

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Bogdan A. Cekić

**EFEKTI DODAVANJA TANINA NA HRANLJIVU  
VREDNOST OBROKA I PROIZVODNE  
REZULTATE JAGNJADI U TOVU**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Bogdan A. Cekić

**EFFECT OF SUPPLEMENTING TANNINS ON  
NUTRITIONAL VALUE OF RATION AND  
PRODUCTIVE RESULTS OF FINISHING LAMBS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023.

## **KOMISIJA ZA ODBRANU DOKTORSKE DISERTACIJE**

### **MENTOR:**

dr Aleksa Božičković, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

### **ČLANOVI KOMISIJE:**

1) dr Goran Grubić, redovni profesor u penziji  
Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

2) dr Dragana Ružić-Muslić, naučni savetnik  
Institut za stočarstvo, Beograd-Zemun

3) dr Vuk Maksimović, naučni savetnik  
Institut za multidisciplinarna istraživanja, Beograd

4) dr Jordan Marković, viši naučni saradnik  
Institut za krmno bilje, Kruševac

5) dr Nemanja Stanisavljević, viši naučni saradnik  
Univerzitet u Beogradu - Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo

Datum odbrane disertacije:

## IZJAVA ZAHVALNOSTI

*Zahvaljujem se mentoru prof. dr Aleksi Božičkoviću na razumevanju, savetima, pomoći, strpljenju, usmeravanju i uloženom trudu.*

*Zahvaljujem se komentoru dr Neveni Maksimović, čije su sugestije bile od velike pomoći.*

*Veliku zahvalnost dugujem dr Dragani Ružić-Muslić na profesionalnoj pomoći, podršci, korisnim savetima i „podgrevanju entuzijazma“ prilikom izrade disertacije.*

*Zahvalnost dugujem prof. dr Goranu Grubiću, dr Jordanu Markoviću, dr Vuku Maksimoviću i dr Nemanji Stanisavljeviću na profesionalnoj pomoći, zalaganju, uloženom vremenu i trudu.*

*Veliku zahvalnost dugujem Institutu za stočarstvo na ukazanom poverenju, finansijskoj podršci i logistici, kao i svim kolegama koji su učestvovali u procesima izrade disertacije. Vašim nesebičnim trudom, zalaganjem i podrškom ste omogućili realizaciju ove disertacije.*

*Divnom čoveku, mom svetioniku, mr Slavku Josipoviću, zahvaljujem se na velikoj, iskrenoj i prijateljskoj pomoći koju mi je pružio tokom sprovođenja oglada i analiza.*

*Mojoj porodici, ocu Aleksandru, majci Snežani i sestri Jeleni se od srca zahvaljujem na pruženoj ljubavi, požrtvovanju, moralnoj i finansijskoj pomoći tokom studija. Hvala vam što me podržavate i volite. Ova disertacija je vama posvećena.*

AUTOR

# EFEKTI DODAVANJA TANINA NA HRANLJIVU VREDNOST OBROKA I PROIZVODNE REZULTATE JAGNJADI U TOVU

## SAŽETAK

Tanini su, kao velika grupa heterogenih jedinjenja različitog biološkog porekla, široko rasprostranjeni u biljnom svetu. Zbog svoje heterogenosti, tanini ispoljavaju različite efekte u ishrani preživara. Cilj ove doktorske disertacije je bio ispitivanje upotrebe preparata kestenovih tanina u obroku tovne jagnjadi, kako bi se ispitaio njihov uticaj na fiziološke i proizvodne pokazatelje.

Ispitivanja su obavljena kroz dva, metodološki različita ogleda. U oba ogleda je uključeno po 30 jagnjadi MIS rase, neposredno nakon završenog perioda odbijanja od majki. Prosečna telesna masa jagnjadi u ogledu 1 je iznosila 20,55 kg, dok je u ogledu 2 iznosila 20,50 kg. U ogledu 1 je korišćen standardni farmski obrok za ishranu odlučene jagnjadi, dok su u ogledu 2 formulisani obroci tako da zadovolje potrebe u metaboličkom proteinu (MP) za prirast od 250 g/dan, dok je neto energije za porast (NE<sub>meat</sub>) bilo više za oko 14%, što odgovara prirastu od oko 275 g/dan. Na taj način, su u ogledu 2 korišćena tri obroka uz pretpostavku da će uticaj tanina dovesti do zadovoljenja potreba za prirast veći od 250 g/dan.

Kao izvor tanina korišćen je preparat kestenovih tanina, komercijalnog naziva Farmatan<sup>®</sup>. U ogledu 1 formirane su tri grupe, sa po 10 jagnjadi, na osnovu sadržaja Farmatan<sup>®</sup>-a u suvoj materiji (SM) obroka: K (kontrola, bez dodatih tanina); T1 (9,46 g preparata/kg SM obroka) i T2 (18,87 g preparata/kg SM obroka). U ogledu 2, na osnovu sadržaja preparata u obroku, formirane su sledeće grupe: KON (kontrola, bez dodatih tanina); 10T (20,17 g preparata/kg SM obroka) i 20T (40,33 g preparata/ kg SM obroka). Oba ogleda su postavljena kao jednofaktorski ogledi sa po tri tretmana, gde su analizom varijanse testirane razlike između njih, a značajnost razlika između srednjih vrednosti određene na osnovu testa najmanjih razlika (LSD test). Oba ogleda su trajala 60 dana (ne računajući adaptacioni period), tokom kojih je dnevno praćeno konzumiranje SM. Na svakih 15 (u ogledu 1), odnosno 10 dana (u ogledu 2) praćene su promene u telesnoj masi jagnjadi, kako bi se odredili dnevni i ukupni prirasti, kao i parametri iskoristivosti hrane (konverzija, Klajberov odnos - KR, kao i efikasnost proteina - EP i efikasnost energije - EEN). Kako bi se utvrdilo da li taninini mogu uticati na promene vrednosti biohemijskih parametara krvi, u ogledu 1 jagnjadima je uzorkovana krv prvog i poslednjeg dana ogleda, nakon čega su odrađene analize. Određivanje prividne svarljivosti u oba ogleda je utvrđena indirektnom metodom korišćenjem pepela nerastvorljivog u hlorovodoničnoj kiselini kao indikatora, kroz tri kolekciona perioda u oba ogleda. U ogledu 1 kolekcioni periodi su trajali 5 dana, i to od 15. do 19. dana (I period); od 30. do 34. dana (II period) i od 45. do 49. dana ogleda (III period). U ogledu 2, kolekcioni periodi su trajali 6 dana, a obavljani su u periodu od 14. do 19. dana (I period), od 29. do 34. dana (II period) i od 44. do 49. dana (III period). Prividna svarljivost je određena za sledeće parametre: SM, organska materija (OM), SP, sirove masti (SMa), sirova celuloza (SC), deterdžentska vlakna (nerastvorljiva u neutralnom - NDF, odnosno kiselom deterdžentu - ADF), bezazotne ekstraktivne materije (BEM) i nestrukturni ugljeni hidrati (NFC). Po završetku hranidbenog dela ogleda, sva jagnjad su žrtvovana kako bi se ispitale klanične osobine, hemijski i masnokiselinski sastav mesa. Kao dodatni efekat, izvršena je i analiza ekonomske održivosti korišćenja preparata kestenovih tanina u obroku u oba ogleda. Ova analiza je obuhvatila troškove ishrane na osnovu dana (TH<sub>d</sub>), troškove ishrane na osnovu prirasta (TH<sub>p</sub>), neto profit (NP) i ekonomsku isplativost (EKI) korišćenja ovog izvora tanina.

Konzumiranje SM u ogledu 1 je bilo identično kod K i T2 (1,20 kg SM/dan) i veće od T1 (1,13 kg SM/dan), što se pre svega objašnjava slabijim konzumiranjem kabaste komponente obroka (sena) kod ove grupe. Postavka i sprovođenje ogleda 2 je omogućilo konzumiranje slične količine SM kod sve

tri grupe, te je prosečno iznosilo 0,97 kg SM, 0,99 kg SM i 1,00 kg SM dnevno za KON, 10T i 20T, redom. Iako se usled adstringentnog ukusa tanina moglo očekivati da će doći do smanjenog konzumiranja, u ispitivanim količinama, kestenovi tanini nisu uticali na ovu pojavu. Razlike u konzumiranju se objašnjavaju kumulativnim efektom promenljivih parametara mikroklimе, povremenom izlaganju blagom uznemiravanju, a u ogledu 2 i promenama obroka i hijerarhijskim odnosima u grupi. Iako je poređenje ova dva ogleda moguće sprovesti samo do određene mere, primećuje se da je u ogledu 1 konzumiranje bilo veće u toku celog perioda trajanja ogleda. Takođe, u ogledu 1 je konzumiranje bilo veće nego što korišćeni holandski normativi (CVB, 2018) preporučuju, i gotovo bez ograničenja, dok je u ogledu 2 količina date hrane određivana svakodnevno, na osnovu grupe koja je najslabije konzumirala prethodnog dana.

Na bolju iskoristivost hrane ukazuju veći prirasti pri istom nivou konzumiranja, čime se sugeriše povoljan uticaj kestenovih tanina. Posledično, najbolje konverzije SM, zatim najveće vrednosti KR, EP i EEN u ogledu 1 su ostvarila grla iz grupe T2 (4,46 kg SM/kg prirasta, 0,0181, 1,03 i 27,95), dok su najnepovoljniji parametri bili kod K (5,28, 0,0159, 0,83 i 23,26, redom). U ogledu 2, parametri su podeljeni po polovima, te su konverzije kod muških grla povoljnije kod taninskih (4,50 i 4,33 kg SM/kg prirasta redom za 10T i 20T) nego kod kontrolne (5,05 kg SM/kg prirasta). Uz ovo, kod muških životinja, taninske grupe (10T i 20T, redom) imaju veću vrednost KR (0,0155 i 0,0157), EP (1,47 i 1,60) i EEN (33,15 i 34,79) nego kod kontrolne grupe, kod koje su KR, EP i EEN redom iznosile 0,0137; 1,19 i 26,58). Sličan trend je primećen i kod ženskih grla, te je najbolja konverzija utvrđena kod 10T grupe (4,53), a najlošija kod KON (5,55).

Dalje, u ogledu 1, najveće prosečne dnevne i ukupne priraste su ostvarila grla iz T2 grupe (270,37 g/dan i 16,22 kg), najmanje grla iz K (222,92 g/dan i 13,37 kg) uz primetnu značajnost razlika ( $p < 0,05$ ). Grla iz T1 su ostvarila priraste od 259,26 g/dan, odnosno 15,55 kg, ali poređenjem sa ostale dve grupe značajnost nije utvrđena ( $p > 0,05$ ). Slično, u ogledu 2, najveće prosečne dnevne i životne priraste su ostvarila grla iz 20T grupe (230,00 g/dan i 13,80 kg za muška, odnosno 220,00 g/dan i 13,20 kg za ženska grla), koji su značajno veći ( $p < 0,05$ ) od prirasta postignutih kod KON (191,67 g/dan i 11,50 kg za muška, odnosno 174,17 g/dan i 10,45 kg za ženska grla), dok se ostvareni rezultati kod 10T nisu značajno razlikovali od prethodno dve navedene grupe. Na osnovu rezultata o prirastima za ceo period ogleda, u oba sprovedena ogleda, može se tvrditi da kestenovi tanini u obroku utiču na povećane priraste kod jagnjadi u tovu. Ukoliko se posmatra ceo period ogleda 2 (od 1. do 60. dana), eksperimentalne grupe su ostvarile veće priraste od jagnjadi iz grupa koje nisu dobijale tanine, što može ukazivati na to da kestenovi tanini utiču na poboljšano korišćenje proteina.

Prividna svarljivost SM i OM u ogledu 2 je u prvom kolekcionom periodu (od 14. do 19. dana ogleda) bila, iako slična, nešto veća kod KON (84,02% i 85,23%) nego kod 10T (83,87% i 85,41%) i 20T (80,69% i 82,09%). Svarljivost SP je pratila sličan trend (78,44%, 78,42% i 69,04% za KON, 10T i 20T, redom), dok je svarljivost SMA rasla sa porastom tanina u obroku (83,53%, 89,15% i 90,44%). Trendovi vezani za svarljivost SMA se nastavljaju i u naredne dve kolekcije, što može značiti da su kestenovi tanini uticali na bolje iskorićavanje masti usled promena u procesima buražne fermentacije. Zaključke vezane za svarljivost SP nije jednostavno doneti zbog eventualnog uticaja tanina na povećanje dotoka SP u tanka creva. Drugim rečima, usled povećanog dotoka SP dolazi i do povećanja njegovog sadržaja u fecesu, što nužno ne znači njegovu lošiju iskoristivost. U prilog ovome govori i činjenica da su jagnjadi iz taninskih grupa ostvarila veće priraste od onih iz kontrolne.

