea sativa Mill.*), ki je razširjen predvsem v južni Evropi. Pridobivamo ga z vodno ekstrakcijo, ki ohranja njegove osnovne lastnosti. Izvleček iz lesa kostanja je sestavljen iz vodotopnih rastlinskih polifenolov s širokim spektrom delovanja. Že dolgo ga uporabljamo v prehrani živali in ljudi. Deluje kot naravni antibiotik na škodljive mikroorganizme in vzdržuje ravnotežje mikroflore. Takšna aktivnost izvlečka iz lesa kostanja zagotavlja boljše izkoriščanje hranil, izboljša hranilno vrednost krme ter zagotavlja boljše proizvodne parametre pri reji domačih živali. Kostanjev tanin imenovan Farmatan je v EU notificiran kot senzorični in krmni dodatek. Farmatan se nahaja v praškasti in granulirani obliki (Tanin Sevnica, 2014). Lampiere in sod. (1998) so vodotopne polifenole iz lesa kostanja ekstrahirali z vodno raztopino metanola. S spektroskopsko analizo so določili 8 spojin. Te spojine so:

- kastalin,
- veskalagin,
- kastalagin,
- akutisimin,
- kurigalin,
- (3',5'-dimetoksi-4'-hidroksifenol)-1-O-β-D (6-O-galoil)glukoza,
- khestanin in
- 5-O-galoilhamameloza.

Kostanjeve hidrolizirajoče tanine lahko ekstrahiramo in tako dobimo taninski ekstrakt, ki vsebuje izključno produkte njihove razgradnje. Razgradnja je možna samo zaradi hidrolize esterskih vezi. Preureditev snovi, oblikovanih z ekstrakcijo, s katero dobimo različne strukture, je posledica prisotnosti ostankov elagne in flavogalonske kisline. Ostali pomembni sestavini taninskega ekstrakta, kastalagin in veskalagin, sta najbolj stabilni pred razgradnjo (Pasch in Pizzi, 2002).

2.4.3 Biološki učinki taninov

Tanini različnih rastlinskih vrst imajo različne fiziološke in kemične lastnosti, zaradi česar imajo zelo različne biološke lastnosti (Bunglavan in Dutta, 2013). Rastlinski fenoli

vplivajo na odbiro rastlin, ki jih sesalci zauživajo, ter kasneje tudi na prebavo hranil. Pigment antocianin v koži sadja je pokazatelj zrelosti, medtem ko lipofilni fenoli, ki se nahajajo na listih, odvrčajo živali in preprečujejo preveliko zauživanje rastlin. Drugi fenoli se bodo absorbirali med prebavo rastlin in imeli škodljive vplive na reprodukcijo, saj imajo pogosto estrogeni učinek ali pa vlivajo na rast in razvoj zaradi njihovih antinutritivnih lastnosti. Med rastlinskimi polifenoli največ pozornosti posvečamo taninom, ker se lahko povezujejo z beljakovinami (Xiaohong in Huapeng, 1998).

Tanini so lahko koristni ali škodljivi za prežvekovalce. To je odvisno od vrste in količine zaužitih taninov, od strukture spojine, molekulske mase in vrste rastline (Hagerman in Butler, 1991). Tanini po zaužitju povratno vplivajo na ponovno zauživanje krme, na prebavljivost hranil krme in posledično na produktivnosti živali. V glavnem ima zauživanje velikih količin taninov jasne negativne učinke (Frutos in sod., 2004). V vsakem primeru imajo lahko tanini iz različnih vrst rastlin koristen vpliv na prirejo, a le če jih živali zaužijejo v zmernih vnosih (Barry in McNabb, 1999). Rastlinojedi so razvili različne mehanizme za zaščito pred tanini v prehrani (Xiaohong in Huapeng, 1998; Hagerman in sod., 1992).

Brez učinkovite fiziološke obrambe bi imelo zauživanje taninov resne posledice za rastlinojede. Največja značilnost tega mehanizma je povezovanje taninov z beljakovinami. Ob zauživanju rastlin, ki vsebujejo tanine, se v slino izločajo beljakovine bogate s prolinom. Te endogene beljakovine zmanjšajo količino tanina, ki lahko precipitira beljakovine krme z nastankom inertnega kompleksa med s prolinom bogatih beljakovin in taninom (Xiaohong in Huapeng, 1998). S prolinom bogatih beljakovin ni v slini goveda, ovc in koz, krmljenih s hrastovim taninom, temveč le v slini podgan in divjadi. V slini goveda, ovc in koz so ob krmljenju s hrastovim taninom prisotne druge beljakovine, ki so zelo dovzetne za oblikovanje topnih kompleksov. Glavna naloga teh beljakovin v slini goveda ni nevtralizacija taninov, saj so prisotne tudi ob krmljenju obrokov, ki taninov ne vsebujejo (Makkar in Becker, 1998). To pomeni, da lahko s tanini manipuliramo prebavo dušika pri govedu (Barry in McNabb, 1999).

Tanini imajo različne vplive na biološke sisteme zato, ker se lahko povezujejo z ioni kovin, obarjajo beljakovine in so antioksidanti. Ker imajo lahko tanini toliko različnih bioloških načinov delovanja in jih najdemo v različnih strukturnih variacijah, je težko razviti modele, ki bi omogočali natančne napovedi njihovega delovanja (Hagerman, 2002). Dobro je znano, da imajo tanini antimikrobni vpliv. To pomeni, da tvorijo komplekse tudi z beljakovinami v membranah bakterij, kar zavira delovanje bakterij (Pizzi, 2008).

Razpon vplivov taninov je vse od pogina živali pa do njihovega koristnega delovanja, kot so (Mueller-Harvey, 1999):

- izboljšanje izkoriščanja prehranskega dušika,
- okoljske koristi, ki izhajajo iz spreminjanja oblik izločenega dušika. Manj dušika v seču, ki zlahka izhlapi, in več z blatom,
- potencialni antihelmintiki v veterinarski medicini,
- kot antioksidanti, ki lahko postanejo zanimivi, kot farmacevtski dodatki v preventivni medicini.

2.4.4 Interakcija med beljakovinami in tanini

Obe vrsti taninov, tako kondenzirani kot hidrolizirajoči, imajo vpliv na beljakovine, saj z njimi tvorijo topne in netopne komplekse (Xiaohong in Huapeng, 1998). Ta afiniteta taninov do beljakovin temelji na prisotnosti velikega števila fenolnih skupin, ki zagotovijo veliko točk za povezovanje s karbonilnimi skupinami peptidov. Povezujejo se lahko s prehranskimi in encimskimi beljakovinami (Bunglavan in Dutta, 2013).

Kumar in Singh (1984) sta povezovanje v komplekse razdelila v štiri različne tipe:

- povezovanje z vodikovo vezjo (odvisno od pH) med hidroksilnimi radikali fenolnih skupin in kisikom amidne skupine v peptidni vezi beljakovin,
- s hidrofobno interakcijo med aromatičnim obročem fenolne spojine in hidrofobnim območjem beljakovine,
- z ionskimi vezmi med ionom fenolata in kationskim mestom beljakovine (velja izključno za hidrolizirajoče tanine),

- s kovalentno povezavo ob oksidaciji polifenolov do kinonov in njihovo kasnejšo kondenzacijo z nukleofilnimi skupinami beljakovine.

Tanini delujejo predvsem preko vodikove vezi. S tem oblikujejo močnejše komplekse z beljakovinami in s tem bolj verjetno ustvarijo komplekse, ki se izogonejo prebavi v predželodcih prežvekovalcev. Tanini, ki delujejo preko hidrofobne vezi, oblikujejo šibkejšje komplekse z beljakovinami, ki zaradi tega lažje razpadejo. Ta razpad vezi privede do tega, da imajo lahko tanini škodljive fiziološke učinke na organizem. Moč interakcije med taninom in beljakovinami je povezana s topnostjo v vodi in oktanolu. Topnost vezi se ne razlikuje med kondenziranimi in hidrolizirajočimi tanini, zaradi česar razdelitev taninov na kondenzirane in hidrolizirajoče tanine ne pomaga pri napovedovanju njihovega vpliva na živali. Zaradi tega kebračo tanin, ki je bolj topen v vodi kot mimoza tanin, tvori šibkejšje povezave s prehranskimi beljakovinami kot tanini mimoze (Mueller-Harvey, 2006).

Poglavitni vpliv taninov na beljakovine temelji na sposobnosti tvorbe vodikove vezi, ki je stabilna med pH vrednostma 3,5 in 8. Dejavniki, ki spodbujajo tvorbo kompleksa, vključujejo večjo molekularno maso taninov in njihovo veliko strukturno raznolikost. Beljakovine, ki kažejo največ dovzetnosti za tanine, so relativno velike in hidrofobne, imajo odprto strukturo in so bogate s prolinom. Kompleksi med taninom in beljakovinami so nestabilni (Bunglavan in Dutta, 2013).

Oblikovane komplekse lahko ločimo z detergenti, ki razgrajujejo hidrofobne interakcije, ali pa z visokim pH, ki ionizira fenolni hidroksid, kar uniči zmožnost tvorbe vodikove vezi. Ti dve vrsti tanina, kondenzirani in hidrolizirajoči, sta dovzetni za oksidacijo pri visokem pH. Oksidacijski produkti lahko oblikujejo kovalentno vez z nukleofili, vključno z amino ali sulfhidrilno skupino beljakovin (Xiaohong in Huapeng, 1998). Trdnost povezav med kompleksi tanina in beljakovin se razlikuje od velikosti in strukture taninskih molekul, kakor tudi od beljakovin. Oljne repice z velikimi molekulami taninov imajo precej manjšo kapaciteto precipitacije v primerjavi z sortami oljnih repic, ki imajo majhne molekule taninov. To kaže, da količina tanina ni edini dejavnik za določanje biološke aktivnosti. Zelo verjetno je, da obstaja zelo močna povezava med strukturo tanina in njegovim biološkim delovanjem. Sirkov tanin ima različne afinitete do različnih beljakovin, ki se

razlikujejo do preko 10.000 krat. Pri oblikovanju kompleksov igra pomembno vlogo tudi pH (Mueller-Harvey, 1999).

Reakcija hidrolizirajočih in kondenziranih taninov z beljakovinami je odvisna od prostorske konfiguracije molekul in dostopnosti fenolnih skupin. Od te konfiguracije je odvisno, kako posamezna vrsta tanina reagira z beljakovinami (Pierpoint, 1983).

Naumann in sod. (2014) so ugotovili, da njihovi rezultati ne podpirajo hipoteze, da je povezava med molekulsko maso kondenziranih taninov in precipitacijo beljakovin močna. Samo molekulska masa kondenziranih taninov ni bila dobro povezana s precipitacijo beljakovin pri preučevanih trajnih metuljnicah. Med kondenziranimi tanini trajnih metuljnic je obstajala značilna strukturna raznolikost kondenziranih taninov.

2.4.5 Vpliv taninov na ohranitev beljakovin med procesom fermentacije silaže

Zelinje metuljnic je relativno bogat vir beljakovin in mineralov. Pri nas sta najbolj priljubljeni lucerna in črna detelja, ki jih je najbolje pokositi in konzervirati v začetku cvetenja. Med siliranjem proteolitična encimska aktivnost povzroči hidrolizo rastlinskih beljakovin in kopičenje nebeljakovinskega dušika, katerega najpomembnejše sestavine so proste aminokisliline in amoniak (McDonald, 1981). V zelo mokrih silažah je prisotno veliko klostridijev, ki prekomerno razgrajujejo beljakovine krme (Kung, 2001).

Za preprečevanje delovanje klostridijev in drugih nezaželenih bakterij med procesom siliranja uporabljamo različne silirne dodatke, s katerimi izboljšamo proces fermentacije in/ali ohranimo hranila (Kung, 2001). Zmanjšanje proteolize med siliranjem lahko izboljša izkoristljivost dušika iz silaž, saj se učinkovitost sinteze mikroorganizmov v vampu izboljša bolj z dodajanjem beljakovinskega dušikom kot nebeljakovinskega dušika (Roke in Armstrong, 1989).

Silaža ima v primerjavi s prvotnim materialom večji delež amoniaka in prostih aminokislilin. Venenje in uporaba mravljične kisline ali formaldehida kot dodatka pri siliranju lahko zmanjšata hitrost proteolize, s čimer dobimo silaže z majhno vsebnostjo amoniaka in prostih aminokislilin (McDonald in sod., 2002). Vendar pa je dodajanje formaldehida in mravljične kisline nevarno, saj sta strupena in povzročata resne poškodbe

in vnetja. Poleg tega pa je formaldehid tudi kancerogen. Uporaba taninov kot nadomestek za nevarne dodatke ne ogroža zdravja ljudi in živali (Lavrenčič in Levart, 2006), vendar pa za zaščito rastlinskih beljakovin pred proteolizo niso tako učinkoviti kot formaldehid ali mravljična kislina (Guo in sod., 2007).