Ispitivanjem osnovnih parametara krvi u ogledu 1, nisu utvrđeni negativni uticaji kestenovih tanina na jagnjad u tovu.

Iako se u literaturnim navodima uviđa da tanini mogu imati različit uticaj na hemijski sastav i masnokiselinski profil mesa, ovi efekti nisu utvrđeni u okviru disertacije, budući da u oba ogleda nisu utvrđene statističke značajnosti razlika ovih parametara među grupama.

Analiza ekonomske održivosti je pokazala da je vrednost EKI u oba ogleđa opadala sa dodavanjem kestenovih tanina u obroke, te je prosečna vrednost ovog parametra iznosila 1,47, 1,29 i 0,98 u ogleđu 1 za K, T1 i T2, redom.

U zavisnosti od obroka i pola, vrednost EKI se kretala kod KON 1,30-2,50, kod 10T 0,74-1,56, i kod 20T 0,54-1,06. Ovo ukazuje da kestenovi tanini utiču na smanjenje ekonomske efikasnosti u proizvodnji jagnjadi za tov. Ipak, pored cene preparata, na ovaj parametar utiče i paritet cena, koji je trenutno nepovoljan uz skupa hraniva i nisku cenu žive mere. Kestenovi tanini su uticali na poboljšanje konverzije i veće priraste jagnjadi, što ukazuje na bolju iskoristivost hrane, što je svakako prednost, naročito u velikim farmskim sistemima. Uz činjenicu da troškovi ishrane u stočarstvu čine najveći deo ukupnih troškova proizvodnje, u velikim sistemima, svaki dan skraćanja tova, kao i svaki kilogram obroka uštede predstavlja veliku stavku u postizanju ekonomski efikasne proizvodnje, te kestenovi tanini predstavljaju potencijalno korisni dodatak u proizvodnji jagnječeg mesa. Drugim rečima, upotrebu kestenovih tanina u tovu jagnjadi je moguće opravdati u uslovima jeftinije proizvodnje hrane i povećanja tržišne cene žive mere jagnjadi.

Prikazani rezultati ukazuju da korišćenjem kestenovih tanina kao aditiva u obrocima jagnjadi u tovu može doći do poboljšanja produktivnih parametara životinja, bez štetnih uticaja. U ispitivanim količinama, kestenovi tanini nisu uticali na pojavu smanjenog konzumiranja hrane, koja se eventualno mogla očekivati usled njihovog adstringentnog ukusa. Takođe, njihovom ingestijom tanini nisu ispoljili štetne uticaje na organizam životinja. Korišćenjem kestenovih tanina došlo je do poboljšanja iskoristivosti hrane, što je rezultiralo većim prirastima i nižim konverzijama u poređenju sa grupama koje nisu konzumirale dodate tanine, što je pre svega posledica boljeg korišćenja proteina. Analizom ekonomske održivosti je utvrđeno da, uz trenutni paritet cena, dodavanje kestenovih tanina u obrok može dovesti do finansijskog opterećenja proizvodnje, te ovo inicijalno deluje kao skupa opcija. Ali, ukoliko bi se postigla jeftinija proizvodnja hrane, uz povećanje tržišne cene jagnjadi, njihova upotreba se može opravdati. Smanjenje troškova proizvodnje se pre svega može ostvariti na velikim farmama, te se potencijal upotrebe kestenovih tanina pre svega u takvim sistemima može iskoristiti.

**Ključne reči:** kestenovi tanini, konzumiranje, svarljivost, konverzija, prirasti, ekonomska isplativost, preživari

**Naučna oblast:** Zootehnika

**Uža naučna oblast:** Ishrana domaćih i gajenih životinja

**UDK broj:** 636.3.084.1:636.087.3(043.3)

# EFFECT OF SUPPLEMENTING TANNINS ON NUTRITIONAL VALUE OF RATION AND PRODUCTIVE RESULTS OF FINISHING LAMBS

## ABSTRACT

Tannins, as a large group of heterogeneous compounds of different biological origins, are widely distributed in the plant world. Due to their heterogeneity, tannins exhibit various effects in the ruminant nutrition. The aim of this doctoral dissertation was to investigate the use of chestnut tannin product in the diet of fattening lambs to examine its impact on physiological and production indicators.

The research was conducted through two methodologically different experiments. Both experiments included 30 lambs of the MIS breed, immediately after weaning from their mothers. The average body weight of lambs in experiment 1 was 20.55 kg, while in experiment 2, it was 20.50 kg. In experiment 1, a standard farm diet was used for the feeding of the selected lambs, while in experiment 2, diets were formulated to meet the metabolic protein (MP) requirements for a gain of 250 g/day, with net energy for gain (NE<sub>meat</sub>) being about 14% higher, equivalent to a gain of about 275 g/day. Thus, in experiment 2, three diets were used assuming that the influence of tannins would lead to meeting gain requirements greater than 250 g/day.

Chestnut tannin product, commercially known as Farmatan®, was used as the source of tannins. In experiment 1, three groups were formed, each consisting of 10 lambs, based on the Farmatan® content in the dry matter (SM) of the diet: K (control, no added tannins); T1 (9.46 g of product/kg of SM diet) and T2 (18.87 g of product/kg of DM diet). In experiment 2, groups were formed based on the following content of the product in the diet: KON (control, no added tannins); 10T (20.17 g of product/kg of SM diet) and 20T (40.33 g of product/kg of SM diet). Both experiments were set up as single-factor designs with three treatments, and differences between them were tested by analysis of variance, with the significance of differences between means determined by the least significant difference (LSD) test. Both experiments lasted for 60 days (excluding the adaptation period), during which daily SM intake was monitored. Changes in lamb body weight were recorded every 15 days (experiment 1) or 10 days (experiment 2) to determine daily and total gains, as well as feed utilization parameters (conversion, Kleiber ratio - KR, protein efficiency - EP, and energy efficiency - EEN).

To investigate whether tannins could influence changes in blood biochemical parameters, blood samples were collected from the lambs in experiment 1 on the first and last days of the experiment, followed by analysis. Apparent digestibility in both experiments was determined using an indirect method with ash insoluble in hydrochloric acid as an indicator during three collection periods in both experiments. In experiment 1, collection periods lasted for 5 days: from day 15 to 19 (Period I), day 30 to 34 (Period II), and day 45 to 49 (Period III). In experiment 2, collection periods lasted for 6 days, and they were conducted from day 14 to 19 (Period I), day 29 to 34 (Period II), and day 44 to 49 (Period III). Apparent digestibility was determined for the following parameters: SM, organic matter (OM), CP, crude fat (SMa), crude fiber (SC), detergent fiber (neutral detergent fiber - NDF and acid detergent fiber - ADF), non-nitrogenous extractives (BEM) and non-fiber carbohydrates (NFC). At the end of the experiments, all lambs were slaughtered to examine the slaughter traits, chemical composition, and fatty acid profile of the meat.

As an additional effect, an analysis of the economic sustainability of using chestnut tannins in the diet in both experiments was conducted. This analysis included feed costs per day (THd), feed costs per gain (THp), net profit (NP), and economic efficiency (EKI) based on the use of this tannin source.

In experiment 1, intake of SM was identical in K and T2 (1.20 kg SM/day) and higher than in T1 (1.13 kg SM/day), primarily explained by lower intake of roughage in this group (hay). The setup and execution of experiment 2 allowed for similar SM intake in all three groups, averaging 0.97 kg



DM, 0.99 kg DM, and 1.00 kg DM per day for KON, 10T, and 20T, respectively. Although it could have been expected that the astringent taste of tannins would lead to reduced intake, in the tested amounts, chestnut tannins did not affect this phenomenon. Differences in consumption are explained by the cumulative effect of variable microclimate parameters, occasional exposure to mild stress, and in experiment 2, changes in the diet and hierarchical relationships within the group. While the comparison of these two experiments can only be made to a limited extent, it is noticeable that consumption was higher throughout the duration of experiment 1. In addition, in experiment 1, consumption was higher than the Dutch standards (CVB, 2018) recommended, and almost without limitations, while in experiment 2, the amount of feed given was determined daily based on the group that consumed the least the previous day.

Better feed efficiency is indicated by higher gains at the same level of consumption, suggesting a favorable effect of chestnut tannins. Consequently, the best SM conversion, followed by the highest KR, EP, and EEN values in experiment 1 were achieved by the T2 group (4.46 kg SM/kg gain, 0.0181, 1.03, and 27.95, respectively), while the least favorable parameters were observed in the K group (5.28, 0.0159, 0.83, and 23.26, respectively). In experiment 2, parameters were divided by gender, and feed efficiency was more favorable in male lambs in the tannin groups (10T and 20T, respectively) compared to the control (KON), with SM conversions of 4.50 and 4.33 kg DM/kg gain for 10T and 20T, respectively, while control had 5.05 kg SM/kg gain. Furthermore, in male animals, the tannin groups (10T and 20T) had higher KR values (0.0155 and 0.0157), EP values (1.47 and 1.60), and EEN values (33.15 and 34.79) than the control group, which had KR, EP, and EEN values of 0.0137, 1.19, and 26.58, respectively. A similar trend was observed in female lambs, with the best conversion in the 10T group (4.53) and the worst in the KON group (5.55).

In experiment 1, the highest average daily and total gains were achieved by the T2 group (270.37 g/day and 16.23 kg), and the lowest by the K group (222.92 g/day and 13.37 kg), with significant differences ( $p < 0.05$ ). The T1 group achieved gains of 259.26 g/day and 15.55 kg, but there were no significant differences compared to the other two groups ( $p > 0.05$ ). Similarly, in experiment 2, the highest average daily and lifetime gains were achieved by the 20T group (230.00 g/day and 13.80 kg for males, 220.00 g/day and 13.20 kg for females), which were significantly higher ( $p < 0.05$ ) than the gains achieved by KON (191.67 g/day and 11.50 kg for males, 174.17 g/day and 10.45 kg for females), while the results for 10T were not significantly different from the other two groups. Based on the gain results for the entire experimental period, in both experiments, it can be stated that chestnut tannins in the diet have a positive effect on lamb growth during fattening. If the entire experimental period of experiment 2 (from day 1 to day 60) is considered, the experimental groups achieved higher gains compared to the groups that did not receive tannins, indicating that chestnut tannins improve protein utilization.

In experiment 2, apparent digestibility of SM and OM in the first collection period (from day 14 to 19) was slightly higher in KON (84.02% and 85.23%) compared to 10T (83.87% and 85.41%) and 20T (80.69% and 82.09%). CP digestibility followed a similar trend (78.44%, 78.42%, and 69.04% for KON, 10T, and 20T, respectively), while CF digestibility increased with the addition of tannins in the diet (83.53%, 89.15%, and 90.44%). Trends related to CF digestibility continued in the next two collection periods, indicating that chestnut tannins influenced better fat utilization due to changes in ruminal fermentation processes. Conclusions regarding CP digestibility are not straightforward due to the potential effect of tannins on increased flow of CP into the small intestine. In other words, increased CP flow also leads to an increase in its content in feces, which does not necessarily imply poorer utilization. This is supported by the fact that lambs in the tannin groups achieved higher gains than those in the control group.

In experiment 1, an examination of basic blood parameters did not reveal any negative effects of chestnut tannins on fattening lambs.

Although literature indicates that tannins can have different effects on the chemical composition and fatty acid profile of meat, these effects were not observed in this dissertation, as there were no statistically significant differences in these parameters among the groups in both experiments.

The economic analysis showed that the economic efficiency index (EKI) in both experiments decreased with the addition of chestnut tannins to the diets, with average values of this parameter being 1.47, 1.29, and 0.98 in experiment 1 for K, T1, and T2, respectively. Depending on the diet and gender, EKI values ranged from 1.30 to 2.50 for KON, 0.74 to 1.56 for 10T, and 0.54 to 1.06 for 20T. This indicates that chestnut tannins reduce economic efficiency in lamb production. However, besides the cost of the used tannin product, this parameter depends on the parity of prices, which is currently unfavorable due to expensive feed and low live lamb prices. Chestnut tannins improved feed conversion and increased lamb gains, indicating better feed utilization, which is an advantage, especially in large farm systems. Considering that feed costs in livestock production constitute the largest part of total production costs, in large systems, each day of shortened fattening and every kilogram of saved feed represent significant cost savings, making chestnut tannins a potentially valuable addition to lamb production. In other words, the use of chestnut tannins in lamb fattening can be justified under conditions of cheaper feed production and higher market prices for live lambs. Cost reduction can primarily be achieved in large farms, so the potential use of chestnut tannins is particularly relevant in such systems.