Guo in sod. (2007) so v poskusu ugotavljali vpliv dveh koncentracij taninske kisline (20 in 50 g/kg SS) na proteolizo beljakovin med siliranjem ovele lucerne ob vsebnosti 300 g SS/kg. Najhitrejšo povečanje koncentracije nebeljakovinskega dušika (NPN) se je dogodilo v prvih 24 urah siliranja, ko se je količina NPN povečala s 170 na 460 g/kg skupne količine dušika. Po 35 dneh siliranja je vsebnost NPN predstavljala že več kot polovico skupnega dušika. Po 35 dneh siliranja ima silaža z dodatkom taninov značilno nižjo koncentracijo NPN in večjo koncentracijo beljakovinskega dušika kot silaža, pripravljena brez dodatka taninov. Guo in sod. (2007) ugotavljajo, da se je učinkovito zaviranje proteolize začelo že po prvem dnevu fermentacije silaž, pripravljanih z dodatkom taninske kisline. Koncentracija taninske kisline je imela pozitiven vpliv na koncentracijo beljakovinskega dušika. Iz rezultatov so Guo in sod. (2007) sklepali, da lahko taninska kislina učinkovito zaščiti rastlinske beljakovine pred encimsko hidrolizo. Obdelavo lucernine silaže s taninsko kislino lahko priporočamo za takojšnje zmanjšanje proteolize med siliranjem, saj učinkovito zmanjšamo aktivnosti bakterij in plesni v nastajajočih silažah.

Salawu in sod. (1999) so pri siliranju neovele trpežne ljuke z dodatkom tanina kebrača, mirabolana in mimoze ugotovili, da tanini zmanjšujejo vsebnost topnega dušika in amoniaka tako, da zmanjšajo razgradnjo pravih beljakovin med siliranjem, pri čemer so najboljše rezultate dosegli z uporabo kebračo taninov.

Lavrenčič in Levart (2004) sta ugotavljala vpliv različnih koncentracij kostanjevega tanina na siliranje ovele travne silaže. Ugotovila sta, da se s povečevanjem koncentracije tanina zmanjšuje vsebnost topnega dušika ter povečuje vsebnost pravih beljakovin. Na vsebnost amoniaka kostanjevi tanini niso imeli vpliva.

Cavallarin in sod. (2006) so ugotavljali, kako dodatek 40 g kostanjevega tanina na kg SS vpliva na vsebnost amoniaka pri siliranju ovele lucerne z 40 % SS. Ugotovili so, da je

dodatek tanina le malenkostno zmanjšal vsebnost amoniaka, kar so pripisali veliki vsebnosti SS v materialu za siliranje.

Tabacco in sod. (2006) so v poskusu ugotavljali vpliv kostanjevega tanina na proteolizo v lucerninih silažah s 40 in 53 % SS. Ugotovili so, da tanin zmanjšuje proteolizo, pri tem pa vsebnost SS ni imela nobenega vpliva.

Lavrenčič in Levart (2004) menita, da v neoptimalnih razmerah siliranja (npr. ob siliranju neovele krme) dodatek tanina silirni masi še dodatno zaščiti silažo pred kvarjenjem in pred pretirano razgradnjo beljakovin med siliranjem in skladiščenjem, kot pa v optimalnih razmerah.

Tanine bi lahko uporabljali za zaščito rastlinskih beljakovin pred razgradnjo med procesom siliranja (Salawu in sod., 1999) ter s tem povečali delež pravih beljakovin, lahko pa bi jih uporabljali tudi za zmanjševanje razgradnje beljakovin v predželodcih. Te beljakovine bi se prebavile v tankem črevesju, čimer bi bile živali boljše oskrbljene z bolj kakovostnimi beljakovinami. Posledično bi bila tudi prireja boljša (Lavrenčič in Levart, 2004).

2.4.6 Vpliv taninov na fermentacijo silaž

Tanine prištevamo k zaviralcem rasti mikroorganizmov, saj vplivajo s svojimi kemijskimi in biološkimi lastnostmi na bakterijsko floro med siliranjem (Tabacco in sod., 2006).

Salawu in sod. (1999) so v poskusu ugotavljali vpliv taninov (kebračo, mirabolan, mimoza) v dveh koncentracijah (5 in 50 g taninov/kg svežega vzorca krme) na kakovost silaž, pripravljeneh iz sveže ljujke. Ugotovili so, da je bila fermentacija tako pri silažah, pripravljeneh z dodatkom taninov, kot pri silaži, pripravljeneh brez taninov, slaba. Pri silažah z dodatkom taninov so opazili zmanjšanje koncentracije mlečne kisline, pri čemer je imela višja koncentracija taninov manjši vpliv. Tanini so prav tako zvišali koncentracijo očetne kisline, pri čemer je imela višja koncentracija taninov manjši vpliv. Pri silažah z dodatkom večje količine taninov so ugotovili tudi nižjo vsebnost maslene kisline na kar pa je vplivala višja koncentracija. Njihovi zaključki so bili, da večje koncentracije taninov (nad 50 g/kg

SS) vplivajo na zmanjšanje aktivnosti bakterij in plesni v silažah ter da preprečujejo konverzijo mlečne kisline v očetno kislino, masleno kislino in etanol.

Lavrenčič in Levart (2006) sta pri siliranju sveže latovke z dodatkom različnih koncentracij kostanjevega tanina ugotovila, da dodatek tanina zniža vsebnost mlečne kisline. Dodatek taninov pa ni imel vpliva na vsebnost očetne, propionske in maslene kisline. Dodatek tanina je imel vpliv na dvig vsebnosti očetne kisline pri zelo veliki dodani količini (15 g/kg silirne mase).

Siliranje ob vsebnosti SS preko 40 % pri oveli lucerni omogoča silaže z dobro fermentacijo, neglede na to, ali v takšno silirno maso dodajamo kostanjeve tanine ali ne (Cavallarin in sod., 2006).

Tabacco in sod. (2006) so v poskusu ugotavljali vpliv kostanjevega tanina na lucernino silažo s 33 % SS. Ugotovili so, da je bila fermentacija pri vseh silažah dobra ter da je dodatek tanina le malenkostno vplival na kakovost silaž.

2.4.7 Vpliv taninov na pH v silažah

V silažah je pH eden glavnih dejavnikov, ki vpliva na obseg proteolize v silirani krmi. Nizek pH lahko zavira hidrolizo beljakovin v krmi. Obsežna proteoliza med zgodnjo fazo siliranja je v glavnem zaradi ugodnega pH za delovanje proteolitičnih mikroorganizmov (Gou in sod., 2007). Proteolizo povzročajo mikroorganizmi, kot so listerije, klostridiji, enterobakterije in plesni, vendar lahko njihovo delovanje omejimo z dodajanjem mravljične kisline, ki hitro zniža pH v silaži. Ta dodatek lahko uspešno nadomestimo z uporabo taninov, ki kljub neugodnemu pH zaščitijo beljakovine pred proteolizo (Lavrenčič in Levart, 2004). Gou in sod. (2007) so v poskusu ugotavljali vpliv dveh koncentracij taninske kisline (20 in 50 g/kg SS) na siliranje ovele lucerne z vsebnostjo 300 g SS/kg. Ugotovili so, da je imela silaža z dodatkom taninske kisline višji pH kot kontrolna silaža. Salawu in sod. (1999) so v poskusu ugotavljali vpliv taninov (kebračo, mirabolan, mimoza) z dvema koncentracijama (5 in 50 g/kg svežega vzorca krme) na siliranje sveže ljuke. Ugotovili so, da so silaže s tanini imele višji pH kakor kontrolna silaža ter da se je s povečevanjem koncentracije taninov pH vrednost dvigovala. Lavrenčič in Levart (2006)

sta pri siliranju sveže latovke z dodatkom različnih koncentracij kostanjevega tanina ugotovila, da dodatek tanina ni imel vpliva na pH vrednost.

2.4.8 Tanini kot zaviralci mikrobne razgradnje beljakovin v vampu

Pri prežvekovalcih se večina beljakovin v vampu razgradi do amoniaka. Nekaj beljakovin se tudi izogne mikrobni prebavi v vampu in se lahko prebavijo v tankem črevesju (nerazgradljive beljakovine). V vampu se nahajajo mikroorganizmi, ki potrebujejo za sintezo mikrobnih beljakovin dovolj energije in amoniaka. V tanko črevo torej pridejo beljakovine, ki so se izognile mikrobni prebavi ter mikrobne beljakovine. Te beljakovine se tam prebavijo do aminokislin ter absorbirajo. Aminokislinam, ki se resorbirajo v tankem črevesju, rečemo presnovljive beljakovine. Največji delež presnovljivih beljakovin so ravno mikrobne beljakovine. Pri živalih, ki so pomanjkljivo oskrbljene z energijo, presežena pa je tudi količina razgradljivih beljakovin, pride do presežkov amoniaka v vampovem soku, ki ga mikroorganizmi ne morejo porabiti za svojo rast. Amoniak pride v portalni krvni obtok in se v jetrih spremeni v sečnino, ki se izloči s sečem in mlekom. Sečnina v telesu povzroča različne probleme. Potrebno je veliko energije za izločanje iz telesa, obremenjena so jetra, pogoste so tudi reprodukcijske motnje. Živali zaradi nepotrebnega izločanja obremenjujejo okolje z dušikom. Torej od razgradljivosti beljakovin v vampu je odvisna vsebnost amoniaka v vampu ter s tem možne izgube dušika. Pri kravah z veliko mlečnostjo ne moremo pokriti potreb po beljakovinah samo z mikrobnimi beljakovinami. Krmili jih moramo z večjimi količinami v vampu nerazgradljivih beljakovin. Pri običajnih krmilih se kar od 65 do 75 % beljakovin v vampu razgradi do amoniaka. Obstajajo krmila, ki imajo precej manjšo prebavljivost beljakovin v vampu (30 do 50 %). Razgradljivost beljakovin v krmilih je mogoče zaščititi tudi s toplotno ali kemično obdelavo (Babnik in sod., 2004).

Beljakovine v prehrani prežvekovalcev so slabo izkoriščene zaradi obsežne mikrobne razgradnje v vampu. Rezultat razgradnje je zapravljanje prehranskih beljakovin, predvsem pri krmljenju visoko produktivnih prežvekovalcev, ki imajo visoke potrebe po beljakovinah. Zaščita beljakovin je pomembna, kadar potrebe po beljakovinah ni mogoče izpolniti z mikrobno sintezo beljakovin. Študije so pokazale, da krmljenje beljakovin, ki so

odporne na mikrobnno razgradnjo v vampu in so dostopne prebavi v črevesju, značilno povečajo hitrost rasti in prirejo mleka (Bunglavan in Dutta., 2013). Zato se je pojavila potreba po razvoju postopkov, ki bi zmanjšali hitrost razgradnje beljakovin v vampu. Eden od načinov zmanjševanja hitrosti (in obsega) razgradnje beljakovin v predželodcih je lahko dodajanje taninov. Tanini so sekundarni rastlinski presnovki, ki se lahko povežejo z beljakovinami in ostanejo povezani pri pH, ki ga najdemo v vampu (Tabacco in sod., 2006). Te povezave so stabilne med pH 3,5 in 8 (Bunglavan in Dutta, 2013). S tem je mikrobnna proteoliza zmanjšana, kar omogoča izkoriščanje beljakovin v prebavi v tankem črevesju (Tabacco in sod., 2006). Ti kompleksi razpadejo, ko pade pH pod 3,5, ki je tudi na začetku tankega črevesja. Za prežvekovalce so nižje koncentracije taninov koristne za zaščito beljakovin pred razgradnjo v vampu (Bunglavan in Dutta, 2013). Krmljenje metuljnic, ki vsebujejo tanine (Tabacco in sod., 2006), kot je na primer navadna nokota (*Lotus corniculatus*), pri ovcah izboljša izkoristljivost beljakovin z zmanjšanjem koncentracije amoniaka v vampu ter povečanjem absorpcije aminokislin v črevesju. To izboljša mlečnost in prirast (Barry in McNabb, 1999). Lucerna v primerjavi z ostalimi metuljnicami ne vsebuje taninov (Tabacco in sod., 2006). Učinki kondenziranih taninov na prebavo beljakovin so ponavadi slabši kot vplivi hidrolizirajočih taninov, saj hidrolizirajo pri nizkem pH, kot ga najdemo v želodcu (Van Soest, 1994).

Jones in Mangan (1977) sta z *in vitro* študijo ugotavljala delovanja kompleksov med kondenziranimi tanini turške detelje (*Onobrychis viciifolia*) in topnimi beljakovinami zelinja. Beljakovine zelinja oblikujejo samo netopne komplekse s tem taninom. Beljakovinski kompleksi zelenega zelinja so stabilni med pH 3,5 in 7. Pod pH 3 se je več kot 90 % beljakovin kompleksa razgradilo, pri pH 8 pa samo 30 % beljakovin. Nato sta v *in vivo* poskusom ovce krmila s turško deteljo in potrdila stabilnost kompleksov med taninom in beljakovinami zelinja detelje v vampu (pH 6,5) in razpad kompleksov v dvanajsterniku (pH 2,5).

Tanini kebrača, mirabolana in mimoze znižajo izgube pravih beljakovin v vampu pri sveže silirani trpežni ljulki, pri čemer ima največji učinek kebračo tanin (Salawu in sod., 1999).

Čeprav je sposobnost taninov za obarjanje beljakovin njihova najočitnejša značilnost, pa je podroben kemizem te reakcije le deloma pojasnjen. Interakcija je odvisna od pogojev

reakcije, ki vključuje temperaturo, pH, razmerje med tanini in beljakovinami (Hagerman, 2002).

Colombini in sod. (2009) so v poskusu ugotavljali vpliv kostanjevega tanina na mlečnost in *in situ* razgradnjo beljakovin in SS v vampu. Lucernina silaža je bila ovenjena do vsebnosti 47,8 % SS in silirana z dodatkom kostanjevega tanina v koncentraciji 4,6 %/SS. Tako pripravljeno silažo so krmili kravam molznicam ter ugotavljali vpliv na mlečnost. Dodatek taninov je povzročil premik izkoriščanja N iz vampa v črevesje. Na mlečnost dodatek taninov ni vplival.

Dschaak in sod. (2011) so v poskusu ugotavljali vpliv dodajanja kebračo tanina (3 %/SS krme) v krmo krav molznic na vampovo fermentacijo in mlečnost. Dodajanje tanina v obrok ni imelo vpliva na prebavljivost SS in mlečnost. Tanin je imel negativen vpliv na zauživanje SS ob isti mlečnosti, kar je izboljšalo izkoristek krme za prirejo mleka. Zmanjšala se je koncentracija sečnine v mleku in amoniaka v vampu. To kaže, da se zaradi manjše razgradnje beljakovin v vampu izgubi manj dušika v obliki amoniaka. Dodajanje tanina je povzročilo, da se je več dušika izločilo z blatom in manj s sečem.

Jin in sod. (2013) so v vavnem soku krav inkubirali štiri vzorce deteljno travne mešanice in ugotavljali njihov vpliv na mikrobnno sintezo beljakovin. Vzorci so se razlikovali po deležu vijolične perzijske detelje (*Dalea purpurea vent*), ki vsebuje kondenzirane tanine. Vzorci so vsebovali 7,3, 14,0, 29,3 in 42,1 g kondenziranih taninov kg/SS vzorca. Ugotovili so, da se s povečevanjem koncentracije kondenziranih taninov v deteljno travni mešanici povečuje mikrobnna sinteza beljakovin.

Raznolikost vplivov taninov na prebavo lahko pojasnimo tudi z razlikami v fizioloških zmogljivostih živali za prebavo in presnovo taninov in deloma zaradi razlik v kemijskem delovanju različnih vrst taninov. V sestavi preparatov taninske kisline so precejšnje razlike v molekularni masi, ki je v območju od 789 do 1.027 g/mol. Komercialna taninska kislina (galotanin) ni imela podobnega učinka na prežvekovalce kot galotanini iz rastlin. Molekularna masa taninov očitno določa presnovo galotaninov iz različnih virov. Vsi preparati taninske kisline, ki vsebujejo velike molekule, obarjajo beljakovine. Vrste taninov z večjo molekularno maso, ki jih najdemo v rastlinah, lahko povezujejo beljakovine

in jih ščitijo pred hidrolizo. Tanini z nižjo molekulsko maso, v tem primeru taninska kislina, pa ne vplivajo močno na beljakovine, ki tako niso zaščitene pred hidrolizo. Kemična raznolikost, kot je molekulska masa, lahko vpliva na biološke učinke taninov. Posplošitev o učinkih in funkcijah taninov ne smemo utemeljevati na študijah, kjer so bili uporabljeni tanini iz enega samega vira, ampak moramo ugotavljati vplive enakih taninov, ki prihajajo iz različnih virov (Hagerman in sod., 1992).

2.4.9 Vpliv taninov na prebavljivost krme

Spremembe prebavljivosti, ki nastanejo zaradi zaužitja taninov, so v glavnem povezane s spremembami v fermentaciji v vampu skupaj s spremembami v prebavljivosti v tankem črevesju (Frutos in sod., 2004). Sposobnost taninov za tvorbo kompleksov pomeni, da polifenoli reagirajo s celičnimi stenami bakterij in z njihovimi encimi. Ena od možnosti je, da tanini verjetno zavrejo pot hranil v celico in s tem zavrejo rast organizma. Nekaj mikroorganizmov je, ki tolerirajo visoko koncentracijo hidrolizirajočih in kondenziranih taninov. Tanini lahko zmanjšajo prebavljivost vlaknin z oblikovanjem kompleksov z lignocelulozo za preprečevanje mikrobne prebave ali z inhibicijo celulitičnih mikroorganizmov ali oboje (McSweeney in sod., 2001).

Dodatek kostanjevega tanina (0, 2, 4 in 6 % SS silaže) je vplival na zmanjšane prebavljivosti SS ovele lucernine silaže (35 % SS) pri vseh dodanih koncentracijah tanina v vampu za 5,1 %. Zmanjšanje vampove razgradljivosti SS zaradi dodatka tanina povzroča povečanje količine in prebave mikrobnih beljakovin v črevesju (Colombini in sod., 2009).

Mikrobna prebavljivost krme se spreminja glede na količino kondenziranih taninov v sortah navadne nokote. Zmanjšanje prebavljivosti SS spremljajo spremembe v mikrobni kolonizaciji rastlinskega materiala. Kolonije so manj invazivne pri navadni nokoti z večjo vsebnostjo kondenziranih taninov (50 g kg/SS), kot pri tistih z manjšo vsebnostjo kondenziranih taninov (10 g kg/SS). Prebavljivost SS je bila manjša pri navadni nokoti z večjo vsebnostjo kondenziranih taninov kot pri nokoti z manjšo vsebnostjo kondenziranih taninov (Chiquette in sod., 1988).

Dschaak in sod. (2011) so v poskusu ugotavljali vpliv dodajanja kebračo taninov (3 %/SS krme) v krmo krav molznic na zauživanje in prebavljivost SS krme ter posledično na mlečnost. Dodajanje taninov je zmanjšalo zauživanje SS in hranil pri molznicah. Tanini kebrača niso vplivali na prebavljivost SS v celotnem prebavnem traktu in na mlečnost. Povečala pa se je izkoristljivost krme.

Jin in sod. (2013) so v vampovem soku krav inkubirali štiri vzorce deteljno travne mešanice in ugotavljali njihov vpliv na razgradljivost SS. Vzorci so se razlikovali po deležu vijolične perzijske detelje (*Dalea purpurea vent*), ki vsebuje kondenzirane tanine. Vzorci so vsebovali 7,3, 14,0, 29,3 in 42,1 g kondenziranega tanina/kg SS vzorca. S povečevanjem koncentracije kondenziranega tanina se je povečevala razgradljivost SS v vampu. Waghorn in sod. (1990) pravijo, da se prebavljivost SS zmanjšuje, če krma vsebuje več kot 5 %/kg SS kondenziranih taninov.

2.4.10 Priporočene količine taninov v krmi

Tanini so močno razširjeni v rastlinah in so pogosto prisotni v prehrani rastlinojedov (McSweeney in sod., 2001).

Količina taninov v rastlinah je zelo variabilna. Trave na splošno ne vsebujejo taninov, medtem ko jih metuljnice vsebujejo okrog 5 % v masi SS. Tropske rastlina pa lahko vsebujejo tudi 50 % taninov v SS (Mueller-Harvey, 1999). Te spojine imajo lahko toksične in antinutritivne učinke na živali. Populacije prežvekovalcev, ki so bolj prilagojene na zauživanje rastlin, bogatih s taninom, so s tem bolj učinkovite pri prebavi beljakovin in ogljikovih hidratov. Zaradi teh okoliščin so lahko tanin vsebujoče rastline koristne. Tanine lahko krmimo v koncentracijah, ki zaščitijo prehranske beljakovine pred pretirano razgradnjo v vampu, pri tem pa ne vplivajo na učinkovitost mikrobne prebave (McSweeney in sod., 2001). Številni avtorji svetujejo, da je koncentracija < 50 g kondenziranih taninov v kg krme koristna, čeprav to priporočilo velja le za krmljenje metuljnic rodu *Lotus* (nokote). Zato to priporočilo mogoče ni uporabno za ostale rastline (Mueller-Harvey, 2006). Barry in McNabb (1999) ugotavljata, da se z zviševanjem koncentracije kondenziranih taninov v navadni nokoti (*Lotus corniculatus*) in močvirski nokoti (*Lotus pedunculatus*) zmanjšuje hitrost razgradnje beljakovin v vampu in povečuje

pretok beljakovinskega dušika v dvanajsternik. Pri srednji koncentraciji vpliv dodatka kondenziranih taninov v navadni nokoti (30 do 40 g/kg SS) zvišuje absorbcijo aminokislin v črevesju in povečuje prirejo brez vpliva na količino zaužite krme pri ovcah. Iz tega sta sklepala, da se je izboljšala konverzija krme. Visoka koncentracija kondenziranih taninov v močvirski nokoti (75 do 100 g/kg SS) pri ovcah zmanjša količino zaužite krme, prebavo ogljikovih hidratov v vampu in prirejo.

Vpliv kondenziranih taninov na fermentacijo ogljikovih hidratov in beljakovin v vampu lahko razložimo s teorijo o prostih taninih. Pri metuljnicah rodu *Lotus* skoraj ves kondenziran tanin reagira z beljakovinami rastline, dokler količina taninov ne preseže 90 g kondenziranih taninov/kg SS. Netopni kondenzirani tanini zmanjšajo razgradnjo rastlinskih beljakovin v vampu. Prosti kondenzirani tanini lahko reagirajo z mikrobnimi encimi in jih onesposobijo. To pojasnjuje, zakaj visoka vsebnost prostih kondenziranih taninov zmanjšuje prebavljivost ogljikovih hidratov v vampu (Barry in McNabb, 1999).

Potrebna koncentracija kondenziranih taninov v krmi za optimiranje vampove razgradnje beljakovin temelji na tem, da ena enota tanina zaščiti določeno število enot beljakovin. Med vsebnostjo taninov v metuljnicah in razgradljivostjo beljakovin v vampu obstaja linearna povezava. Vsaka enota kondenziranih taninov zaščiti 0,61 enote beljakovin pred razgradnjo v vampu. Če vsebuje metuljnica 21 % beljakovin, bo koncentracija 3,8 % kondenziranih taninov na kg SS zmanjšala razgradljivost beljakovin v vampu z 81 % na 70 %. Takšna razgradljivost pa velja za optimalno za izboljšanje izkoristljivosti beljakovin in prirejo živali (Coblentz in Grabber, 2013).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

3.1.1 Substrat

V poskus smo vključili lucerno (*Medicago sativa*), ki je bila pokošena konec aprila. Pobrana je bila z nakladalno prikolico, ki je imela nože za razrez. Iz nakladalne prikolice smo vzeli vzorec lucerne in jo takoj svežo zamrznili ter jo skladiščili do pričetka izvajanja poskusa pri $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ v zamrzovalni komori.

3.1.2 Silirni dodatki

Kot silirna dodatka smo uporabili dve vrsti taninskih izvlečkov. Proučevali smo vpliv vrste taninskega izvlečka in njegove koncentracije na kakovost in hranilno vrednost silaže. Od hidrolizirajočih taninov smo uporabili kostanjev taninski izvleček iz lesa, imenovan Farmatan (FAR), podjetja Tanin Sevnica, d.o.o, od kondenziranih pa taninski izvleček iz lesa kebrača (QUE). Silažo smo tretirali s taninskimi izvlečki v treh koncentracijah, kot g/kg silirne mase (0 (kontrola), 5, 15 in 25 g/kg svežega vzorca).

3.2 METODE

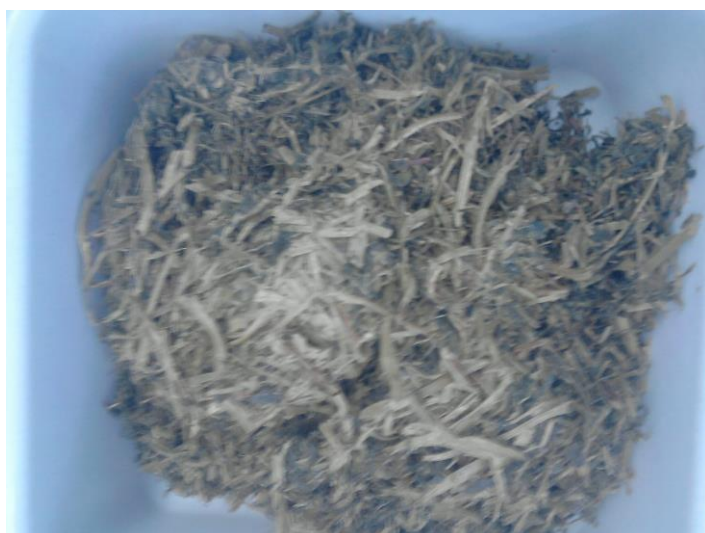
3.2.1 Siliranje

Iz zamrzovalne komore smo vzeli zaprt sod z zamrznjeno svežo lucerno in ga pustili čez noč na sobni temperaturi, da se je lucerna odtajala. V plastično škatlo smo natehtali 3 kg odmrznjene sveže lucerne ter dodali ustrezno količino FAR ali QUE taninskih izvlečkov. Material smo na roke čim bolj homogeno premešali in z njim napolnili dva poskusna silosa (2,5 l stekleni kozarec). Poskusna silosa smo polnili postopoma ter vmes material tlačili, dokler ju nismo napolnili do vrha. Rob polnih poskusnih silosev smo nato očistili in neprodušno zaprli s kovinskim pokrovčkom. Poskusne silose smo ustrezno označili (preglednica 2). Po 30 dneh fermentacije na sobni temperaturi smo poskusne silose odprli in vsebino vsakega od njih homogenizirali. V vsebini vsakega poskusnega silosa smo

naredili dve ponovitvi in izračunali povprečno vrednost, ki smo jo uporabili v statistični analizi.