The presented results indicate that the use of chestnut tannins as additives in lamb diets can lead to improved production parameters without harmful effects. In the tested quantities, chestnut tannins did not affect reduced food consumption, which could have been expected due to their astringent taste. Additionally, their ingestion did not show harmful effects on the animals. The use of chestnut tannins improved feed utilization, resulting in higher gains and lower conversions compared to groups that did not consume tannins, primarily due to better protein utilization. The economic analysis found that, with the current price parity, adding chestnut tannins to the diet can lead to a financial burden in production, making it initially seem like an expensive option. However, if cheaper feed production and higher market prices for live lambs are achieved, their use can be justified. Reduction in production costs can be primarily realized in large farms, so the potential use of chestnut tannins is most suitable for such systems.

**Keywords:** chestnut tannins, intake, digestibility, feed conversion, weight gains, economic efficiency, ruminants

**Scientific field:** Zootechniques

**Scientific subfield:** Nutrition of domestic and reared animals

**UDC number:** 636.3.084.1:636.087.3(043.3)

# SPISAK SKRAĆENICA KORIŠĆENIH U TEKSTU

AAC – atomska apsorpcija  
ADF – vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu  
ADICP – proteini vezani za ADF  
AK – aminokiseline  
ALA –  $\alpha$ -linolenska kiselina  
ALP – alkalna fosfataza  
ALT – alanin transferaza  
ANS – antocijan sintetaza  
AST – aspartat aminotransferaza  
BEM – bezazotne ekstraktivne materije  
BHBA –  $\beta$ -hidroksibuterna kiselina  
BSA – albumin iz seruma goveda  
Ca – kalcijum  
CAE - ekvivalent katehina  
CAT – katalaza  
CHI – colkon izomeraza  
CHO-POD – metoda tečnog holesterola  
CHS – colkon sintetaza  
CK – kreatin kinaza  
CLA – konjugovana linolna kiselina  
CT – kondenzovani tanini  
CV – koeficijent varijacije  
CŽM – cena žive mere jagnjadi  
DFR – dihidroflavanol reduktaza  
DHA – dokozaheksaenska kiselina  
DPD – diazonijum jon metoda  
EEN – efikasnost energije  
EKI – ekonomska isplativost ishrane  
EP – efikasnost proteina  
EPA– eikozapentaenoična kiselina  
ESI – elektron-sprej jonizacija  
FA – fenolni aldehid  
FG – fenolni glukozid  
FK – fenolna kiselina  
FL – flavonoid  
F3'H – flavanol-3'-hidroksilaza  
F3H – flavanol-3-hidroksilaza  
FGT – flavanol-UDP-glukozil-transferaza  
GAE – ekvivalent galne kiseline  
GGT – gama-glutamil transferaza  
GH – hormon rasta  
GLDH – ureaza/glutamat dehidrogenaza  
GOT – glutamat-oksalacetat transaminaza  
GPT – glutamat-piruvat transaminaza

GSH – glutation sintetaza  
GST – glutation-S-transferaza  
HK G6P-DH – heksokinaza-glukoza-6-fosfat dehidrogenaza  
HPLC-MS – reverzno-fazna tečna hromatografija visokih performansi sa masenom spektrometrijom  
HT – tanini podložni hidrolizi, hidrolizabilni tanini  
IJ – internacionalne jedinice  
KR – Klajberov odnos  
KSM – konzumiranje suve materije  
LA – linolna kiselina  
LAR – leukoantocijanidin reduktaza  
LSD test – test najmanjih značajnih razlika  
MLD – leđni mišić (*musculus longissimus dorsi*)  
MP – metabolički protein  
MUFA – mononezasićene masne kiseline  
n-3 – omega 3-masne kiseline  
n-6 – omega 6-masne kiseline  
Na – natrijum  
NDF – vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu  
NDICP – proteini vezani za NDF  
NEFA – neesterifikovane masne kiseline  
NEmeat – neto energija za porast  
NFC – nevlaknasti ugljeni hidrati  
NP – neto profit ishrane  
OM – organska materija  
P – fosfor  
PA – proantocijanidini  
PDP – prosečni dnevni prirast  
PEG – polietilen glikol  
pI – izoelektrična tačka proteina  
PRP – proteini bogati prolinima  
PS – prividna svarljivost hranljivih materija  
PUFA – polinezasićene masne kiseline  
PVP – polivinilpirolidon  
RUP – proteini nerazgradivi u buragu  
SC – sirova celuloza  
SD – standardna devijacija  
SFA – zasićene masne kiseline  
SM – suva materija  
SMa – sirove masti  
SOD – superoksid dismutaza  
SP – sirovi protein  
SPe – sirovi pepeo  
STIPS – sistem tržišnih informacija poljoprivrede Srbije  
TBARS – test reaktivnih supstanci tiobarbiturne kiseline  
TC – tržišna cena suve materije obroka  
THd – dnevni troškovi ishrane  
THp – troškovi ishrane na osnovu prirasta  
TM – telesna masa životinje  
TMR – kompletni obrok

UP – ukupni prirast

UV – ultraljubičasto zračenje

VFA – isparljive masne kiseline

$\bar{X}$  – aritmetička sredina

# SADRŽAJ

SPISAK SKRAĆENICA KORIŠĆENIH U TEKSTU.....	11
SADRŽAJ.....	14
1. UVOD.....	1
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	3
3. PREGLED LITERATURE.....	6
3.1. SEKUNDARNA JEDINJENJA.....	6
3.2. TANINI.....	6
3.2.1. Klasifikacija tanina.....	8
3.2.2. Izvori tanina.....	11
3.2.3. Biosinteza tanina.....	14
3.2.4. Interakcije tanina sa proteinima.....	17
3.2.5. Specifične interakcije tanina sa enzimima.....	20
3.2.6. Interakcije tanina sa organskim neproteinskim azotnim jedinjenjima.....	21
3.2.7. Interakcije tanina sa ugljenim hidratima.....	23
3.2.8. Inhibitori i razgradnja tanina.....	23
3.3. EFEKTI TANINA U ISHRANI PREŽIVARA.....	24
3.3.1. Uticaj tanina na konzumiranje hrane.....	26
3.3.2. Uticaj tanina na proteine iz pljuvačke.....	28
3.3.3. Uticaj tanina na svarljivost.....	30
3.3.3.1. Uticaj tanina na svarljivost u buragu.....	30
3.3.3.1.1. Uticaj tanina na razgradivost proteina.....	31
3.3.3.1.2. Uticaj tanina na svarljivost ugljenih hidrata.....	33
3.3.3.1.3. Uticaj tanina na masne kiseline u buragu.....	34
3.3.3.1.4. Uticaj tanina na buražnu mikrofloru.....	34
3.3.3.1.5. Uticaj tanina na produkciju gasova.....	36
3.3.3.2. Uticaj tanina na svarljivost u distalnim delovima digestivnog trakta.....	37
3.3.3.2.1. Uticaj tanina na dotok hranljivih materija.....	38
3.3.3.2.2. Uticaj tanina na dotok i apsorpciju aminokiselina.....	38
3.3.3.2.3. Uticaj tanina na svarljivost u debelom crevu.....	39
3.3.3.3. Uticaj tanina na svarljivost hrane u celom digestivnom traktu.....	39
3.3.4. Uticaj tanina na promene metaboličkog profila krvi.....	40

3.3.5. Uticaj tanina na priraste i konverziju hrane.....	43
3.3.6. Uticaj tanina na kvalitet trupa i klanične osobine .....	45
3.3.7. Efekti tanina na kvalitet mesa .....	45
3.3.7.1. Uticaj tanina na organoleptičke osobine mesa .....	49
3.3.8. Ostali uticaji tanina .....	51
4. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA .....	54
4.1. KARAKTERIZACIJA PREPARATA KESTENOVIH TANINA.....	55
4.2. OGLED 1 - UTICAJ KESTENOVIH TANINA U STANDARDNIM FARMSKIM USLOVIMA .....	62
4.2.1. Ogled 1 - plan ogleđa i formiranje grupa .....	62
4.2.2. Ogled 1 - sastav obroka i ishrana jagnjadi u ogleđu .....	63
4.2.3. Ogled 1 - ispitivanje svarljivosti hranljivih materija .....	66
4.2.4. Ogled 1 - metabolički profil krvi .....	67
4.3. OGLED 2 – UTICAJ TANINA U USLOVIMA DEFICITA METABOLIČKOG PROTEINA .	69
4.3.1. Ogled 2 - plan ogleđa i formiranje grupa .....	69
4.3.2. Ogled 2 - sastav obroka i ishrana jagnjadi u ogleđu .....	70
4.3.3. Ogled 2 - ispitivanje svarljivosti hranljivih materija .....	72
4.4. UZORKOVANJE, HEMIJSKE ANALIZE I ODREĐIVANJE HRANLJIVE VREDNOSTI ....	73
4.5. KONZUMIRANJE HRANE, MERENJE TELESNE MASE, PRIRASTI I ISKORISTIVOST HRANE.....	74
4.6. ISPITIVANJE PRINOSA I KVALITETA MESA.....	75
4.7. EKONOMSKA ODRŽIVOST.....	76
4.8. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA .....	77
5. REZULTATI I DISKUSIJA .....	78
5.1. SPECIFIČNOSTI KORIŠĆENOG TANINSKOG PREPARATA .....	79
5.2. UTICAJ TANINA NA KONZUMIRANJE.....	82
5.3. UTICAJ TANINA NA ISKORISTIVOST HRANE .....	92
5.3.1. Konverzija hrane .....	92
5.3.2. Klajberov odnos .....	94
5.3.3. Efikasnost proteina i energije u obroku .....	95
5.4. PROSEČNI DNEVNI I UKUPNI PRIRASTI.....	97
5.5. SVARLJIVOST HRANLJIVIH MATERIJAMA.....	103
5.6. METABOLIČKI PROFIL KRVI .....	107

5.7. PRINOS I KVALITET MESA .....	109
5.8. UTICAJ TANINA NA EKONOMSKU ODRŽIVOST .....	113
6. ZAKLJUČAK .....	115
7. LITERATURA.....	117
BIOGRAFIJA AUTORA .....	142
Izjava o autorstvu .....	143
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada .....	144
Izjava o korišćenju .....	145



# 1. UVOD

Sekundarna jedinjenja su veoma rasprostranjena u biljnom svetu i predstavljaju veoma raznorodnu skupinu jedinjenja. Njihova sinteza i akumulacija zavise od mnogo faktora, od kojih su najvažniji kapacitet fotosinteze, uticaj sezone, starost biljaka, temperatura i vlaga (Hassanpour et al., 2011). Iako sekundarna jedinjenja obuhvataju veliki broj različitih grupa i struktura, među najvažnijima su tanini (Maheri-sis et al., 2011).

Tanini su velika heterogena grupa sekundarnih jedinjenja različitog biološkog porekla i široko su zastupljeni u biljnom svetu. Nalaze se u različitim delovima i organima biljaka, odnosno lišću, kori, plodovima, stablu i korenu, a skoncentrisani su pre svega u ćelijskim vakuolama. Neke od biljnih vrsta koje sadrže tanine su kesten, hrast, kvebraho, mimoza, tara, vinova loza, žuti zvezdan, barski zlatan, esparzeta, cikorija, bob i drugi. Iako postoji nekoliko klasifikacija, najčešća podela tanina je na kondenzovane i hidrolizabilne (Waghorn, 2008). Hidrolizabilni tanini se sastoje od ugljenohidratnog jezgra koje je esterifikovano galnom kiselinom ili elaginskom kiselinom (Frutos et al., 2004), dok su kondenzovani tanini oligomeri ili polimeri flavonolnih jedinica najčešće povezani ugljeničnim vezama (Le Bourvellec i Renarda, 2012). Iako klasifikacija tanina na kondenzovane i hidrolizabilne bliže definiše njihovu strukturu, brojne biljne vrste sadrže oba tipa tanina, te se u literaturi obavezno navodi i izvor tanina. Upravo kompleksnost i raznorodnost taninskih jedinjenja je uslovlila razvoj i drugih analiza kao što su: ukupni tanini koji se određuju po Folin-Ciocalteu metodi (Makkar, 2000), a konkretna taninska jedinjenja HPLC metodom. Zahvaljujući svojoj strukturi, tanini mogu da formiraju komplekse sa proteinima, ugljenim hidratima, metalima i drugim supstancama. To su opore materije koje pre svega imaju odbrambenu ulogu protiv patogena, insekata, ptica i sisara biljojeda, te su dugo smatrani isključivo antinutritivnim materijama, koje mogu dovesti do brojnih smetnji i zdravstvenih problema kod životinja. Pored ovoga, zbog svog adstringentnog (oporog) ukusa, životinje mogu izbegavati hraniva bogata taninima što može uticati na smanjeno konzumiranje i iskoristivost obroka (Barry i McNabb, 1999). Takođe, usled njihove hidrolize u želucu, odnosno buragu i distalnim delovima digestivnog trakta može da dođe do pojave određenih zdravstvenih problema (Decandia et al., 2011), a u ekstremnim slučajevima ovi efekti mogu da deluju i letalno (Jeronimo et al., 2016).

U poslednjih nekoliko decenija, došlo se do rezultata koji su pokazali da tanini mogu da imaju i pozitivne efekte na životinje koje ih konzumiraju, naročito na preživare. Pre svega, tanini mogu ispoljiti antivirusna, antibakterijska i antiparazitska svojstva, imaju antioksidativni potencijal, utiču na smanjenje nivoa slobodnih radikala, na povećanje količine proteina koji bivaju nerazgrađeni u buragu, sprečavanje naduna, mogu poboljšati imuni odgovor, ali i ispoljiti antiperoksidna svojstva (Mancini et al., 2019). Takođe, usled ovih efekata, može doći do bolje produktivnosti životinja, ili, pak, do poboljšanja kvaliteta njihovih proizvoda (pre svega mleka i mesa) (Waghorn, 2008). Hraniva koja sadrže tanine imaju potencijal popravljivanja širokog spektra nutritivnih i produktivnih osobina kod preživara, uključujući i parametre zdravlja, kao što je kontrola naduna i crevnih parazita, zatim aspekte zaštite životne sredine koji su povezani sa smanjenom produkcijom metana i gubitka azota putem urina, kao i povećanje produktivnosti životinja u pogledu prirasta, vune, mleka i reprodukcije (Barry, 2011). U ishrani preživara, usled buražne fermentacije dolazi do degradacije proteina pod dejstvom mikroorganizama koji se nalaze u prva dva predželuca - buragu i mrežavcu, što rezultira povećanom koncentracijom amonijačnog azota, te se teži povećanju sadržaja proteina u hrani koji mogu da izbegnu razgradnju u predželucima. Troškovi ishrane predstavljaju veliki udeo ukupnih troškova stočarske proizvodnje, a proteini, kao jedna od najskupljih komponenti hrane (Herremans et al., 2018) mogu drastično uticati na njihovo povećanje. Mekić et al. (2007) navode da je pojava suficita proteina u ishrani neracionalna i neekonomična, dok deficit može da dovede do smanjenog konzumiranja i iskorišćavanja hrane, smanjenja prirasta ili proizvodnje mleka, kao i do promena na vuni. Zato je

veoma važno naći načine za njihovo optimalnije korišćenje u ishrani životinja, a jedan od načina je upotreba tanina. Tanini sa proteinima u uslovima neutralne sredine (kakva je u buragu) stvaraju nerastvorljive komplekse, dok u kiseloj sredini (kakva je u sirištu, koje predstavlja četvrtu komoru želuca kod preživara) dolazi do razgradnje ovih kompleksa (Goeritz et al., 2010). Tanini, takođe, mogu ispoljiti antimikrobno dejstvo, što može dovesti do smanjenja razgradnje proteina u buragu.

Pored reagovanja sa proteinima, tanini mogu učestvovati u formiranju kompleksa i sa ugljenim hidratima, mineralima i drugim jedinjenjima, ali i mikroorganizmima. U zavisnosti od njihovog izvora, njihove reaktivnosti sa komponentama hrane, ali i količine u obroku, oni mogu uticati na veliki broj osobina. Literaturni podaci ukazuju na to da tanini u ishrani preživara mogu uticati na palatabilnost obroka i posledično na konzumiranje, svarljivost, zatim iskoristivost hrane, najčešće prikazane preko konverzije. Takođe, tanini imaju uticaj i na postignute priraste, klanične osobine i kvalitet mesa, ali i na druge osobine, kao što su različiti parametri krvi (metabolički profil). Reaktivnost tanina zavisi od biljne vrste, strukture, sadržaja u obroku, ali i od sastava i strukture samog obroka, kao i od vrste, starosti i fiziološkog stanja životinja koje ih konzumiraju. U zavisnosti od pojedinačnog, ali i međusobnog delovanja navedenih faktora, zavisi i to da li će se ispoljiti uticaji, kao i to da li će oni biti pozitivni ili negativni na posmatrane osobine. Tako na primer, ukoliko su količine tanina u obrocima prevelike, mogu se ispoljiti negativni efekti, od kojih su neki: nisko konzumiranje hrane usled neprijatnog (oporog) ukusa, smanjena svarljivost vlakana i šećera, niži prirasti, različiti oblici intoksikacija životinja i drugo. Usled hidrolize velike količine hidrolizabilnih tanina dolazi do enzimske depolimerizacije u buragu cepanjem estarskih veza između glukoze i fenolnih podjedinica, što može dovesti do intoksikacije i oštećenja organa kod životinja koje su ih konzumirale (Frutos et al., 2004).

Zbog svega navedenog, tanini predstavljaju zanimljiv primer biljnih bioaktivnih molekula sa obećavajućim načinima upotrebe u ishrani životinja (Vasta i Luciano, 2011). Iako se poslednjih nekoliko decenija veoma intenzivno ispituju, usled svoje kompleksnosti, rezultati istraživanja su i dalje neusaglašeni. Sve više je literaturnih navoda da se uticaj tanina pre svega treba posmatrati na osnovu biljne vrste, sadržaja u obroku, sastava samog obroka, kao i vrste životinja. Ova disertacija, stoga, za cilj ima da ispita različite uticaje kestenovih tanina u ishrani jagnjadi u tovu, sa njihovim različitim sadržajem u obroku. Naime, istraživanje se bazira na ispitivanju uticaja tanina ekstrahovanih iz pitomog kestena na performanse jagnjadi (konzumiranje hrane, prirast, konverzija hrane), svarljivost organske materije i drugih hemijskih parametara obroka, ali i ekonomsku analizu njihovog dodavanja kroz dva, međusobno različita ogleda koji se razlikuju u pogledu sastava i balansiranosti obroka, kao i količini dodatih tanina.

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Osnovni cilj ovog istraživanja će biti ispitivanje mogućnosti upotrebe kestenovih tanina u obroku i analiza njihovih efekata na pojedine fiziološke i proizvodne pokazatelje jagnjadi u tovu. Pri koncipiranju i postavljanju ciljeva istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji, polazi se od osnovne pretpostavke da će tanini u buragu stvoriti veze sa proteinima koje sprečavaju njihovu razgradnju od strane buražne mikroflora. Iz tog kompleksa sa taninima, proteini će biti oslobođeni u sirištu dejstvom hlorovodonične kiseline, povećaće se njihov dotok u tanka creva i na taj način će biti dostupni životinji. Pored povećanja dotoka ove frakcije proteina u creva, pretpostavka je da istovremeno tanini neće narušiti mikrobijalni protein, koji je vrlo važan izvor aminokiselina za preživare. Naime, mikroorganizmi iz buraga, dospevajući do sirišta i tankih creva bivaju razloženi, a njihove aminokiseline apsorbirane. Ipak, usled stvaranja kompleksa sa proteinima, može doći do ograničenja njihove dostupnosti za rast mikrobiota buraga, što se indirektno može odraziti na iskorišćavanje energije. Tanini mogu reagovati sa buražnim mikroorganizmima i smanjiti njihovu aktivnost, pre svega kod celulolitičkih bakterija, što za posledicu može imati izmenjen obrazac buražne fermentacije (smanjena svarljivost vlakana i produkcija isparljivih masnih kiselina), te dostupnost energije iz obroka može biti smanjena. S druge strane, povećanjem količine proteina koji izbegavaju razgradnju u buragu, zahvaljujući stvaranju navedenih kompleksa, dolazi do poboljšanog dotoka i apsorpcije aminokiselina u tankim crevima. Zbog svega navedenog, biće praćeni i prirasti, kao i iskoristivost hrane, kako bi se bolje razumeli efekti tanina.

Važno je napomenuti da nabrojani efekti tanina zavise od njihovog izvora, njihove količine u obroku, ali i strukture samog obroka. Dodatno, adaptiranje buražnih mikroorganizama tokom određenog vremenskog perioda takođe može uticati na ispoljavanje efekata tanina kod jagnjadi. Zato je neophodno definisati specifične okolnosti i faktore uticaja kada se procenjuje uticaj tanina. Stoga, istraživanje će biti sprovedeno kroz dva, međusobno različita ogleda, koji će se razlikovati u pogledu sastava obroka, kao i količini dodatih tanina.

U prvom ogledu će biti korišćen standardni farmski obrok za ishranu odlučene jagnjadi. Ovaj ogled se postavlja tako da će predstavljati uobičajene uslove na farmi, odnosno primenjivaće se korišćenje jednog obroka za ceo period tova, kao i ishrana u dužem periodu tova preko potreba. Ogledom će biti obuhvaćene tri grupe jagnjadi, ujednačene prema telesnoj masi, koje će kroz obrok dobijati različite količine dodatih tanina (0 g/kg SM obroka, 9,46 g taninskog preparata/kg SM obroka i 18,87 g taninskog preparata/kg SM obroka, respektivno).

U drugom ogledu će se, takođe, na osnovu telesne mase jagnjadi nakon odbijanja formirati tri grupe sa različitim udelom tanina u obroku (0 g taninskog preparata / kg SM obroka, 20,17 g taninskog preparata/kg SM obroka i 40,33 g taninskog preparata/kg SM obroka, redom). Razlika u odnosu na ogled 1 je u tome što će biti formulisani obroci koji zadovoljavaju potrebe grla u MP za prirast od 250 g/dan, dok je NEmeat bilo za oko 14% više, što odgovara prirastima od oko 275 g/dan. Ovako formulisani obroci ispituju pretpostavku eventualnog uticaja kestenovih tanina na povećanje MP i zadovoljenje potreba za priraste veće od 250 g/dan. Drugim rećima, postavka ovog ogleda biće takva da se ispituje korišćenje kestenovih tanina u funkciji poboljšanja produktivnih parametara (iskoristivosti hrane, povećanja prirasta, poboljšanja kvaliteta mesa).

Pored uticaja na proteine i njihovu iskoristivost, tanini mogu imati efekte i na druge parametre, kao što su ukusnost obroka, svarljivost i biohemijski parametri krvi.

Kako je već navedeno, tanini, kao opore supstance, mogu uticati na smanjenu ukusnost obroka, direktnim uticajem na senzorne receptore ili reakcijama sa mukoproteinima pljuvaćke. Smanjena ukusnost obroka može dovesti do njegovog smanjenog konzumiranja i razvijanja uslovne odbojnosti kod životinja. Smanjenjem palatabilnosti obroka, smanjeno konzumiranje može smanjiti unos proteina

i energije, kao i njihovo korišćenje u samom organizmu. Na osnovu dnevnog praćenja konzumiranja suve materije obroka, biće utvrđeno da li kestenovi tanini utiču na ovaj parametar.

Istovremeno, sa uticajima koje imaju na proteine, tanini mogu uticati i na svarljivost ugljenih hidrata, masti i drugih hranljivih materija, odnosno organske i suve materije obroka. Smanjena svarljivost ugljenih hidrata može biti posledica onemogućavanja mikroorganizama da nasele supstrat, ali i posledica inhibitornog delovanja tanina na mikrobijalne enzime i enzime digestivnog trakta. Dalje, usled uticaja koje mogu ispoljiti na mikrofloru, tanini mogu uticati na promenu buražne fermentacije, usled čega može doći do promena u iskoristivosti masti, ali i ukupne svarljivosti suve i organske materije obroka. Ispitivanje uticaja tanina na svarljivost biće sprovedeno indirektnom metodom, upotrebom indikatora, u oba ogleda kroz tri kolekcije fecesa.