Preglednica 2: Oznake vzorcev silaž

Oznake vzorcev silaž z dodanim taninskim izvlečkom različne vrste in koncentracije		Koncentracija (g/kg vzorca)
Kontrola		0
Farmatan	Kebračo	
FAR-5	QUE-5	5
FAR-15	QUE-15	15
FAR-25	QUE-25	25



Slika 1: Lucernina silaža

3.2.2 Kemijske analize vzorcev silaž

Analizo vzorcev silaž smo opravili v Kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete. S postopki weendske analize smo v vzorcih silaž določili vsebnosti suhe snovi (SS), surovega pepela (SP), surovih maščob (SM), surovih beljakovin (SB) in surove vlaknine (SV) (Official methods of analysis, 1990).

V vzorcih silaž smo določili tudi vsebnost v nevtralnem detergentu netopnih vlaken (NDV) z metodo po Goering in Van Soest (1970).

3.2.3 Analiza fermentacijskih produktov v vzorcih silaž

Vsebnost hlapnih maščobnih kislin (HMK), metanola, etanola in mlečne kisline smo določili tako, da smo v 500 ml steklene čaše zatehtali 50 g silaže, jo prelili s 450 ml destilirane vode ter dodali ščepec živosrebrovega klorida (HgCl_2), s katerim smo ustavili delovanje mikroorganizmov. Čaše smo pokrili z lepilno folijo in jih pustili na sobni temperaturi 24 ur. Nato smo vzorec premešali ter prefiltrirali. Del tekočine smo zamrzili in v njej kasneje analizirali vsebnosti amoniaka in pH. V drugem delu filtrata smo s plinsko kromatografijo določili vsebnosti posameznih HMK (ocetna, propionska in maslena kislina) ter etanola in metanola s postopkom, kot ga opisujejo Holdeman in sod. (1977).

Mlečno kislino smo določili po postopku, ki ga opisujejo Holdeman in sod. (1977). Po postopku določanja HMK nam je ostal filtrat vzorca. V epruveto smo dali 0,5 ml filtrata vzorca in 4 ml trikloroacetne kisline ter centrifugirali 10 minut pri 3000 obratih na minuto. Odvzeli smo 1 ml supernatanta in dali v prazno epruveto s 4 ml raztopine CuSO_4 ter premešali. Dodali smo še 0,5 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ter raztopino občasno mešali 30 minut. Nato smo raztopino centrifugirali 10 minut pri 3000 obratih na minuto. Po centrifugiranju smo odvzeli 0,5 ml supernatanta, ga dali v prazno epruveto, dodali 0,1 ml 4 % $\text{Cu}(\text{SO}_4)$, premešali, dodali še 3 ml 98 % H_2SO_4 in premešali. Epruveto smo postavili za 5 minut v vrelo vodno kopel. V ohlajeno epruveto smo dodali 0,1 ml raztopine parahidroksidifenila in premešali. Epruveto smo ponovno dali v vodno kopel s 30 °C za 30 minut z mešanjem. Epruvete z vzorci smo za 90 sekund postavili v vrelo vodo. Ohlajenim vzorcem na sobni temperaturi smo izmerili absorbanco pri 560 nm.

Amoniak v vzorcih silaž smo določili po metodi Naumann in Bassler (1976) s titracijo filtrata. V Kjeldahl bučko smo nalili 50 ml filtrata, dodali dve žlički MgO ter destilirali z vodno paro. Nato smo v predložko dali 20 ml 0,1 N H_2SO_4 in tri kapljice mešanega indikatorja. Destilirali smo do dvakratne količine kisline, segreli do vrenja, ohladili in titrirali z 0,1 N NaOH. Destilirali smo z aparaturo TECATOR.

V filtratu vzorcev silaž smo določili stopnjo kislosti s pH metrom opremljenim s stekleno elektrodo.

3.2.4 *In vitro* določanje navidezne in prave razgradljivosti SS vzorcev silaž

Za določanje *in vitro* navidezne razgradljivosti SS (IVNRSS) in *in vitro* prave razgradljivosti SS (IVPRSS) vzorcev silaž smo najprej z acetonom sprali filtrske vrečke F57 (Ankom, ZDA), jih posušili, stehali ter označili. V filtrske vrečke smo zatehtali po 0,5 g laboratorijsko suhega vzorca silaže in jih toplotno zavarili. Poleg teh smo sprali, posušili, stehali in toplotno zavarili tudi vrečke brez vzorca (slepi vzorec). Vse vrečke smo namestili v inkubacijsko posodo. V ogreto inkubacijsko posodo smo nalili pufer, ga v inkubatorju ogreli na 30 °C in pred začetkom inkubacije primešali še redukcijsko raztopino. Na koncu smo dodali še vampov sok. Inkubacijsko posodo s pufrom smo vseskozi prepihovali z ogljikovim dioksidom. Vzorce silaž smo inkubirali 24 ur pri temperaturi $39 \pm 0,5$ °C. Po koncu inkubacije smo vrečke z vzorci silaž dobro sprali z vodo in jih posušili do konstantne mase pri 105 °C. Vrečke z ostanki po inkubaciji smo nato stehali. Na podlagi količine SS pred in po inkubaciji smo izračunali IVNRSS vzorcev silaž. Po tehtanju smo vrečke z ostanki silaž tretirali še z vrelim nevtralnimi detergentom, jih sprali z vročo vodo in acetonom ter jih nato posušili do konstantne mase pri 105 °C. Iz razlike v količini SS pred inkubacijo v vampovem soku in po tretiranju z nevtralnimi detergentom smo izračunali IVPRSS vzorcev silaž.

3.2.5 Organoleptično ocenjevanje vzorcev silaž po ključih

Ob odpiranju kozarcev s silažami, smo vzorce silaž organoleptično ocenili (vonj, barva in prisotnost plesni). Na podlagi vsebnosti SS, HMK in mlečne kisline smo vzorce silaž ocenili z različnimi ključi za ocenjevanje krme in silaž. V preglednici 3 so podatki o vsebnostih, ki smo jih potrebovali za ocenjevanje vzorcev silaž.

Preglednica 3: Potrebni podatki o vsebnostih za ocenjevanje vzorcev silaž po ključih

	SS	Mlečna kislina	Ocetna kislina	Propionska kislina	Amoniak	pH
Kontrola	263	67,95	35,47	0,10	3,01	4,53
FAR-5	259	91,37	28,55	0,00	2,94	4,40
FAR-15	266	88,03	37,93	0,07	2,63	4,52
FAR-25	271	76,81	19,09	0,00	2,04	4,48
QUE-5	259	84,46	28,33	0,04	3,36	4,56
QUE-15	269	74,29	40,49	0,13	2,42	4,56
QUE-25	274	77,60	22,66	0,05	2,36	4,53

Vzorci silaž smo tako ocenili po AGFF (Arbeitsgemeinschaft zur Förderung des Futterbaues) ključu, ki upošteva botanično sestavo, stadij razvoja in spremembe med konzerviranjem (Bewertung ..., 1984), po ÖAG ključu (Buchgraber, 2001), ki s točkami ocenjuje vonj, strukturo in barvo, s ključem za ocenjevanje silaž po Demarquillyju (1973), kjer ocenjujemo silažo na podlagi rezultatov kemijskih analiz, kot so pH vrednosti, vsebnosti oetne kisline, propionske kisline, maslene kisline in vsebnosti amoniaka od skupnega dušika (N) (g/kg amoniaka od skupnega N; preglednica 4). S ključem po Demarquillyju (1973) smo na osnovi pH in vsebnosti SS ocenili stabilnost silaže.

Preglednica 4: Potrebni podatki za izračun in rezultati o količini amoniaka od skupnega N

	Vzorci silaž						
	Kontrola	FAR-5	FAR-15	FAR-25	QUE-5	QUE-15	QUE-25
g SB/kg SS	206,2	200,5	193,6	193,6	199,1	193,8	189,7
Amoniak g/kg SS	3,0	2,9	2,6	2,0	3,4	2,4	2,4
Skup. N g/kg SS	33,0	32,1	31,0	31,0	31,9	31,0	30,4
Amoniak g/kg skup. N	91,1	91,6	84,8	66,0	105,5	78,0	77,8

Vzorci silaž smo ocenili tudi po novem DLG ključu, ki temelji na ocenjevanju vsebnosti maslene kisline, oetne kisline, amoniaka od skupnega N, organoleptične ocene in kislosti silaže (pH) ob upoštevanju sušine silaž (Weißach in Honig, 1992).

3.2.6 Statistična obdelava podatkov

Podatke smo zbrali v MS Excelovi preglednici za nadaljno statistično obdelavo. Obdelali smo jih s statističnim paketom SAS/STAT (SAS, 1994) z GLM (General Linear Model) proceduro. V statistični model smo kot sistematska vpliva vključili vpliv vrste taninskega izvlečka (T) in koncentracije (K) ter interakcijo med njima (TK_{ij}).

Ob uporabi zgoraj navedenega statističnega modela smo ugotovili, da interakcija med vrsto tanina (T) in koncentracijo (K) za nobenega od zbranih podatkov ni bila značilna, zato smo jo iz statistične obdelave izključili in podatek obdelali po modelu: $Y_{ijk} = \mu + T_i + K_j + e_{ijk}$

Y_{ijk} = MLK, metanol, etanol, očetna kislina, propionska kislina, maslena kislina, amoniak, IVNRSS in IVPRSS

μ = srednja vrednost

T_i = vrsta taninskega izvlečka; i = QUE, FAR

K_j = koncentracija; j = 0, 5, 15, 25 g/kg.

Statistično smo obdelali sledeče lastnosti: MLK, metanol, etanol, očetna kislina, propionska kislina, maslena kislina, amoniak, IVNRSS in IVPRSS. Za ostale lastnosti (vsebnosti suhe snovi (SS), surovih beljakovin (SB), surovih maščob (SM), surovega pepela (SP), surove vlaknine (SV) in v nevtralnem detergentu netopnih vlaken NDV)) smo prikazali samo povprečne vrednosti.

4 REZULTATI

4.1 KEMIJSKA SESTAVA VZORCEV SILAŽ

V preglednici 5 so prikazane vsebnosti hranljivih snovi, določenih z wendsko analizo in v nevtralnem detergentu netopnih vlaken (NDV) v vzorcih silaž z dodatkom različnih vrst in koncentracij taninskih izvlečkov.

Preglednica 5: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na kemijsko sestavo vzorcev silaž (g/kg SS)

	SS	SP	SB	SM	SV	NDV
Kontrola	263	139	206	13	285	430
FAR-5	259	138	201	11	280	408
FAR-15	266	135	194	11	274	405
FAR-25	271	132	194	13	270	391
QUE-5	259	141	199	10	279	409
QUE-15	269	141	194	9	273	404
QUE-25	274	135	190	8	268	394

Največjo vsebnost SS smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-25; 274 g SS/kg), najmanj pa pri vzorcih silaž, ki smo jim dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-5; 259 g SS/kg) ali enako količino izvlečka iz lesa kebrača (QUE-5; 259 g SS/kg). V silažah, ki smo jim dodali enake količine taninskih izvlečkov, nismo opazili razlik v vsebnosti SS.

Največjo vsebnost SP smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-5; 141 g SP/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-25; 132 g SP/kg SS). Vsebnosti SP so bile med silažami, ki smo jim dodali enako količino obeh taninskih izvlečkov, zelo podobne.

Največjo vsebnost SB smo določili v vzorcu silaže brez dodatka taninskega izvlečka (kontrola; 206 g SB/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-25; 190 g SB/kg SS). V silažah, ki smo jim dodali enake količine taninskih izvlečkov, nismo opazili velikih razlik v vsebnosti SB.

Največji vsebnosti SM smo določili v vzorcu silaže brez dodatka taninskega izvlečka (kontrola; 13 g SM/kg SS) in vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-25; 13 g SM/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-25; 8 g SM/kg SS). Vsebnosti SM so bile med silažami, ki smo jim dodali enako količino obeh taninskih izvlečkov, zelo podobne.