Pretpostavlja se da tanini, nakon konzumiranja, usled njihove delimične ili totalne biotransformacije u organizmu, mogu uticati na održavanje homeostaze, odnosno mogu uticati na promene vrednosti biohemijskih parametara krvi. Ovo se pre svega odnosi na promene u metabolizmu proteina, jer usled formiranja kompleksa sa taninima može doći do promena u apsorpciji aminkosolina i sintezi proteina. Izmenom aktivnosti enzima koji su uključeni u sintezu i razgradnju masti, tanini mogu uticati na promene u biohemijskim parametrima kao što su nivoi holesterola i triglicerida u krvi. Ipak, različiti biohemijski parametri mogu biti pod uticajem različitih faktora, pa je zato neophodno uzeti u obzir celokupnu sliku prilikom procene efekata tanina na biohemijske parametre kod jagnjadi. Kako bi se utvrdilo da li tanini ispoljavaju navedene efekte, ali i kako bi se stekao celokupni utisak o metaboličkim procesima u organizmu, prvog i poslednjeg dana jagnjadima će venepunkcijom vratne vene biti uzorkovana krv, a parametri koji će se odrediti su: koncentracije ukupnih proteina, albumina, globulina, uree, kreatinina, glukoze, holesterola, triglicerida, ukupnog bilirubina, transaminaza (aspartat transferaze i gama-glutamil transferaze), kreatin-kinaze, a od mineralnih materija koncentracije kalcijuma, fosfora i magnezijuma.

Dalje, pretpostavka je da sadržaj tanina u obroku, usled promenjene buražne fermentacije i uticaja na promene iskoristivosti hranljivih materija, može uticati na kvalitet trupova i mesa. Naime, usled prethodno navedenih uticaja tanina, može doći do promena u hemijskom sastavu i masnokiselinskom profilu mesa. Usled potencijala da menjaju enzimatsku aktivnost u mesu, tanini mogu uticati na procese sinteze i razgradnje hranljivih materija, a posledično uticati na hemijski sastav mesa, uključujući sadržaj proteina, masti i minerala. Zbog toga će se određivanje i analiza svih pobrojanih pokazatelja sprovesti u oba ogleda.

S aspekta ekonomičnosti, ukoliko se kestenovi tanini posmatraju kao aditivi u obrocima za jagnjad u tovu, njihovo dodavanje može uticati i na ekonomsku isplativost proizvodnje. Samo dodavanje tanina kao aditiva može povećati cenu obroka koji se koristi. Zbog toga će se proceniti ekonomska isplativost dodavanja tanina u obrok jagnjadi.

Sažetim pregledom svega prethodno navedenog, realizacijom istraživanja će se postići sledeći ciljevi:

- Ispitaće se uticaj tanina na nivo konzumiranja hrane i njene iskoristivosti, kao i njihov optimalni sadržaj u obroku;
- Odrediće se uticaj tanina na prosečne dnevne i životne priraste;
- Biće determinisane promene prividne svarljivosti organske materije i drugih hemijskih parametara u zavisnosti od količine dodatih tanina u obroku jagnjadi, na osnovu metode indirektno svarljivosti, upotrebom indikatora;
- Proveriće se uticaj tanina na zdravstveno stanje jagnjadi preko parametara krvi;
- Determinisaće se uticaj tanina na odabrane klanične parametre i hemijski i masnokiselinski sastav mesa;
- Odrediće se ekonomska opravdanost upotrebe kestenovih tanina u tovu jagnjadi.

Na osnovu svih rezultata istraživanja, biće razmotrene mogućnosti i doneće se zaključci za uključivanje kestenovih tanina u obroke za ishranu jagnjadi u praktičnim uslovima, odnosno u farmskim sistemima.

## 3. PREGLED LITERATURE

### 3.1. SEKUNDARNA JEDINJENJA

Pod terminom sekundarna jedinjenja ili sekundarni metaboliti, podrazumevaju se brojna hemijska jedinjenja koja biljke sintetišu različitim metaboličkim procesima, a nastaju iz puteva sinteze primarnih metabolita. Sekundarna jedinjenja predstavljaju heterogenu grupu biljnih metabolita koji uglavnom imaju odbrambenu ulogu. Oni mogu ispoljiti i pozitivne i negativne uticaje na hranljivu vrednost određenih hraniva, ili obroka u celini, u zavisnosti od koncentracije/količine, vrste, hemijske strukture, molekulske mase i drugih parametara. Ipak, hraniva koja sadrže sekundarna jedinjenja imaju potencijal da poboljšaju širok spektar ishrambenih i produktivnih osobina kod preživara, uključujući i parametre zdravlja, kao što je kontrola naduna i crevnih parazita, zatim aspekte zaštite životne sredine (okoline) koji su povezani sa smanjenom produkcijom metana i gubitka azota putem urina, kao i poboljšanje produktivnosti životinja u pogledu prirasta, proizvodnje i kvaliteta mleka i mesa, vune, ali i stope reprodukcije.

Kako bi se potpuno razumeo efekat ovih jedinjenja na životinje, neophodno je detaljno ispitati njihovu hemijsku strukturu, koncentraciju i reaktivnost, naročito sa proteinima. Tek tada, poređenjem sa njihovim efektima na iskoristivost hranljivih materija i isparljivih masnih kiselina, kao i na priraste životinja, moći će da se definiše optimalni sadžaj specifičnih sekundarnih jedinjenja u hranivima. Neka sekundarna jedinjenja, kao što je lignin, se nalaze u svim biljkama, dok se druga, kao na primer tanini ili saponini, nalaze samo u određenim biljnim vrstama (Barry et al., 2001). Inicijalnim istraživanjima su identifikovana neka sekundarna jedinjenja kao uzročnici poremećaja i bolesti kod životinja koji rezultiraju smanjenom proizvodnjom, ali se 80-ih godina XX veka povećava obim istraživanja i pozitivni efekti korišćenja sekundarnih jedinjenja postaju očigledni.

Najveći deo sekundarnih jedinjenja u umerenoj klimi čine različite frakcije fenola i polifenola i uključuju tanine (kondenzovane i hidrolizabilne), fenolne monomere, terpene i lignin.

Polifenoli su najšire zastupljena klasa sekundarnih biljnih metabolita i do sada je identifikovano nekoliko hiljada različitih jedinjenja. Kao najraznovrsniji i najrasprostranjeniji sekundarni metaboliti, nalaze se u biljkama i namirnicama biljnog porekla (Savić, 2011). U polifenole spadaju, između ostalih, i flavonoidi, fenoli, tanini i neflavonoidi (Vasta et al., 2019). Polifenoli imaju brojne uloge u biologiji biljaka, uključujući ultra-ljubičaste (UV) zaštitne faktore, odbrambena jedinjenja od patogena i biljojeda, doprinose ispoljavanju biljnih boja, učestvuju u ukusu hrane i pića, kao i u farmaceutskoj industriji (Hassanpour et al., 2011).

### 3.2. TANINI

Među brojnim sekundarnim biljnim jedinjenjima, tanini su kvantitativno dominantni, čine značajnu frakciju ukupnog bio-ugljenika i predstavljaju četvrtu najbrojniju grupu jedinjenja u vezikularnom tkivu, posle celuloze, hemiceluloze i lignina (Hernes i Hedges, 2000). Tanini su veoma heterogena grupa polifenolnih jedinjenja različitog biološkog porekla i česti su faktori koji utiču na ukus hrane i dostupnost proteina.

Biljke koje sadrže tanine su široko rasprostranjene u prirodi, a po Levinu (1976) tanini utiču na povećanje otpornosti ka bolestima. Naime, zahvaljujući antimikrobijalnim svojstvima, smatra se da je

njihova glavna funkcija odbrana biljaka od patogena, ali i od biljojeda zahvaljujući oporom ukusu koji mogu imati, ali i otežavajući iskorišćavanje hranljivih materija iz samih biljaka (Romani et al., 2012).

Pored toga što je obim njihovog izučavanja značajno povećan poslednjih godina, i dalje je termin „tanin“, ili „tanini“ veoma teško definisati precizno i tačno. Sam naziv, tanini su dobili na osnovu francuskog termina koji predstavlja supstancu za štavljenje (Sharma et al., 2019), koja obuhvata veliki broj prirodnih polifenola (Khanbabaee i Ree, 2001). Primena tanina je široka, a otkriveno je da su se koristili na području Mediterana i 1.500 godina pre nove ere (Taghizadeh i Besharati, 2011). Tanini su se u početku koristili u kožarskoj industriji, kao supstanca za štavljenje sirove kože (Lamy et al., 2011b) i za zaštitu drvne građe (Levin, 1976), a tek kasnije su primećeni njihovi efekti u ishrani ljudi, a zatim i životinja (preživara i nepreživara). Dajmond (2022) navodi da je hrast, tačnije njegov žir, bio osnovna namirnica američkih starosedelaca u Kaliforniji i istočnim delovima Severne Amerike, ali i rezervni izvor hrane evropskih seljaka u vremenima gladi, te da su navedene populacije znale za tehnologiju odstranjivanja gorkih tanina.

Iako su slična fenolna jedinjenja, kao što su jednostavni fenoli, neoligani i flavonoidi, objašnjeni i klasifikovani na osnovu njihove hemijske strukture, tanini su heterogena grupa jedinjenja kojoj je primarno zajednička sposobnost da stvaraju komplekse sa proteinima, te njihova hemijska struktura ne može uvek biti kriterijum za klasifikaciju (Furlan et al., 2011; Hassanpour et al., 2011). Zbog toga, tanini se obično definišu kao polifenolne supstance rastvorljive u vodi koje imaju sposobnost da vezuju proteine (i/ili druge supstance), tako da stvaraju nerastvorljive ili rastvorljive komplekse (McNeill et al., 2000). Smatra se da je najpotpuniju definiciju tanina dao Horvath (1981): „U tanine spada bilo koje fenolno jedinjenje, dovoljno velike molekulske mase koje sadrži dovoljno hidrosilnih i drugih prikladnih (odnosno karboksilnih) grupa, neophodnih za stvaranje učinkovitih jakih kompleksa sa proteinima i drugim makromolekulima pod posebnim uslovima okoline koji se proučavaju.“

Mimo proteina, tanini su sposobni da stvaraju i komplekse sa polisaharidima (celuloza, hemiceluloza i pektin), šećerima, nukleinskim kiselinama, steroidima, alkaloidima, saponinima i lipidima (Takechi i Tanaka, 1987; ChaichiSemsari et al., 2011). Tanini mogu da adsorbuju i teške metale i to: zlato, živu, platinu, olovo, molibden, kadmijum, galijum, arsenijum i druge (Beltran-Heredia i Beltran-Heredia, 2016). Isti autori navode da su tanini vrlo efikasni adsorbenti industrijskih katjonskih boja, kao što su Rodamin B i Metilen plavo. Takođe, tanini vrlo uspešno adsorbuju produkte farmaceutске industrije, kao što je tetraciklin (Ersan et al., 2013), ili druga farmaceutska jedinjenja (Sanchez-Martin et al., 2013). Sve ovo ukazuje da se tanini mogu koristiti i u prečišćavanju industrijskih voda pre njihovog ispuštanja u vodotokove.

U ishrani preživara, tanini nisu hranljive materije za sebe, već utiču na promenu hranljive vrednosti hraniva ili obroka zbog svoje mogućnosti povratnog vezivanja sa biljnim proteinima i drugim hranljivim materijama. Oni mogu biti ili korisni ili štetni za životinje koje ih konzumiraju, u zavisnosti od količine u hranivu ili obroku, kao i njihove vrste i izvora. U zavisnosti od izvora, reaktivnost tanina sa proteinima se razlikuje. Njihov sadržaj može biti i do 200 grama po kg suve materije (SM) biljaka, ali se u većini biljaka koje preživari koriste nalaze u količini do 100 grama po kg SM (Terrill et al., 1994). Tanini, kao heterogena grupa jedinjenja, su vrlo kompleksni, i pored toga što se brojna jedinjenja mogu izolovati, hemijska analiza ne može uvek predvideti njihovu biološku aktivnost (Hoffman et al., 2002), jer značajan efekat ima i struktura tanina (Barbehenn i Constabel, 2011).