Največjo vsebnost SV smo določili v vzorcu silaže brez dodatka taninskega izvlečka (kontrola; 285 g SV/kg SS), najmanj pa pri vzorcih silaž, ki smo jim dodali 25 g obeh vrst taninskih izvlečkov/kg (QUE-25; 268 g SV/kg SS, FAR-25; 270 g SV/kg SS). V silažah, ki smo jim dodali enake količine taninskih izvlečkov, nismo opazili velikih razlik v vsebnosti SV:

Največjo vsebnost NDV smo določili v vzorcu silaže brez dodatka taninskega izvlečka (kontrola; 430 g NDV/kg SS), najmanj pa pri vzorcih silaž, ki smo jim dodali 25 g obeh vrst taninskih izvlečkov/kg (QUE-25; 394 g NDV/kg SS, FAR-25; 391 g NDV/kg SS). Vsebnosti NDV so bile med silažami, ki smo jim dodali enako količino obeh taninskih izvlečkov, zelo podobne.

4.2 FERMENTACIJSKI PRODUKTI VZORCEV SILAŽ

V preglednici 6 je prikazan vpliv različnih vrst in koncentracij taninskih izvlečkov na pH in vsebnosti fermentacijskih produktov v vzorcih lucerninih silaž, ki so hlapne maščobne kisline (ocetna, maslena in propionska kislina), mlečna kislina, metanol, etanol in amoniak. Podane so P vrednosti za vpliva. Ker so bile vsebnosti maslene kisline v silažah pod mejo detekcije, jih v preglednici in rezultatih ne navajamo.

Preglednica 6: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na pH in vsebnosti fermentacijskih produktov vzorcev silaž (g/kg SS)

	Mlečna kislina	Ocetna kislina	Propionska kislina	Metanol	Etanol	Amoniak	pH*
Kontrola	67,95	35,47	0,10	12,34	7,72	3,01	4,53
FAR-5	91,37	28,55	0,00	1,59	6,13	2,94	4,40
FAR-15	88,03	37,93	0,07	2,53	5,88	2,63	4,52
FAR-25	76,81	19,09	0,00	1,51	5,82	2,04	4,48
QUE-5	84,46	28,33	0,04	9,48	6,49	3,36	4,56
QUE-15	74,29	40,49	0,13	14,46	14,38	2,42	4,56
QUE-25	77,60	22,66	0,05	9,15	5,89	2,36	4,53
RMSE	14,82	10,99	0,07	3,57	3,59	0,29	
	P vrednosti (P =)						
Vrsta taninskega izvlečka	0,465	0,431	0,284	0,003**	0,195	0,323	
Koncentracija	0,608	0,291	0,278	0,419	0,248	0,007**	

* Podatke o pH nismo statistično obdelali. P – vrednosti < 0,05 so statistično značilne.

Največjo vsebnost mlečne kisline smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-5; 91,37 g mlečne kisline/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže brez dodatka taninskih izvlečkov (kontrola; 67,95 g mlečne kisline/kg SS). Vrsta taninskega izvlečka ni vplivala na vsebnost mlečne kisline v vzorcih silaž. Tudi koncentracija taninskih izvlečkov ni vplivala na vsebnost mlečne kisline v vzorcih silaž.

Največjo vsebnost očetne kisline smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 15 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-15; 40,49 g očetne kisline/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-25; 19,09 g očetne kisline/kg SS). Vrsta taninskega izvlečka ni vplivala na vsebnosti očetne kisline v vzorcih silaž, kar velja tudi za koncentracijo taninskih izvlečkov.

Največjo vsebnost propionske kisline smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 15 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-15; 0,13 g propionske kisline/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-5; brez vsebnosti propionske kisline). Na vsebnost propionske kisline vrsta taninskega izvlečka ni imela vpliva. Tudi koncentracija taninskih izvlečkov ni vplivala na vsebnost propionske kisline v vzorcih silaž.

Največjo vsebnost metanola smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 15 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-15; 14,46 g metanola/kg SS), najmanj pa v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-25; 1,51 g metanola/kg SS). Na vsebnost metanola v vzorcih silaže je vplivala vrsta taninskega izvlečka. Dodatek kostanjevega taninskega izvlečka je zmanjšal vsebnost metanola v vzorcih silaže ($P < 0,05$), medtem ko taninski izvleček iz lesa kebrača ni vplival na vsebnost metanola. Koncentracija obeh taninskih izvlečkov ni vplivala na vsebnost metanola v vzorcih silaž.

Največjo vsebnost etanola smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 15 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-15; 14,38 g etanola/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-25; 5,82 g etanola/kg SS). Na vsebnosti etanola v vzorcih silaž nista vplivali ne vrsta, ne koncentracija dodanih taninskih izvlečkov.

Največjo vsebnost amoniaka smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-5; 3,36 g amoniaka/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-25; 2,04 g amoniaka/kg SS). Vrsta taninskega izvlečka ni vplivala na vsebnosti amoniaka v vzorcih silaž, medtem ko se je s povečanjem koncentracije taninskega izvlečka zmanjšala ($P < 0,05$) vsebnost amoniaka v vzorcih silaž v primerjavi z vzorcem kontrolne silaže .

Najvišjo pH vrednost smo določili pri vzorcih silaž, ki smo jima dodali 5 in 15 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-5, QUE-15; pH 4,56), najnižjo pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-5; pH 4,4). Zaznali smo trend, da dodatek taninskega izvlečka iz lesa kostanja znižuje pH silaž, kar pa ne velja za taninski izvleček iz lesa kebrača.

4.3 *IN VITRO* NAVIDEZNA IN PRAVA RAZGRADLJIVOST SS VZORCEV SILAŽ

V preglednici 7 je prikazan vpliv različnih vrst in koncentracij taninskih izvlečkov na obseg *in vitro* navidezne in prave razgradljivosti SS vzorcev silaž in P vrednosti za oba vpliva.

Preglednica 7: Podatki o *in vitro* navidezni in pravi razgradljivosti SS (g/kg SS) vzorcev silaž

	IVNRSS	IVPRSS
Kontrola	593	737
FAR-5	569	728
FAR-15	566	743
FAR-25	563	738
QUE-5	591	744
QUE-15	574	739
QUE-25	566	734
RMSE	10,61	9,68
	P vrednost (P =)	
Vrsta taninskega Izvlečka	0,125	0,671
Koncentracija	0,189	0,703

P – vrednosti < 0,05 so statistično značilne.

Največjo vsebnost IVNRSS smo določili v vzorcu silaže brez dodatka taninskega izvlečka (kontrola; 593 g IVNRSS/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 25 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-25; 563 g IVNRSS/kg SS). Ne vrsta in ne koncentracija taninskih izvlečkov nista vplivali na IVNRSS vzorcev silaž.

Največjo vsebnost IVPRSS smo določili v vzorcu silaže, ki smo mu dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kebrača/kg (QUE-5; 744 g IVPRSS/kg SS), najmanj pa pri vzorcu silaže, ki smo mu dodali 5 g taninskega izvlečka iz lesa kostanja/kg (FAR-5; 729 g IVPRSS/kg SS). Ne vrsta in ne koncentracija taninskih izvlečkov nista vplivali na IVPRSS vzorcev silaž.

4.4 ORGANOLEPTIČNE OCENE VZORCEV SILAŽ PO KLJUČIH

Vzorci silaž brez dodatka taninskih izvlečkov so bili svetlo zelene barve ter svežega vonja po travi. Ena od obeh paralelk tega vzorca kontrolne silaže je bila na vrhu rahlo plesniva. Ko smo plesen odstranili, je tudi ta vzorec silaže imel svež vonj po travi. Vsi vzorci silaž z dodatkom taninskega izvlečka iz lesa kostanja niso imeli značilnega vonja za silažo. Niso imeli vonja po travi ali pa so imeli neizrazit vonj. S povečevanjem koncentracije izvlečka iz lesa kostanja je barva vzorcev silaž temnela. Vzorci silaž z dodatkom izvlečka iz lesa

kebrača so imeli normalen svež vonj po travi. S povečevanjem koncentracije taninskih izvlečkov je barva vzorcev silaž prav tako temnela.

Pri ocenjevanju vzorcev silaž po ključih smo uporabili podatke, ki smo jih pridobili z organoleptično oceno in kemijsko analizo. Pri oceni vzorcev silaž smo potrebovali podatek o količini amoniaka od skupnega dušika (g/kg od skupnega N). Vzorci silaž se med seboj organoleptično niso razlikovali.

Pri oceni po AGFF ključu smo vzorce silaž (razred z več kot 50 % metuljnic) uvrstili po stadiju razvoja v srednje zgođen razred (ocena 2). Ker so imeli naši vzorci silaž povprečno 266 g SS/kg sveže mase smo jim prišteli polovico stadija razvoja. Ker pri naših vzorcih silaže nismo zaznali napak pri fermentaciji in nismo zaznali kvarjenja, za te postavke nismo odšteli nobenih točk. Naše vzorce silaž smo tako ocenili z oceno 2,5, ter ocenili njihovo vsebnost NEL med 6,3 in 6,1 MJ/kg SS ter vsebnostjo SB med 211 g in 185 g/kg SS.

Pri oceni po ÖAG ključu smo vsem vzorcem silaž dali 14 točk za vonj, saj so imeli prijetno kiselkast vonj, brez vonja po masleni kislini. Ker je bila struktura listov in stebel ohranjena, so vzorci silaž dobili še dodatne 4 točke. Barva vzorcev silaž je bila podobna izhodnemu materialu, zato smo jim dodali še dve 2 točki. Po številu točk so naši vzorci silaž tako dobili vseh 20 možnih točk, kar jih uvršča med zelo dobre do dobre silaže.

Oceno po Demarquillyu prikazujemo v preglednici 8. V njej sta prikazana vpliva vrste in koncentracije taninskega izvlečka na oceno, s katero ugotavljamo stabilnost, vsebnost očetne, propionske in maslene kisline ter vsebnosti amoniaka od skupnega N. Oceno stabilnosti vzorcev silaž smo razbrali iz preglednic, v katerih smo upoštevali naše rezultate pH vrednosti in vsebnosti SS.

Preglednica 8: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na oceno parametrov vzorcev silaž po Demarquillyu

	Vzorci silaž						
	kontrola	FAR-5	FAR-15	FAR-25	QUE-5	QUE-15	QUE-25
Maslena kislina	odlična	odlična	odlična	odlična	odlična	odlična	odlična
Amoniak (g/kg skup. N)	dobra	dobra	dobra	odlična	odlična	odlična	odlična
Ocetna kislina	slaba	slaba	slaba	zelo dobra	slaba	zelo slaba	dobra
Propionska kislina	dobra	dobra	dobra	dobra	dobra	dobra	dobra
Stabilnost silaže	nestabilna	nestabilna	nestabilna	nestabilna	nestabilna	nestabilna	nestabilna

Ker v naših vzorcih silaž s kemijsko analizo nismo določili vsebnosti propionske kisline nad 2 g/kg SS, smo jih uvrstili med dobre silaže. Noben od vzorcev silaž ni vseboval maslene kisline, kar jih uvršča med odlične silaže. Silaže so glede ocene stabilnosti silaž nestabilne, saj so imele pH okrog 4,5. Pri povprečni vsebnosti 266 g SS/kg naših vzorcev silaž bi moral biti pH 4,28 ali manjši. Vsebnosti amoniakovega N pod 80 g/kg skupnega N uvršča silaže med odlične silaže, vsebnosti amoniakovega N med 80 in 120 g/kg skupnega N pad med zelo dobre silaže. Oba taninska izvlečka sta vplivala na vsebnost amoniaka ter s tem na oceno vzorcev silaž. Taninski izvleček iz lesa kostanja je vplival na izboljšanje ocene po vsebnosti amoniaka iz dobre na odlično le pri dodani najvišji koncentraciji. Taninski izvleček iz lesa kebrača je vplival na izboljšanje ocene po amoniaku iz dobre na odlično pri vseh koncentracijah izvlečka. Le najvišja dodana koncentracija obeh tanininskih izvlečkov je izboljšala oceno silaž po vsebnosti oetne kisline iz slabe na zelo dobro pri dodajanju taninskega izvlečka iz lesa kostanja ter iz slabe na dobro oceno pri dodatku taninskega izvlečka iz lesa kebrača. Dodatek taninskega izvlečka ni imel vpliva na oceno vzorcev silaž po vsebnosti maslene in propionske kisline ter glede stabilnosti silaž.

Vzorci silaže smo ocenili tudi po novem DLG ključu (po Weißachu in Honigu, 1992), ki temelji na ocenjevanju vsebnosti maslene, oetne kisline, amoniaka od skupnega N, organoleptične ocene in kislosti (pH) silaže ob upoštevanju sušine v silaži. Ocene za posamezne parametre smo razbrali iz preglednic.

Preglednica 9: Vpliv vrste in koncentracije taninskega izvlečka na oceno vzorcev silaž po novem DLG ključu (ocene s točkami)

Vzorec silaže	Maslena kislina	Amoniak	Ocetna kislina	Kislost ob vseb. sušine	Skupaj točke	Ocena
Kontrola	50	25	0	15	90	dobra
FAR-5	50	25	0	20	95	zelo dobra
FAR-15	50	25	-5	15	85	dobra
FAR-25	50	25	0	20	95	zelo dobra
QUE-5	50	20	0	15	90	dobra
QUE-15	50	25	-5	15	85	dobra
QUE-25	50	25	0	15	90	dobra

Naši vzorci silaž niso vsebovali zaznavnih količin maslene kisline, zato so takoj dobili 50 točk. Vsi vzorci silaž razen QUE-5 vzorca so spadali v razred z manj kot 100 g amoniaka na kg skupnega N in so zato dobili 25 točk. QUE-5 vzorec silaže je presegal to vrednost zato smo mu prisodili 20 točk. Zaradi vsebnosti očetne kisline se naši vzorci silaž uvrščajo v razred pod 35 g/kg SS (0 točk) in razred med 35 in 45 g/kg SS (odbitek 5 točk). Točke za pH smo ob upoštevanju vsebnosti sušine v silaži določili iz razreda za sušino med 200 in 300 g/kg silaže. Odbitkov glede organoleptične ocene nismo dali. Vse silaže so bile ocenjene kot dobre in zelo dobre. Samo dodatek taninskega izvlečka iz lesa kostanja v koncentraciji 5 in 25 g/kg silaže je izboljšal oceno silaž z dobre na zelo dobro. Taninski izvleček iz lesa kebrača ni izboljšal ocene silaž.

5 RAZPRAVA

Kostanjev (FAR) in kebračo (QUE) taninski izvleček smo uporabili kot silirna dodatka ob siliranju sveže lucerne. Proučevali smo vpliv vrste taninskega izvlečka in njegove koncentracije na kemično sestavo, hranilno vrednost in kakovost lucerninih silaž. Obe vrsti taninskih izvlečkov smo dodajali k silirni masi v koncentracijah 0 (kontrola), 5, 15, 25 g/kg sveže snovi.

Taninski izvlečki naj bi zaščitili beljakovine silaže pred proteolizo med procesom siliranja (Salawu in sod., 1999), povečalo delež pravih beljakovin ter zmanjšalo razgradnjo beljakovin ob prebavi v predželodcih. Nerazgrajene beljakovine bi se kasneje prebavile v tankem črevesju in zato naj bi bile živali z njimi boljše oskrbljene. Posledično bi se izboljšala tudi prireja živali (Lavrenčič in Levart, 2004).

Kemijska analiza silaž nam pove, ali je bila fermentacija silaž slaba, dobra ali odlična. Na podlagi teh analiz lahko predvidimo, katere vrste mikroorganizmov so prevladovali v procesu siliranja. V mnogih primerih lahko na podlagi različnih lastnosti krme (vsebnost vlage, sladkorja, puferska kapaciteta krme) predvidimo, kakšni fermentaciji je bila krma podvržena (Kung in Shaver, 2001).

V silažah, ki smo jim dodali enake količine taninskih izvlečkov, nismo opazili razlik v vsebnosti SS. Tabacco in sod. (2006) so ugotovili, da dodajanje taninskega izvlečka zmanjšuje izgube SS lucernine silaže zaradi inhibicije delovanja enterobakterij. Kung in Shaver (2001) sta ugotovila, da je pri mokrih silažah količina ohranjene SS manjša kot pri ovenjenih silažah. Salawu in sod. (1999) so ugotovili, da dodajane taninskih izvlečkov (mimoza, mirabolan in kebračo) k neoveli trpežni ljujki (188 g/kg SS) statistično značilno poveča vsebnost SS v silažah. Manjše izgube SS pri silažah z dodanimi taninskimi izvlečki, so lahko posledica manjšega obsega naravne fermentacije oz. delovanja mikrobov in njihovih encimov. Izguba SS silaže je rezultat pretvorbe ogljika v CO₂, ki nastaja ob rasti nezaželenih mikroorganizmov (SIL-ALL, 2014).

V dostopni literaturi nismo zasledili nobenih podatkov o vplivu taninskih izvlečkov na vsebnost SP. Ugotovili pa smo, da v silažah, ki smo jim dodali enake količine taninskih izvlečkov, nismo opazili razlik v vsebnosti SS.

Podobno kot za vsebnost SS velja tudi za SB. Vsebnost SB se z dodajanjem različnih taninskih izvlečkov v različnih koncentracijah ni spremenila. Lavrenčič in Levart (2006) sta z dodatkom izvlečka iz lesa kostanja k neoveli travniški latovki po treh mesecih siliranja ugotovila, da se s povečevanjem koncentracije zmanjšuje vsebnost SB v silaži. Salawu in sod. (1999) so pri dodajanju taninskih izvlečkov iz lesa kebrača, mimoze in mirabolana k neoveli trpežni ljujki ugotovili, da tanini po 32 dneh siliranja ne vplivajo na vsebnost skupnega dušika v silažah. Do podobnih zaključkov so prišli tudi Cavallarin in sod. (2006) in Tabacco in sod. (2006).

Vsebnost SM se z dodajanjem različnih taninskih izvlečkov v različnih koncentracijah ni spremenila. V dostopni literaturi nismo zasledili podatkov o vplivu taninskih izvlečkov na vsebnost SM v silažah.

Z dodajanjem taninskega izvlečka in povečevanjem njegove koncentracije se vsebnost SV v vzorcih silaž ni spreminjala. Lavrenčič in Levart (2006) sta ugotovila, da se vsebnost SV zmanjšuje ($P < 0,05$) s povečevanjem koncentracije kostanjevega taninskega izvlečka.

Podobno kot za vsebnosti SV velja, da nobeden od uporabljenih taninskih izvlečkov ni bistveno spremenil vsebnosti NDV v vzorcih silaž, čeprav so vsi vzorci silaž, pripravljene s taninskimi izvlečki, vsebovali manj NDV kot kontrolna silaža. Lavrenčič in Levart (2006) sta ugotovila, da je le silaža, pripravljena iz neovele travniške latovke, le pri dodatku 3 g kostanjevega izvlečka/kg silirnega materiala vsebovala manj NDV kot druge silaže v poskusu.

Nobeden od obeh uporabljenih taninskih izvlečkov ni vplival na vsebnost mlečne kisline v vzorcih silaž. Tudi koncentracija uporabljenega taninskega izvlečka ni vplivala na vsebnost mlečne kisline v vzorcih silaž. Tudi Cavallarin in sod. (2006) so ugotovili, da dodatek taninskih izvlečkov ni vplival na koncentracijo mlečne kisline, medtem ko sta Lavrenčič in Levart (2006) ugotovila, da kostanjev taninski izvleček dodan v koncentracijah 15 in 30 g/kg silirnega materiala zmanjšuje vsebnost mlečne kisline in s tem potrdila rezultate predhodnega poskusa (Lavrenčič in Levart, 2004), da povečevanje koncentracije kostanjevega taninskega izvlečka (3, 7, 11 in 15 g/kg silirne mase) travni silaži zmanjšuje vsebnost mlečne kisline. Nasprotno pa so Tabacco in sod. (2006) ugotovili, da je dodatek

kostanjevega taninskega izvlečka v koncentraciji 2 g/kg SS k ovenjeni lucernini silaži s 33 % SS povečal ($P < 0,05$) vsebnost mlečne kisline, medtem ko višje koncentracije (4 in 6 g/kg SS) niso imele vpliva. Salawu in sod. (1999) so ugotovili, da je koncentracija mlečne kisline v silaži, pripravljene iz neovele trpežne ljuke, na splošno nižja pri dodatku nižje koncentracije taninskih izvlečkov iz lesa (5 g/kg SS) mimoze, mirabolana in kebrača, kot v silažah, pripravljeneh brez dodatka taninskih izvlečkov in silažah, pripravljeneh z višjimi koncentracijami taninskih izvlečkov (50 g/kg SS).

Kung in Shaver (2001) navajata, da je v dobri silaži izmed vseh kislin največ mlečne kisline. Mlečne kisline mora biti v dobrih silažah najmanj 65 % od skupne količine kislin. Ta kislina je močnejša od ostalih kislin v silaži in zato je najbolj učinkovita pri zakisanju silaž. Fermentacija, v kateri nastaja mlečna kislina, poteče tudi ob najmanjših izgubah SS in energije. Najpogostejša razloga za majhno vsebnost mlečne kisline sta omejena fermentacija zaradi (pre)velike vsebnosti SS (več kot 50 %) in priprava silaž z veliko maslene kisline, kjer klostridiji nastalo mlečno kislino pretvorijo v masleno kislino (Kung in Shaver, 2001).

V našem poskusu smo ugotovili, da ne vrsta, kot tudi ne koncentracija taninskih izvlečkov, ne vplivajo na vsebnost očetne kisline v vzorcih silaž. Lavrenčič in Levart (2006 in 2004) sta prišla do enakih ugotovitev. Tudi Cavallarin in sod. (2006) so ugotovili, da taninski izvleček ni vplival na koncentracijo nobene od preučevanih kislin. Nasprotno pa so Tabacco in sod. (2006) ugotovili, da dodatek kostanjevega taninskega izvlečka v koncentraciji 2 g/kg SS k oveli lucernini silaži s 33 % SS povečuje ($P < 0,05$) vsebnosti očetne kisline. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Salawu in sod. (1999), ki so izmerili povečane vsebnosti očetne kisline ob dodatku taninskih izvlečkov iz lesa mimoze, mirabolana in kebrača k neoveli trpežni ljuke. Salawu in sod. (1999) so ugotovili tudi, da so manjše koncentracije taninskih izvlečkov (5 g/kg SS) imele večji vpliv kot večje koncentracije taninskih izvlečkov.

Posledica siliranja ekstremno mokrih silaž (pod 25 % SS), podaljšanega časa fermentacije (zaradi pufrske kapacitete) ali počasnega polnjenja silosa, so silaže z visoko koncentracijo očetne kisline (od 3 do 4 % SS). Pri takšnih silažah so izgube SS in energije večje kot pri idealno pripravljeneh silažah. Z novimi mikrobiološkimi dodatki (npr. *Lactobacillus*

buchneri) namerno povečujemo vsebnosti očetne kisline v silažah, saj tako izboljšamo aerobno stabilnost silaž. Zaradi očetne kisline, nastale v silažah z dodatkom teh preparatov, takšnih silaž ne smemo oceniti kot silaže, ki so slabo (napačno) fermentirale. Visoke koncentracije očetne kisline nimajo negativnih vplivov na zauživanje krme pri živalih (Kung in Shaver, 2001).

Siliranje neovele lucerne z dodatkom dveh taninskih izvlečkov (FAR in QUE) v različnih koncentracijah ni vplivalo na vsebnosti propionske kisline v vzorcih silaž. Cavallarin in sod. (2006) so ugotovili, da taninski izvleček ni vplival na koncentracijo propionske kisline. Do podobnih ugotovitev sta prišla tudi Lavrenčič in Levart (2004 in 2006). Tudi Salawu in sod. (1999) so ugotovili, da je vsebnost propionske kisline v silažah z dodatkom mimoza in kebračo taninskih izvlečkov zelo majhna. Kung in Shaver (2001) navajata, da večina silaž vsebuje zelo majhne koncentracije propionske kisline (od 0,2 pa do 0,3 % SS), kar pa ne drži, če je silaža zelo mokra (manj kot 25 % SS). Silaže, ki vsebujejo med 35 in 45 % SS, ne smejo vsebovati veliko propionske kisline.

Vsebnost maslene kisline je pokazatelj kvarjenja silaž zaradi delovanja klostridijev. Te silaže imajo ponavadi majhno hranilno vrednost in večjo vsebnost NDV, saj se je veliko topnih hranil razgradilo. Take silaže imajo poleg tega tudi visoko koncentracijo topnih beljakovin in lahko vsebujejo amine, ki negativno vplivajo na delovanje živali (Kung in Shaver, 2001). V naših vzorcih silaž maslene kisline nismo uspeli določiti, kar kaže, da smo bili pri siliranju in zapiranju »silosev« zelo pozorni. Cavallarin in sod. (2006) so ugotovili, da taninski izvleček ni vplival na koncentracijo maslene kisline. Do takšnih rezultatov so prišli tudi Tabacco in sod. (2006), medtem ko sta Lavrenčič in Levart (2004) ugotovila, da so vse silaže vsebovale majhne količine maslene kisline, na katere dodatek kostanjevega taninskega izvlečka ni imel vpliva. Salawu in sod. (1999) pa so v nasprotju z nami ugotovili, da dodajanje taninskih izvlečkov mimoze, mirabolana in kebrača k neoveli trpežni ljučki v dveh koncentracijah (5 in 50 g/kg SS) zmanjšuje vsebnosti maslene kisline, pri čemer so imele večje koncentracije največji vpliv. Tudi Lavrenčič in Levart (2006) ugotavljata, da se s povečevanjem koncentracije dodanega kostanjevega taninskega izvlečka (3, 15 in 30 g/kg silirnega materiala) k neoveli travniški latovki znižuje vsebnost maslene kisline.

V dostopni literaturi nismo zasledili podatkov o vplivu taninskih izvlečkov na vsebnost metanola v silažah. V naši študiji je samo dodatek taninskega izvlečka iz lesa kostanja vplival ($P < 0,05$) na zmanjšanje vsebnosti metanola, medtem ko koncentracija taninskega izvlečka na vsebnost metanola ni vplivala. Menimo, da je taninski izvleček iz lesa kostanja zmanjšal aktivnost kvasovk ter tako preprečil konverzijo mlečne kisline v metanol.