Dugo vremena su smatrani antinutritivnim, pa čak i otrovnim jedinjenjima koja smanjuju konzumiranje hrane, stopu svarljivosti proteina, polisaharida i minerala i koja utiču negativno na performanse životinja, izazivaju čireve, iritaciju i deskvamaciju crevne sluzokože, zatim lezije na jetri i bubrezima, a u ekstremnim slučajevima čak i smrt. Toksičnost tanina je povezana sa njihovom količinom u obroku, veličinom i molekulskom masom, jer oni velike molekulske mase ne mogu biti resorbovani (Jovetić, 2020). Tanini (naročito hidrolizabilni), kada se nađu u većoj količini u hrani, mogu biti toksični za preživare, posebno kada nema dovoljno vremena za adaptaciju buražne

mikroflora (Decandia et al., 2011). Ozbiljne štetne posledice kod preživara (bubrežne i hepatične lezije i smrt) su povezivane sa konzumiranjem tanina, koji se enzimskim putem depolimerišu u buragu do štetnih jedinjenja koja izazivaju oštećenja ćelija (Jeronimo et al., 2016). Tanini mogu izazvati i oštećenja mukoznog sloja gastro-intestinalnog trakta, doprineti promenama u ekskreciji određenih katjona i povećanoj ekskreciji proteina i esencijalnih aminokiselina (Chung et al., 1998). U preglednom radu, na osnovu brojnih istraživanja, Sharma et al. (2019) su ustanovili da, ukoliko se tanini koriste u umerenim količinama, ne izazivaju štetne efekte. Isti autori navode da su dozvoljene količine do 15.000 mg/kg obroka za preživare, 10.000 mg/kg obroka za kuniće i koke nosilje, 1.500 mg/kg obroka za svinje i do 1.000 mg/kg za brojlere. Ipak, ove vrednosti treba shvatiti orijentaciono, jer efekti tanina nisu uslovljeni samo njihovim sadržajem u obroku, već i izvorom, oblikom, interakcijama sa drugim jedinjenjima i hranljivim materijama, sastavom obroka i brojnim drugim faktorima, o čemu će biti reči kasnije.

Neki od pozitivnih efekata koji su utvrđeni u ishrani životinja su antioksidativni potencijal, anti-peroksidna svojstva i snižavanje nivoa slobodnih radikala, antivirusna i antibakterijska svojstva, hemostatične aktivnosti, povećanje količine proteina nerazgrađivih u buragu (tzv. „by-pass“ proteini), poboljšanje dotoka aminokiselina u tanka creva, sprečavanje naduna, učestvovanje u kontroli parazita, poboljšavanje imunog odgovora i drugi (Makkar, 2003; Barry et al., 2004; Mueller-Harvey, 2006; Alonso-Diaz et al., 2010; Mancini et al., 2019). Tanini poreklom iz rodova *Lotus*, *Onobrychis*, *Calliandra*, kao i tanini poreklom iz kestena (*Castanea sativa* Mill.) mogu imati pozitivna dejstva na životinje, koja su manifestovana kroz veće priraste ili mlečnost (Waghorn, 2008).

Tanini se, kod ljudi, koriste u medicinske svrhe i u prehrambenoj industriji. Od davnina je poznata njihova upotreba u azijskoj medicini, gde su korišćeni kao sredstva protiv dijareje, kao diuretici, protivupalno, kao antiseptični i hemostatični preparati (Taghizadeh i Besharati, 2011). Tanini utiču na smanjenje nivoa slobodnih radikala u organizmu (Crozier et al., 2009; Cirkovic Velickovic i Stanic-Vucinic, 2018), a takođe imaju odbrambenu ulogu pri zaštiti masti od peroksidacije (Pandurangan et al., 2012). Pored ovih efekata, tanini učestvuju u prevenciji (pa čak i lečenju) kardiovaskularnih bolesti (Habauzit i Morand, 2011; Krga i Milenković, 2019), kancera (Huang et al., 2010) i drugih patoloških stanja (Chung et al., 1998; Kumari i Jain, 2015). Pored adsorpcije teških metala, Savić (2011) navodi da se tanini mogu koristiti kao protivotrovi i za niz biljnih toksičnih sastojaka (alkaloida).

Razlike između korisnih i štetnih efekata tanina su donekle uslovljene i različitim ekološkim nišama i biljnim vrstama koje ih naseljavaju, zavise i od nutritivnog odgovora i prethodnog iskustva životinja koje su već konzumirale određene biljne vrste, kao i od postojanja adaptivnih mehanizama (Iason i Vilalba, 2006).

### 3.2.1. Klasifikacija tanina

Tanini se mogu podeliti ili po hemijskoj strukturi ili po mogućnosti ekstrakcije (Serrano et al., 2009). Ovi fenolni metaboliti mogu biti molekulske mase od 500 do 30.000 daltona (Sahoo, 2011).

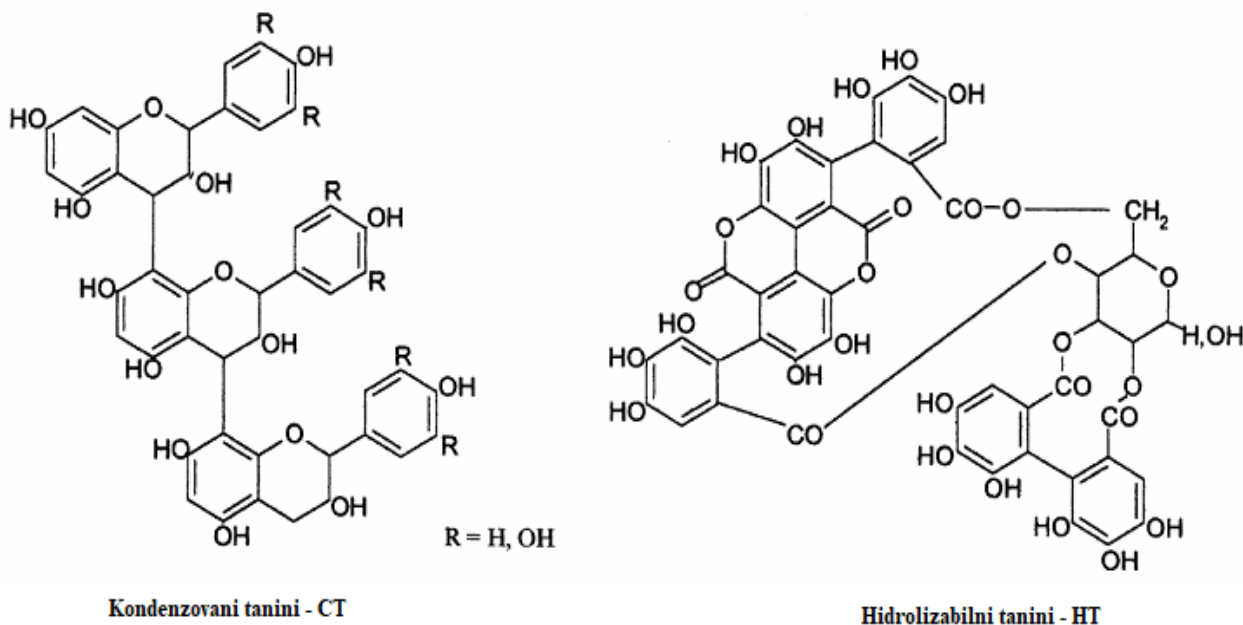
Konvencionalna klasifikacija tanina ih deli u dve grupe: tanini podložni hidrolizi – hidrolizabilni/hidrolizujuć i kondenzovani tanini (Sharma et al., 2019). Ova podela je pojednostavljena jer neki tanini sadrže funkcionalne osobine obe grupe, dok drugi polifenoli koji imaju osobine slične taninima ne spadaju ni u jednu kategoriju, kakvi su na primer rastvorljivi lignini. Sa stanovišta hemijske strukture, postoje još dve grupe tanina, florotanini i kompleksni tanini (Decandia et al., 2011), a Gould et al. (2009) navode, da, hemijski gledano, postoji još jedna grupa tanina, elagitanini. S druge strane, Amarowicz i Janiak (2019), elagitanine svrstavaju u HT.



Tanini podložni hidrolizi (HT) se sastoje od ugljenohidratne osnove (najčešće glukoze) koja je povezana estarskim vezama sa fenolnim karboksilnim kiselinama (Frutos et al., 2004a). Pored glukoze, ugljenohidratna osnova može biti i fruktoza, ksiloza, saharoza, a retko se mogu naći i strukture kao što je hamamelozna (Decandia et al., 2011). Spina et al. (2013) navode da su HT iz komercijalnih preparata uglavnom mešavina estara šećera (najčešće glukoze) sa prostim fenolima, kao što su galna i digalna kiselina, ali i kompleksnijih struktura koje sadrže i elaginsku kiselinu. Hidrolizabilni tanini imaju molekulska masa između 500 i 3.000 g/mol, i neki autori smatraju da je molekulska masa obrnuto proporcionalna reaktivnošću sa proteinima (Morales i Ungerfeld, 2015). Pod kiselim ili alkalnim uslovima oni se razdvajaju na šećere i fenolne karboksilne kiseline, od kojih najvećim delom čine galna kiselina i njeni derivati (Slika 3.1).

Postoje tri, uslovno četiri klase HT (Amarowicz i Janiak, 2019):

1. galotanini, uključujući i klasičnu taninsku kiselinu (galna kiselina i glukoza),
2. elagitanini (elaginska kiselina i glukoza) - dok ih Gould et al. (2009) svrstavaju u posebnu grupu,
3. taragalotanini (galna kiselina sa derivatima i hininska kiselina kao omotač) i
4. kafetanini (kafeinska kiselina i hininska kiselina).



**Slika 3.1: Osnovna klasifikacija tanina – CT i HT (Hassanpour et al., 2011)**

Kondenzovani tanini (CT) ili proantocijanidini (PA) su bifenilni proizvodi kondenzacije fenola (Slika 3.1). Bifenilne veze su otporne na hidrolizu. Izraz proantocijanidini je nastao na osnovu oksidativne reakcije katalizovane u kiseloj sredini pri čemu nastaju crveni antocijani nakon zagrevanja PA u kiselim alkoholnim rastvorima. Antocijani su pigmenti odgovorni za boje u cvetovima, lišću, plodovima i vinima. U anaerobnim uslovima ovi polimeri su stabilni. Svi proantocijanidini se sastoje od di- i tri- hidroksibenzil jezgra povezanih ugljeničnim atomima ili lancima, ili alifatičnim heterocikličnim strukturama (Hassanpour et al., 2011). Osnovna jedinica je flavonoidno jezgro, koje se

sastoji od fenilpropanoidnih jedinica međusobno povezanih fenilnim prstenom. Struktura CT zavisi od prirode gradivnih jedinica (broj i položaj hidroksilnih grupa, stereochemije), tipa i položaja veza između uzastopnih monomernih jedinica, i stepena polimerizacije (Dixon et al., 2005). Različite monomerne jedinice flavonola, kao što su katehin, epikatehin, galokatehin i epigalokatehin stvaraju različite klase polimera, kao što su procijanidini (polimeri katehina i epikatehina), i prodelphinidini (polimeri galokatehina i epigalokatehina). Flavonolne jedinice mogu varirati u dužini lanca od dimera do preko 20 flavonolnih jedinica, i svaki polimer može biti sastavljen od nekoliko flavon-3-ol struktura (Carron et al., 1992; Waghorn, 2008). Kondenzovani tanini imaju molekulska masa 1.000 – 20.000 daltona (Frutos, 2004a). Oni se nalaze u velikom broju leguminoza, od kojih su najčešće korišćeni žuti zvezdan (*Lotus corniculatus*), zatim esparzeta (*Onobrychis viciifolia*), barski zlatan (*Lotus pedunculatus*) i sula (*Hedysarum coronarium*).

Kondenzovani tanini su zastupljeniji u prirodi od HT. Hidrolizabilni tanini se mogu naći samo kod dikotiledonih biljaka, dok se kondenzovani mogu naći i u golosemenicama (*Gymnospermae*), i u skrivenosemenicama (*Angiospermae*) (Jovetić, 2020), a moguće je da se u istoj biljci nalaze i HT i CT.

Hidrolizabilni tanini su rastvorljiviji u vodi, i uglavnom manje molekulske mase i veće osetljivosti na enzimsku i ne-enzimsku hidrolizu od CT. Njihov sadržaj u biljkama je obično manji od CT. Hidrolizom HT u buragu može doći do brzog izdvajanja galne kiseline u buražni sadržaj, što, u zavisnosti od koncentracije, može imati pozitivne ili negativne efekte na životinje (Manelli et al., 2019). Za razliku od HT, CT se ne razgrađuju i ne apsorbuju u krvotok, i samim tim ne utiču na oštećenje zdravih organa, već jedino mogu izazvati štetu ukoliko dospeju u krvotok preko prethodno oštećene sluzokože creva (Makkar, 2003). Štetni efekti povezani sa CT u ishrani preživara su najčešće antinutritivni zbog njihovog uticaja na smanjeno konzumiranje hrane i svarljivost proteina i ugljenih hidrata, i inhibicije digestivnih enzima, a samim tim mogu da utiču i na smanjene performanse kod životinja (Yisehak et al., 2014).

Florotanini su oligomerni ili polimerni derivati floriglucina i mogu se naći u morskim mrkim algama (Decandia et al., 2011).

Pored ovih, postoje jedinjenja kompleksne strukture, koji sadrže strukturne elemente različitih grupa, kao što su procijanidino-elagitanini koji sadrže (+)katehin ili (-)epikatehin jedinicu koja je vezana glikozidnim vezama za elagitaninsku jedinicu, i takvi tanini se nazivaju kompleksnim (Decandia et al., 2011).

Tanini se mogu podeliti i u zavisnosti od rastvorljivosti, na rastvorljive i nerastvorljive. Rastvorljivi tanini su oligomerni proantocijanidini i hidrolizabilni tanini male molekulske mase koji se ekstrahuju različitim vodenim ili organskim rastvaračima, kao što su metanol ili aceton, dok su nerastvorljivi tanini velike molekulske mase i formiraju komplekse sa proteinima ili polisaharidima ćelijskog zida i predstavljaju rezidualni ostatak prilikom ekstrakcije (Decandia et al., 2011).

### 3.2.2. Izvori tanina

U carstvu biljaka tanini su veoma rasprostranjeni i nalaze se i kod cvetnica - skrivenosemenica (*Angiospermae*) i kod necvetnica - golosemenica (*Gymnospermae*). Iako Khanbabae i Ree (2001) navode da su tanini polifenolni sekundarni metaboliti viših biljaka, tanini su izolovani i iz algi, prvenstveno florotanini (Maschek i Baker, 2008; Decandia et al., 2011).

Tanini kao fenolna sekundarna jedinjenja biljaka se nalaze većinom (preko 80%) u drvenastim višegodišnjim dikotiledonim biljkama i manjim delom (oko 15%) u jednogodišnjim i zeljastim višegodišnjim dikotiledonim biljkama, ali su prisutni i u hranivima, ljudskoj hrani i nekim pićima (Jeronimo et al., 2016).

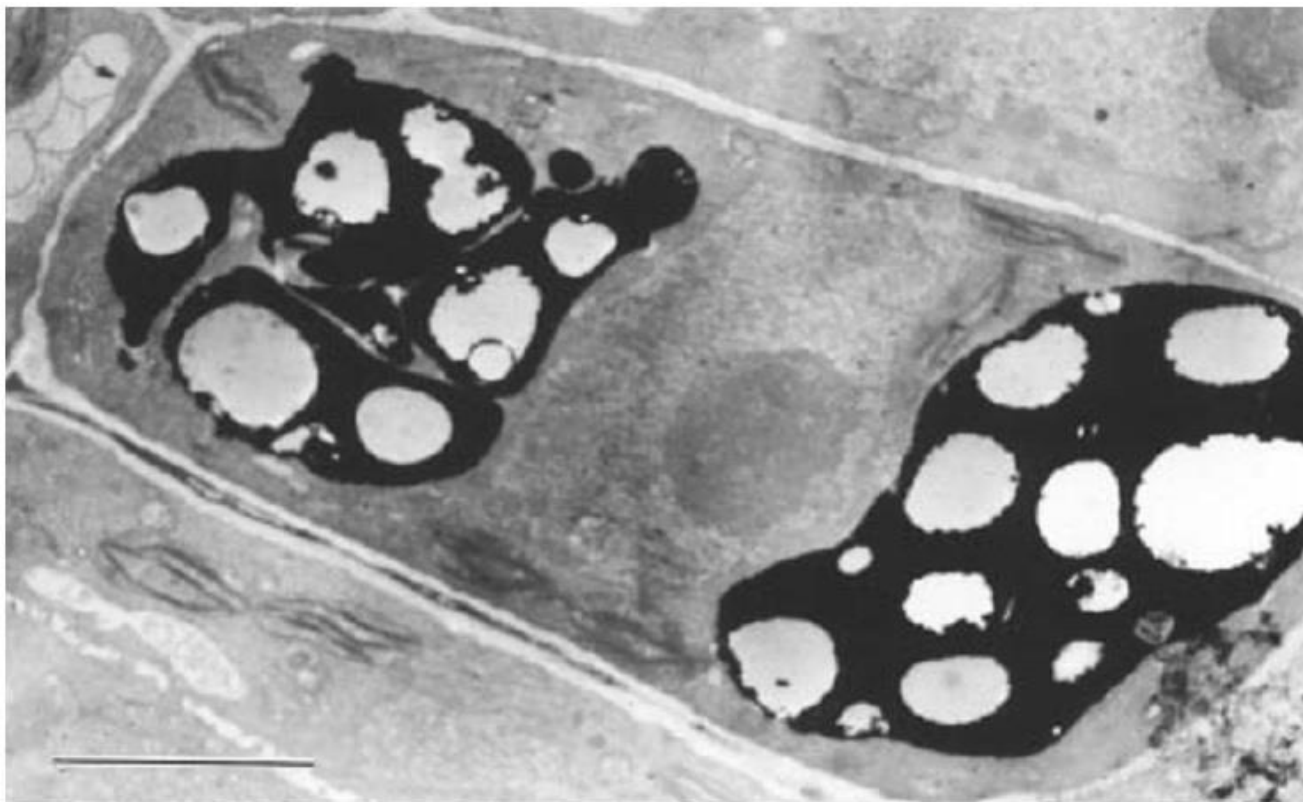
Tanini se mogu naći u gotovo svim delovima biljke: u semenu, plodu, listu, stablu, kori i korenu, i njihova primarna funkcija je zaštita biljke od patogena, insekata, štetočina i biljojeda (Dixon et al., 2005). Savić (2011) navodi da su tanini prisutni u tkivima koja odumiru (pluta, suvo lišće), ali i u mladim tkivima koja rastu (npr. pupoljci lista čaja). Neke biljke sintetišu tanine samo u omotaču semena, gde su ugrađeni u komplekse polimera, uključujući i druge flavonoide. Smatra se da tanini u omotaču štite seme od isušivanja i drugih abiotičkih stresova (Barbehenn i Constabel, 2011).

U hrani za ljudsku upotrebu, tanini se mogu naći u voću, povrću, određenim žitaricama, kakao proizvodima, čokoladi, začinima, i pićima kao što su kafa, vino, zeleni i crni čaj (Scalbert i Williamson, 2000). Pored već navedenih, izvori kondenzovanih tanina su i grožđe, brusnice, jagode, borovnice, jabuke, kajsije, breskve, ječam, hmelj, bob, nana, bosiljak, ruzmarin, banane i drugi, a izvori hidrolizabilnih tanina nar, jagode, maline, karanfilić, ječam, ovas, pirinač, plod indijskog oraha, pistaći, jezgro oraha, plod kestena i drugi (Lamy et al., 2016; Amarowicz i Janiak, 2019; Li et al., 2019; Soares et al., 2019). Sharma et al. (2019) smatraju da više od 80% svetske populacije konzumira neki od oblika tanina. Isti autori navode da dnevno konzumiranje tanina zavisi od mnogo faktora, ali da se u SAD kreće do 1 g, a u Indiji u intervalu od 1,5 g do 2,5 g (1.500 - 2.500 mg). Ipak, samo mala frakcija svih poznatih polifenola se nalazi u jestivim proizvodima, i ovi polifenoli mogu biti odgovorni za osobine hrane kao što su obojenost, oporost, gorčina i arome (Kemperman et al., 2010).

Kako je prethodno navedeno, biljke mogu da sadrže i do 20% tanina u SM, ali se nivo tanina koji se nalazi u plodu ili listu biljke, obično kreće u intervalu od 2 do 5% sveže mase biljaka, ali pri patološkim stanjima može doći do brze akumulacije tanina (War et al., 2012). Sadržaj tanina se, ipak, menja u skladu sa genotipom, fazom razvika i organima biljaka, kao i faktorima okoline. Sadržaj i sastav tanina je nasledna osobina koja je prepoznata u biljnoj proizvodnji (Miller i Ehlke, 1997; Scioneaux et al., 2011) i oni se mogu menjati u biljkama u zavisnosti od sezone, fenotipa, genotipa (vrste i sorte), vegetacionog ciklusa, faze vegetacije, količine padavina, solarne radijacije, infekcija, prethodnih napada od strane preživara i drugih biljojeda, karakteristika zemljišta i drugih ekoloških faktora (Kelman i Tanner, 1990; Hedqvist et al., 2000; Alonso-Amelot et al., 2007; Aufrere et al., 2008; Theodoridou et al., 2011; Stringano et al., 2012; Muir et al., 2017).

Tanini su zaštitni produkti biljaka, te mnoge biljke povećavaju sadržaj tanina pri pojavi stresa ili odumiranja biljnog tkiva. Jesenja promena boje u lišću je, između ostalog, i posledica formiranja tanina. Povećanje sadržaja tanina u tkivu biljaka može biti izazvano abiotičkim stresom kao što su: ultra ljubičasto svetlo (Mellway i Constabel, 2009), suša, visoke temperature, ozon ili neplodno zemljište (Treutter, 2006).

Fraisse et al. (2007) su utvrdili prisustvo fenolnih frakcija (fenolne kiseline, flavonoidi, ukupni polifenoli) u više od 43 botaničke vrste, koje su bile prisutne na pašnjaku, ispitivane kroz tri faze rasta. Naedeni autori su ustanovili više od 170 različitih fenolnih jedinjenja, što govori u prilog raznovrsnosti ove grupe sekundarnih biljnih metabolita.



**Slika 3.2: Prikaz lista esparzete (*Onobrychis viciifolia* Scop.) pod elektronskim mikroskopom. Tanini, obojeni osmijumom u tamnu boju, se nalaze u vakuolama. Graduisana linija prikazuje dužinu od 3  $\mu\text{m}$  (McMahon et al., 1999a)**

Neki od rodova koji sadrže tanine pripadaju familijama: *Betulaceae* (*Betula*), *Cesalpiniaceae* (*Ceratonia*), *Cistaceae* (*Cistus*), *Cupresaceae* (*Juniperus*), *Ericaceae* (*Calluna*, *Erica*, *Vaccinium*), *Fagaceae* (*Castanea*, *Quercus*), *Leguminaceae/Fabaceae* (*Cytisus*, *Genista*, *Lathyrus*, *Lotus*, *Medicago*, *Onobrychis*, *Trifolium*, *Lespedeza*, *Coronilla*), *Poaceae* (*Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Sorghum*, *Triticum*), *Rosaceae* (*Crataegus*, *Rosa*, *Rubus*), *Robinae*, i *Salicaceae* (*Salix*) (Horigome et al. 1988; McMahon et al., 1999a; Jovetić, 2020).

Mnoge leguminoze (*Leguminaceae*), uključujući bob (*Vicia faba*), pasulj (*Phaseolus vulgaris*), sulu (*Hedysarum coronarium*), esparzetu (*Onobrychis viciifolia*), žuti zvezdan (*Lotus corniculatus*), barski zlatan (*Lotus pedunculatus*) i perikarp kikirikija (*Arachis sp.*) sadrže tanine.

Drvenaste biljke koje su tradicionalni izvori tanina su kesten (*Castanea sativa*), mimoza (*Acacia mearnsii*), kvebraho/kvebračo (*Schinopsis balansae* i *Quebracho sp.*), hrastovi (*Quercus sp.*), a taninima je naročito bogat hrastov žir (Beltran-Heredia i Beltran-Heredia, 2016).

Upotreba sporednih proizvoda i ostataka hrane je bitan deo globalne strategije redukovanja uticaja koji stočarstvo ima na životnu okolinu i na kompeticiju za obradivo zemljište između hrane za ljudsku upotrebu i hraniva za stočnu upotrebu (Vasta et al., 2019). Po navodima istih autora, agro industrija, tačnije njeni sporedni proizvodi, mogu da sadrže različite polifenole, koji se mogu koristiti za ishranu životinja, zbog svog uticaja na njihove performanse.

U ishrani preživara, sve je češća i upotreba ekstrakta iz kore i ploda hrasta i kestena, čime se dobija proizvod sa 55% - 70% tanina. Kesten je vrsta iz familije *Fagaceae* i može se naći u južnoj Evropi i Aziji, odnosno Kini (Braga et al., 2014). Sadržaj tanina zavisi od starosti biljke, lokaliteta na kome raste, tipa zemljišta i tkiva iz kojih se ekstrahuju (Krisper et al., 1992). Postoji jaka povezanost između intenziteta akumulacije fenola i otpornosti na patogene (Levin, 1976). Polifenoli i flavonoidi se

nalaze u kestenu u različitim organima i to u sledećem odnosu: kora > unutrašnja kora (fleum) > cvet > list > plod (Barreira et al., 2008), dok su Živković et al. (2009) ustanovili da je najveća koncentracija tanina kod kestena u crvenoj unutrašnjoj kori. Kestenovi tanini sadrže i CT i HT, ali je najveća koncentracija HT (Besharati et al., 2022), od kojih su najzastupljeniji veskalin, kastalagin, galna kiselina, elaginska kiselina, kastalin, veskalagin, kestatin, kurigalin i drugi (Comandini et al., 2012; Echegaray et al., 2018; Soares et al., 2019), dok se u ekstraktu mogu naći i flavonoidi rutin, kvercetin i apigenin (Braga et al., 2014). Vodeni ekstrakti kestenove kore se odlikuju visokom koncentracijom hidrolizabilnih tanina, koji sadrže molekul D-glukoze, delimično ili potpuno esterifikovane fenolnim grupama, kao što su galna ili elaginska kiselina. Ipak, pojedini naknadni tretmani utiču na menjanje sastava samog ekstrakta. Tako na primer, zagrevanje u vodenom rastvoru može konvertovati kastalagin u veskalagin, dok kisela hidroliza dovodi do konvertovanja kastalagina u elaginsku kiselinu i kastalin, dok se u istim uslovima veskalagin može hidrolizovati do elaginske kiseline i veskalina (Krisper et al., 1992). Kestenovi tanini se hidrolizuju slabim kiselinama ili bazama (Bargiacchi et al., 2013).