V študiji smo ugotovili tudi, da ne vrsta in ne koncentracija taninskih izvlečkov niso imeli vpliva na vsebnosti etanola v vzorcih silaž. Salawu in sod. (1999) so ugotavljali vpliv dodatka taninskih izvlečkov iz lesa mimoze, mirabolana in kebrača v dveh koncentracijah (5 in 50 g/kg SS) na vsebnost etanola v silaži neovele trpežne ljuke. Vsebnost etanola je bila višja ($P < 0,05$) pri silažah z dodatkom taninskih izvlečkov iz lesa mimoze od silaž z dodatkom taninskih izvlečkov kebrača, mirabolana in silaže brez dodatka taninskega izvlečka, pri čemer je bila vsebnost etanola višja ($P < 0,05$) pri najnižjih dodanih koncentracijah taninskih izvlečkov iz lesa kebrača in mirabolana. Avtorji menijo, da večja koncentracija taninskih izvlečkov zmanjšuje aktivnosti bakterij in plesni v silažah, ki pretvarjajo mlečno kislino v etanol. Kung in Shaver (2001) pravita, da je visoka koncentracija etanola indikator prekomernega delovanja kvasovk, zaradi česar so izgube SS med procesom siliranja večje. Takšne silaže so tudi nagnjene k hitrejšemu kvarjenju, če jih izpostavimo zraku. Običajna količina etanola v silažah je nizka, manj kot 1 % do največ 2 % SS.

Vsebnost amoniaka se ni razlikovala v vzorcih silaž, ki so bili pripravljene s kostanjevimi ali s kebračo taninskimi izvlečki. Se je pa vsebnost amoniaka zmanjševala ($P < 0,05$) skladno s povečevanjem koncentracije taninskih izvlečkov. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Tabacco in sod. (2006), Gou in sod. (2007), Salawu in sod. (1999), Cavallarin in sod. (2006) ter Lavrenčič in Levart (2006). Guo in sod. (2007) so ugotovili, da po 35 dneh siliranja vsebujejo silaže z dodatkom 20 oz. 50 g/kg SS taninske kisline manj NPN ($P < 0,05$) in več pravih beljakovin ($P < 0,05$), kot silaže, pripravljene brez taninske kisline. Avtorji menijo, da taninska kislina učinkovito zavira proteolizo, kar se je začelo že po prvem dnevu siliranja. To pomeni, da lahko s taninsko kislino učinkovito zaščitimo rastlinske beljakovine pred encimsko hidrolizo, kar je priporočljivo, če želimo hitro zmanjšati proteolizo med siliranjem. Tudi Salawu in sod. (1999) menijo, da je takšen vpliv

taninskih izvlečkov posledica zmanjšanja obsega hidrolize beljakovin zaradi vezave taninov na beljakovine. Kung in Shaver (2001) trdita, da je visoka koncentracija amoniaka (več kot 12 % SB) posledica prekomerne razgradnje beljakovin v silosu, ki je posledica počasnega zniževanja pH ali delovanja klostridijev. Na splošno imajo mokre silaže in silaže, katerih polnjenje silosov je potekalo počasi, višjo koncentracijo amoniaka.

Zaznali smo trend, da dodatek taninskega izvlečka iz lesa kostanja vpliva na znižanje pH. Tega nismo ugotovili pri dodajanju taninskega izvlečka iz lesa kebrača. Tudi Lavrenčič in Levart (2006) sta ugotovila, da kostanjev tanin ni imel posebnega vpliva na pH vrednost silaže iz neovele travniške latovke. Silaže, pripravljene iz detelj in lucerne, imajo višji pH kot koruzne ali travne silaže, proces zakisanja pa traja dlje zaradi visoke pufrske kapacitete. Razlog za pH silaž višji od 4,6 pa do 4,8 je lahko tudi, da siliramo material pri vsebnosti SS pod 30 %, kar omogoča nemoteno delovanje klostridijev, če pa siliramo pri vsebnosti SS nad 45 % in do 50 %, to omejuje fermentacijo (Kung in Shaver, 2001). V prvem primeru je visok pH zaradi delovanja klostridijev dober pokazatelj nezaželene fermentacije, kar vodi do slabe kakovosti silaže. V drugem primeru pa je visok pH posledica presuhega okolja, kar pa ni vedno pokazatelj neustrezne fermentacije ali nekakovostne silaže. Silaža z omejeno fermentacijo je ponavadi nestabilna, ko jo izpostavimo zraku zaradi nezadostne količine kisline, ki bi morala zavirati sekundarno mikrobnost, predvsem rast kvasovk. Kung in Shaver (2001) pravita, da so za visok pH silaž lahko krivi tudi drugi dejavniki, kot so zelo velika vsebnost pepela (nad 15 % SS), beljakovin (od 23 do 24 % SB), amoniaka, sečnine, silaže, kjer prevladujejo klostridiji, plesnive silaže in silaže, ki vsebujejo gnojila.

Različne vrste in koncentracije taninskih izvlečkov niso vplivale na IVNRSS in IVPRSS vzorcev silaž. Dschaak in sod. (2011) so ugotovili, da dodajanje kondenziranih taninov ne vpliva na prebavljivost SS, medtem ko so Tabacco in sod. (2006) ugotovili, da se s povečevanjem količine kostanjevega taninskega izvlečka (0, 2, 4 in 6 %SS) k oveli lucernini silaži zmanjšuje razgradljivost organske snovi v vampu. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Colombini in sod. (2009) ter Chiquette in sod. (1988). Barry in McNabb (1999) sta ugotovila, da se s povečevanjem koncentracije kondenziranih taninov v navadni nokoti (*Lotus corniculatus*) in močvirski nokoti (*Lotus pedunculatus*) zmanjšuje obseg

razgradnje beljakovin v vampu. Pri srednje veliki koncentraciji kondenziranih taninov v navadni nokoti (30 do 40 g kondenziranih taninov/kg SS) se je zviševala absorbcija aminokislin v črevesju in povečalo prirejo, ne da bi to vplivalo na količino zaužite krme pri ovcah. Visoka koncentracija kondenziranih taninov v močvirski nokoti (75 do 100 g kondenziranih taninov/kg SS) je zmanjšala količino zaužite krme, prebavljivost ogljikovih hidratov v vampu in prirejo pri ovcah. Barry in McNabb (1999) pojasnjujeta, da se prebavljivost ogljikovih hidratov v vampu zmanjšuje zaradi visoke vsebnosti prostih kondenziranih taninov, saj ti reagirajo z mikrobnimi encimi in jih onesposobijo, prosti tanini pa ne reagirajo z beljakovinami krme. Waghorn in sod. (1990) menijo, da se prebavljivost SS zmanjšuje, če krma vsebuje več kot 5 % kondenziranih taninov na kg SS.

Pri ocenjevanju silaž po AGFF ključu (Bewertung ..., 1984) so bile vse naše silaže ocenjene z 2,5 točkama in smo jih uvrstili med razreda z oceno energijske vrednosti 6,3 in 6,1 MJ/kg SS ter vsebnostjo SB med 211 g in 185 g/kg SS. Ocenjena vsebnost energije po AGFF ključu je verjetno previsoka. Pri kemijski analizi naših vzorcev silaž smo ugotovili vsebnosti SB med 190 in 206 g/kg SS in so primerljive z oceno. Verbič (2012) pravi, da lucerna ne dosega energijske vrednosti krme s travinja in koruzne silaže. Meni, da je za lucernino silažo vrednost 6 MJ težko dosegljiva. Ugotovil je, da ima lucernina silaža v Sloveniji v povprečju 4,97 MJ/kg SS ter, da lahko vsebujejo 220 g SB/kg SS in več.

Pri ocenjevanju silaž po ÖAG ključu (Buchgraber, 2001) so bile vse naše silaže ocenjene z vsemi možnimi točkami in so po točkovanju bile uvrščene med zelo dobre in dobre silaže. Različne vrste in koncentracije taninskih izvlečkov niso imele vpliva na oceno kakovosti silaž po AGFF (Bewertung ..., 1984) in ÖAG (Buchgraber, 2001) ključih.

Pri ocenjevanju silaž po Demarquillyu (1973) sta obe vrsti taninskih izvlečkov vplivali na oceno silaž, saj so se silaže razlikovale po vsebnosti amoniaka. Taninski izvleček iz lesa kostanja je izboljšal oceno po vsebnosti amoniaka od dobre na odlično, a to velja le za največjo koncentracijo taninskega izvlečka. Taninski izvleček iz lesa kebrača je izboljšal oceno po amoniaku od dobre na odlično pri vseh koncentracijah. Le najvišja dodana koncentracija obeh taninskih izvlečkov je izboljšala oceno silaž po vsebnosti očetne kisline od slabe na zelo dobro oceno pri dodatku taninskega izvlečka iz lesa kostanja ter od slabe na dobro oceno pri dodatku taninskega izvlečka iz lesa kebrača. Taninski izvleček ni imel

vpliva na oceno silaž po masleni in propionski kislini ter na stabilnost silaž. Vse silaže so bile pri ocenjevanju po vsebnosti maslene kisline odlične, saj maslene kisline v njih nismo uspeli določiti, po vsebnosti propionske kisline pa dobre. Vse silaže so bile ocenjene kot nestabilne, saj dodatek taninskih izvlečkov ni znižal pH vrednosti na zeleno raven.

Pri ocenjevanju silaž po novem DLG ključu (Weißbach in Honig, 1992) je dodatek taninskega izvlečka iz lesa kostanja v koncentraciji 5 in 25 g/kg izboljšal kakovost silaž od dobre na zelo dobro, medtem ko dodatek taninskega izvlečka iz lesa kebrača na kakovost silaž ni imel vpliva. Lavrenčič in Levart (2004) pa sta ugotovila, da taninski izvleček iz lesa kostanja ni vplival na izboljšanje kakovosti silaž po novem DLG ključu.

6 SKLEPI

Iz dobljenih rezultatov analiz vzorcev silaž lahko sklepamo, da:

- dodatek obeh vrst taninskih izvlečkov ne spreminja kemične sestave silaž ter, da so vse spremembe posledica dodanih taninskih izvlečkov,
- je dodatek izvlečka iz lesa kostanja zmanjšal ($P < 0,05$) vsebnosti metanola,
- noben od uporabljenih taninskih izvlečkov ni vplival na vsebnosti mlečne kisline, etanola, očetne, propionske in maslene kisline in amoniaka ter na IVNRSS in IVPRSS,
- je koncentracija taninskih izvlečkov statistično značilno ($P < 0,05$) vplivala na zmanjšanje vsebnosti amoniaka,
- koncentracija taninskih izvlečkov ni vplivala na IVNRSS in IVPRSS ter vsebnosti očetne, propionske, mlečne in maslene kisline v silažah,
- različne vrste in koncentracije taninskega izvlečka niso imele vpliva na oceno kakovosti silaž po AGFF in ÖAG ključih,
- sta pri ocenjevanju silaž po Demarquillyu oba taninska izvlečka zmanjšala vsebnosti amoniaka in očetne kisline ter s tem izboljšala oceno silaž, medtem ko so bile vse silaže ocenjene po vsebnost propionske kisline kot dobre. Vse silaže so bile ocenjene kot nestabilne, saj dodatek taninskih izvlečkov ni vplival na znižanje pH vrednosti,
- pri ocenjevanju silaž po novem DLG ključu sta dodatka taninskega izvlečka iz lesa kostanja v koncentracijah 5 in 25 g/kg izboljšala kakovost silaž od dobre na zelo dobro, medtem ko taninski izvleček iz lesa kebrača na kakovost silaž, ocenjenih po tem ključu ni imel vpliva.

7 POVZETEK

Lucerna je visokodonosna krmna stročnica z visoko vsebnostjo beljakovin. Te beljakovine se med skladiščenjem s siliranjem v silosih v procesu proteolize v veliki meri pretvorijo v nebeljakovinske oblike. Z različnimi silirnimi dodatki lahko te izgube zmanjšamo. Beljakovine krme, ki se pri prežvekovalcih prebavijo v vampu, so slabo izkoriščene. Če bi jih zaščitili pred prebavo v vampu, bi se v tankem črevesju prebavile z večjim izkoristkom, kar bi povečalo prirejo. V nalogi nas je zanimalo ali dodatki različnih vrst taninskih izvlečkov v različnih koncentracijah vplivajo na kakovost lucerninih silaž. Dobra lastnost taninov je, da oblikuje komplekse z beljakovinami krme, encimi in mikroorganizmi ter s tem vplivajo na razgradljivost in prebavljivost beljakovin. V nalogi smo uporabili kostanjev in kebračo taninski izvleček. Obe vrsti taninskih izvlečkov smo dodajali k silirni masi v koncentracijah 0 (kontrola), 5, 15, 25 g/kg sveže snovi. Po mesecu dni smo poskusne silose (2,5 l steklene kozarce) s silažo odprli. V vzorcih silaž smo določili vsebnosti kemičnih snovi (weendska analiza in v nevtralnem detergentu netopna vlaknina), produktov fermentacije (mlečna kislina, hlapne maščobne kisline, metanol in etanol) in *in vitro* navidezno in pravo razgradljivosti SS. Vzorce silaž smo prav tako ocenili z različnimi ključi za ocenjevanje kakovosti silaž. Dobljene podatke smo obdelali s statističnim programom SAS, da bi ugotovili, če imata vrsta taninskega izvlečka in koncentracija taninskega izvlečka statistično značilen vpliv na vsebnosti fermentacijskih produktov in na *in vitro* navidezno in pravo razgradljivosti vzorcev lucernine silaže.

Iz rezultatov poskusa sklepamo, da:

- pri silažah, ki smo jim dodali enake količine taninskih izvlečkov, ni velikih razlik v vsebnosti kemijskih snovi. Če je do razlik prišlo, so le te posledica samega dodatka taninskih izvlečkov,
- je samo kostanjev taninski izvleček vplival na zmanjšanje vsebnosti metanola,
- je koncentracija taninskih izvlečkov vplivala le na zmanjšanje vsebnosti amoniaka,
- različne vrste in koncentracije taninskih izvlečkov niso imele vpliva na oceno kakovosti silaž po AGFF in ÖAG ključih,
- sta pri ocenjevanju kakovosti silaž po Demarquillyu oba taninska izvlečka zaradi zmanjšanja vsebnosti amoniaka in očetne kisline izboljšala oceno kakovosti silaž,

- sta pri ocenjevanju silaž po novem DLG ključu dodatka FAR-5 in FAR-25 izboljšala kakovost silaž od dobre na zelo dobro, medtem ko taninski izvleček iz lesa kebrača na kakovost silaž ni imel vpliva.

8 VIRI

- Babnik D., Verbič J., Podgoršek P., Jeretina J., Perpar T., Logar B., Sadar M., Ivanovič B. 2004. Priročnik za vodenje prehrane krav molznic ob pomoči rezultatov mlečne kontrole. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 84 str.
- Barry T.N., McNabb W.C. 1999. The implications of condensed tannins on nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition*, 81: 263-272
- Bate-Smith E.C., Swain T. 1962. Flavonoid compounds. V: *Comparative biochemistry*. Florkin M., Mason H.S. (eds). New York, Academic Press: 3: 755-809
- Bewertung von Wiesenfutter. Nährstoffgehalt und Milchleistung. 1984. AGFF 3. FAP Zürich-Reckenholz, FAG Grangeneuve und RAC Changins. Zürich. Arbeitsgemeinschaft zur Förderung des Futterbaues, AGFF: 4 str.
- Buchgraber K. 2001. Methode zur Ermittlung der Futterwertzahl. Arbeitsgemeinschaft landwirtschaftlicher Versuchsanstalten. Jahrestagung 2001: 143-146
- Bunglavan S.J., Dutta N. 2013. Use of tannins as organic protectants of proteins in digestion of ruminants. *Journal of Livestock Science*, 4: 67-77
- Cavallarin L., Antoniazzi S., Borreani G., Tabacco E. 2006. Effect of inoculation and addition of chestnut tannin on the protein quality of lucerne silages. *Grassland Science in Europe*, 11: 303-305
- Chiquette J., Cheng, K.-J., Costerton J.W., Milligan L.P. 1988. Effects of tannins on the digestibility of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus L.*) using in vitro and in sacco techniques. *Canadian Journal of Animal Science*, 68, 3: 751-760
- Coblentz W.K., Grabbert J.H. 2013. In situ protein degradation of alfalfa and birdstool trefoil hays and silages as influenced by condensed tannin concentration. *Journal of Dairy Science*, 96, 5: 3120-3137

- Colombini S., Colombari G., Crovetto G.M., Galassi G., Rapetti L. 2009. Tannin treated lucerne silage in dairy cow feeding. *Italian Journal of Animal Science*, 8, 2: 289-291
- Demarquilly C. 1973. Principes de base de la ensilage. *Fourrages*, 56: 15-26
- Dschaak C.M., Williams C.M., Holt M.S., Eun J.S. Young A. J. Min B.R. 2011. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation and milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94: 2508-2519
- Frutos P., Hervás G., Giráldez F.J., Mantecón A.R. 2004. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2, 2: 191-202
- Goering H.K., Van Soest P.J. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, Agricultural Research Service: 20 str.
- Guo X., Zhou H., Yu Z., Zhang Y. 2007. Changes in the distribution of nitrogen and plant enzymatic activity during ensilage of lucerne treated with different additives. *Grass and Forage Science*, 62: 35-43
- Hagerman A.E., Butler L.G. 1991. Tannins and lignins. V: Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites. Vol. 1: The chemical participants. Rosenthal G.A. and Berenbaum M.R. (eds.). New York, Academic press: 355-388
- Hagerman A.E., Robbins C.T., Weerasuriya Y., Wilson T.C., McArthur C. 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45, 1: 57-62
- Hagerman A.E. 2002. *The Tannin Handbook*. Oxford, Miami University.
<http://www.users.miamioh.edu/hagermae/> (5. okt. 2013)
- Haslam E. 1966. *Chemistry of vegetable Tannins*. New York, Academic Press: 179 str.
- Holdeman L.V., Cato E.P., Moore W.E.C. 1977. *Anaerobe laboratory manual*. 4th ed. Blacksburg, Anaerobe Laboratory, Virginia Polytechnic Institute and State University: 152 str.

- Jin L., Wang Y., Iwaasa A.D., Xu Z., Schellenberg M.P., Zhang Y.G., McAllister T.A. 2013. Effect of condensed tannin on in vitro ruminal fermentation of purple prairie clover (*Dalea purpurea Vent*)–cool-season grass mixture. *Canadian Journal of Animal Science*, 93: 155-158
- Jones W.T., Mangan J.L. 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia scop*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 2: 126–136
- Klemenčič S. 2005. Povečuje se zanimanje za pridelovanje lucerne. *Naše travinje*, 1: 11-12
- Kung L. 2001. Silage fermentation and additives. *Science and Tehcnology in the Feed Industry*, 17: 145-159
- Kung L., Shaver R. 2001. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. *Focus on forage*, 3, 13: 1-5
- Kumar R., Singh M. Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32: 447-453
- Lampiere O., Mila I., Raminosa M., Michon V., Herve Du Penhoat C., Faucheur N., Laprevote O., Scalbert A. 1998. Polyphenols isolated from the bark of *Castanea sativa mill*. Chemical structures and auto-association. *Phytochemistry*, 49, 2: 623-631
- Lavrenčič A., Levart A. 2006. Effect of tannins on grass silage composition. *Krmiva*, 48, 2: 87-93
- Lavrenčič A., Levart A. 2004. Tanini kot silirni dodatki. V: Zbornik predavanj 13. Posvetovanje o prehrani domačih živalih » Zdravčevi-Erjavčevi dnevi«. Radenci, 4. in 5. nov. 2004. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod: 204-213
- Makkar H.P.S., Becker K. 1998. Adaptation of cattle to tannins: role of proline-rich proteins in oak-fed cattle. *Animal Science*, 67, 02: 277-281

- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., Morgan, C.A. 2002. *Animal Nutrition*. 6th ed. Harlow, New York, Prentice Hall: 694 str.
- McDonald P. 1981. *The biochemistry of silage*. New York, John Wiley & Sons: 226 str.
- McSweeney C.S., Palmer B., McNeill D.M., Krause D.O. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 83-93
- Mohorko M., Ambrožič I., Štrubelj E., Verbič J. 2009. Zakonodajne zahteve glede uporabe silirnih dodatkov na kmetijskem gospodarstvu. V: Zbornik predavanj 18. Mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živalih » Zadržavčevi-Erjavčevi dnevi«. Radenci, 5. in 6. nov. 2009. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije – Zavod MS: 148-161
- Mueller-Harvey I. 1999. Tannins: their nature and biological significance. V: *Secondary plant products: antinutritional and beneficial actions in animal feeding*. Caygill J. C., Mueller-Harvey I. (eds.). Nottingham, Nottingham University Press: 17-39
- Mueller-Harvey I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2010-2037
- Naumann H.D., Hagerman A.E., Lambert B.D., Muir J.P., Tedeschi L.O., Kothmann M.M. 2014. Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. *Journal of Plant Interactions*, 9, 1: 212-219
- Naumann, K., Bassler, R. 1976. *Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch. Bd. 3*. Neudamm, Verlag Neumann: 265 str.
- Official methods of analysis. 15th ed. 1990. Helrich K. (ed.). Arlington, Association of Official Analytical Chemists. 1: 853 str.
- Pasch H., Pizzi A. 2002. Considerations on the macromolecular structure of chestnut ellagitannins by matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Applied Polymer Science*, 85: 429-437

- Pierpoint W.S. 1983. Reactions of phenolic compounds with proteins and their relevance to the production of leaf protein. V: Leaf Protein Concentrates. Talek L., Graham H. D. (eds.). Westport, AVI Publishing Co.: 235-267
- Pizzi A. 2008. Tannins: major sources, properties and applications. V: Monomers, polymers and composites from renewable resources. Belgacem M. N., Gandini A. (eds.). Amsterdam, Boston, Elsevier Science: 179-199
- Robbins C.T., Hanley T.A., Hagerman A.E., Njeljord O. Baker D.L., Schartz C.C., Mautz W.W. 1987. Role of tannins in defending plants against ruminants: reduction in protein availability. *Ecology*, 68: 98-107
- Rooke J.A., Armstrong D.G. 1989. The importance of the form of nitrogen on microbial protein synthesis in the rumen of cattle receiving grass silage and intrarumen infusions of sucrose. *British Journal of Nutrition*, 61: 113-121
- Salawu M.B., Acamovic T., Stewart C.S., Hvelplund T., Weisbjerg M.R. 1999. The use of tannins as silage additives: effects on silage composition and mobile bag disappearance of dry matter and protein. *Animal feed Science and Technology*, 82: 243-259
- Serrano J., Puupponen-Pimiä R., Dauer A., Aura A.M., Saura-Calixto FAR. 2009. Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53, Supplement 2: S310-S329
- SIL-ALL. Technical handbook-silage inoculants and silaging: 40 str.
<http://www.sil-all.com/uploads/FINAL%20Sil-All%20Tech%20Handbook.pdf> (maj 2014)
- Stekar J. 1999. Siliranje. Ljubljana, Kmečki glas: 150 str.
- Tabacco E., Borreani G., Crovetto G.M., Colombo D., Cavallarin L. 2006. Effect of chestnut tannin on fermentation quality, proteolysis and protein rumen degradability of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 89, 12: 4736-4746

Tanin Sevnica. 2014. Naravni ekstrakt kostanja: Farmatan.

http://www.tanin.si/podstrani_slo/prehrana_zivali/farmatan.php (1. avg. 2014)

Van Soest P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Ithaca, London, Cornell University Press: 476 str.

Venter P.B., Sisa M., van der Merwe M.J., Bonnet S.L., van der Westhuizen J.H. 2012. Analysis of commercial proanthocyanidins. Part 1: The chemical composition of quebracho (*Schinopsis lorentzii* and *Schinopsis balansae*) heartwood extract. *Phytochemistry*, 73: 95-105

Verbič J., Babnik D., Jeretina J. 2007. Vpliv voluminozne krme na prirejo in sestavo mleka. *Kmečki glas*, 64, 35: 8

Verbič J. 2012. Lucerna v prehrani krav molznic. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 4 str.

http://www.govedo.si/files/jozev/lucerna_v_prehrani_krav_molznic.pdf

(13. avg. 2014)

Waghorn G.C., Jones W.T., Shelton I.D., McNabb W.C. 1990. Condensed tannins and the nutritive value of herbage. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 51: 171-176

Weißach F., Honig H. 1992. Ein neuer Schlüssel zur Beurteilung der Gärqualität von Silagen auf der Basis der chemischen Analyse. V: *Ökologische Aspekte extensiver Landbewirtschaftung. Vorträge zum Generalthema des 104. VDLUFA- Kongresses. Göttingen, 14-19 Sep. 1992. Darmstadt, VDLUFA: 489-494*

Xiaohong Z., Huapeng C. 1998. Chemistry and ecological significance of tannins. *Journal of Forestry Research*, 9, 4: 280-282

ZAHVALA

Rad bi se zahvalil mentorju prof. dr. Andreju Lavrenčiču za izvedbo poskusa in pomoč pri pisanju magistrskega dela. Zahvaljujem se tudi zaposlenim v laboratoriju Katedre za prehrano, Mojci Koman Rajšp, Marku Kodri in Anici Mušič za pomoč pri izvedbi poskusa.

Zahvaljujem se recenzentki doc. dr. Vidi Rezar za strokoven pregled magistrskega dela.

Zahvaljujem se predsedniku komisije doc. dr. Silvestru Žgur za pregled magistrskega dela.

Zahvaljujem se Jerneji Bogataj za tehnični pregled magistrskega dela.

Zahvaljujem se Janji Turk in Silvi Mizerit za pregledovanje teksta med pisanjem magistrskega dela.

Zahvalil bi se zaposlenim knjižnice Oddelka za zootehniko za pomoč in nasvete.

Zahvaljujem se domačim za podporo in potrpežljivost v času mojega študija.

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Marko KOKALJ

**KAKOVOST LUCERNINIH SILAŽ PRIPRAVLJENIH Z
DODATKOM RAZLIČNIH VRST TANINSKIH
IZVLEČKOV**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja

Ljubljana, 2015