### 3.2.3. Biosinteza tanina

Osnovni metabolizam autotrofnih biljaka kombinuje fotosintezu sa disanjem, pri čemu dolazi do kruženja CO<sub>2</sub> za stvaranje šećera u Kalvinovom ciklusu. Pirogroždana i limunska kiselina služe za sintezu masnih kiselina u Linenovoj spirali (reverzibilan proces) ili alifatičnih kiselina u Krebsovom ciklusu nazad do CO<sub>2</sub>.

Sva fenolna jedinjenja (primarna i sekundarna) se formiraju putem sinteze šikiminske kiseline, takođe poznatog i kao fenilpropanoidni put (Cannas, 2018). Isti autor navodi da navedeni put dovodi do formiranja drugih fenolnih jedinjenja, kao što su izoflavoni, kumarini, lignini i aromatične aminokiseline (triptofan, fenilalanin i tirozin).

Povezani najvećim delom reverzibilnim putanjama, neki od esencijalnih međuprodukata, kao što su alifatične aminokiseline, purini i pirimidini iz Krebsovog ciklusa, mevalonska kiselina kao derivat sirćetne, derivati šećera, glicerol i šikiminska kiselina kao derivat šećera i pirogroždane kiseline, služe kao prekursori za aromatične aminokiseline, dok su šikiminska kiselina i acetat-malonat glavni metabolički prekursori za sintezu polifenola u biljkama (Gottlieb, 1990). Aromatična aminokiselina fenilalanin je čest prekursor tanina, i njegova sinteza je povezana sa sintezom šikiminske kiseline. Takođe, za sintezu flavonoida, pored fenilalanina, kao prekursor je potreban i acetat (Van Soest, 1994).

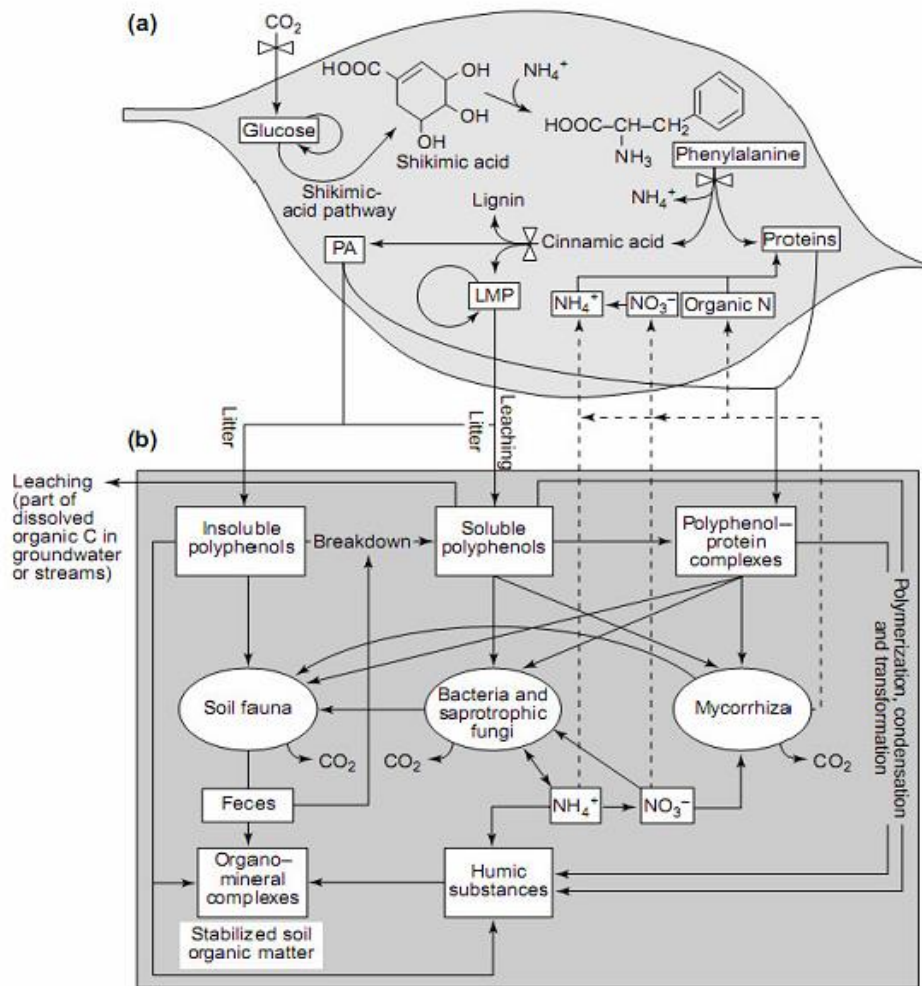
Smatralo se da se sinteza tanina dešava u vakuolama, ali je na osnovu novijih istraživanja, utvrđeno da se sinteza ipak dešava u organeli koja je derivat hloroplasta, i koja se naziva tanozom, odakle se tanini transportuju do vakuola (Hassanpour et al., 2011), što je prikazano na Slici 3.2. Barbehenn i Constabel (2011), navode da se CT skladište u vakuolama, često u epidermalnim i subepidermalnim slojevima lišća i plodova, dok se HT skladište u ćelijskom zidu (npr u ćelijama mezofila kod *Quercus robur*).

Tanini kao heterogena grupa polimernih fenolnih jedinjenja se sastoje od 12 do 16 fenolnih grupa i 5-7 aromatičnih prstenova po 1.000 jedinica relativne molekulske mase (Lamy et al., 2011b). Pri sintezi CT, flavan-3,4-diol je jedan od neposrednih prekursora, a drugi je obično flavan-3-ol koji služi kao nukleofil (Stafford, 1990). Na Slici 3.3. se nalazi pojednostavljen prikaz biosinteze, gde su u (a) delu prikazana biljna tkiva, a u (b) delu otpuštanje tanina u okolinu i njihov dalji metabolizam u zemljištu. Tanini male molekulske mase prolaze kroz nekoliko transformacija u tkivima, dok se oni velike molekulske mase smatraju krajnjim proizvodima sekundarnog metabolizma, koji prolaze kroz minimalne transformacije i sa tendencijom da se akumuliraju u tkivima sa starenjem biljke.

Monomerni fenoli (prosti fenoli, fenoli niske molekulske mase, fenolne kiseline) su gradivne jedinice tanina i lignina, ili su blisko povezani sa njima. Izuzetak čine cinamati (p-kumarna kiselina i ferulna kiselina u tropskim travama) i flavonoidni monomeri, koji se grupišu u flavone, flavonole, flavanole ili katehine (Barry, 2011). Flavonoidni monomeri se uglavnom nalaze u rastvorljivoj frakciji hraniva, i često u glikozidnoj formi, dok cinamati imaju strukturnu ulogu u zidu ćelije. Monomerni fenoli mogu umanjiti *in vitro* svarljivost, ali pri *in vivo* ogleđima njihovi efekti imaju mali značaj. Ukoliko se mikrobijalna populacija odgovarajuće pripremi, primećeno je da se značajni delovi ovih molekula mogu konvertovati u metaboličku energiju. Tako, na primer, u ovu svrhu se mogu iskoristiti šećeri pričvršćeni za njih, dodatno i delovi ugljeničnih prstenova, osim teško razgradivog B prstena, koji se može razgraditi do acetata (Lowry et al., 1996).

Glavni mehanizmi kontrole sinteze tanina se dešavaju na dva nivoa (Hassanpour et al., 2011):

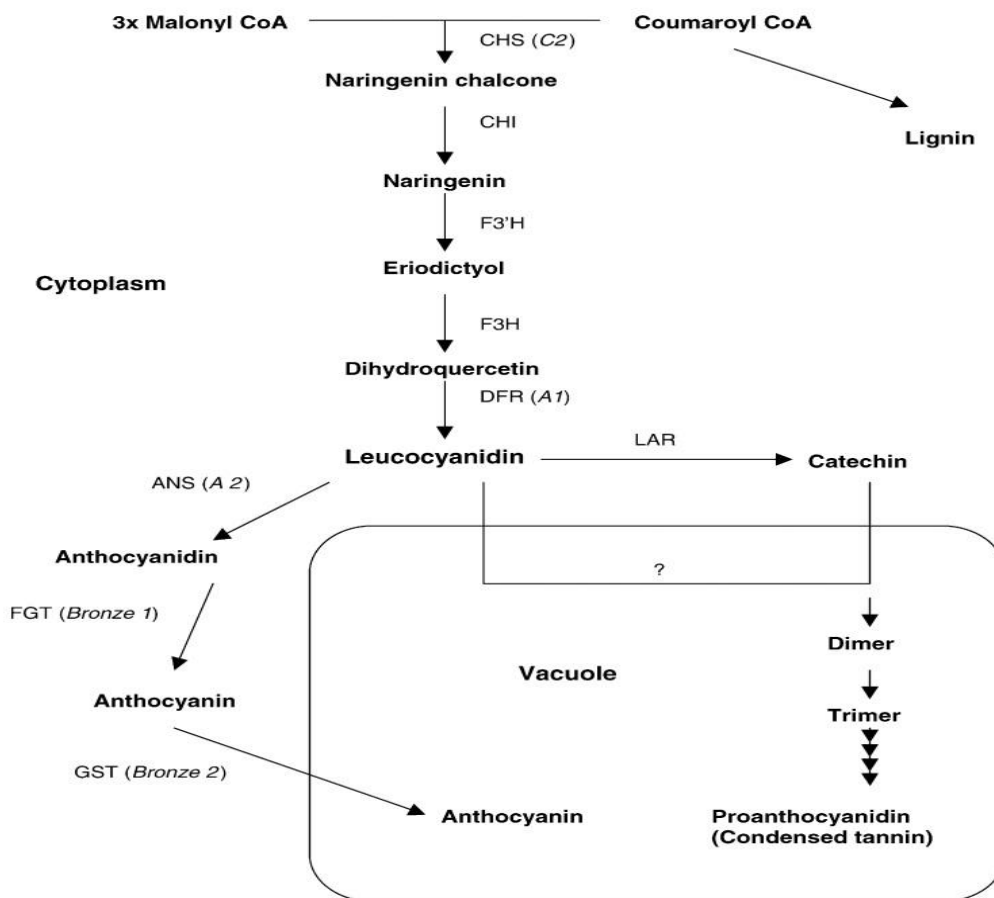
1. nivo dostupnosti glukoze i fenilalanina, koji utiče na količinu tanina
2. nivo cinaminske kiseline, koji utiče na kvalitet tanina



**Slika 3.3: Biosinteza tanina** (Hassanpour et al., 2011)

Pored ova dva glavna mehanizma, brojni su faktori koji mogu da utiču na biosintezu tanina u biljkama. Jedan od njih je mesto sinteze, odnosno nezavisni su procesi biosinteze tanina u zavisnosti od tkiva u kome nastaju, što su utvrdili Foo et al. (1982) proučavanjem biosinteze kod barskog zlatana. Utvrđeno je da je biosinteza CT u lišću kontrolisana uticajem svetla, a u korenu u zavisnosti od stresa, pre svega nedostatka azota u zemljištu. Pored ovog, na biosintezu tanina utiču i biljna vrsta, deo biljke u kom CT nastaje, starost biljke, sezona gajenja i plodnost zemljišta (Barbehenn i Constabel, 2011).

Lignini i PA dele iste fenilpropanoidne puteve biosinteze, i postoji korelacija između visokih koncentracija lignina i PA (Barry i Manley, 1986; Ramirez-Restrepo i Barry, 2005). Nerastvorljivi tanini, stoga, imaju tendenciju pojavljivanja u ligninu. Na Slici 3.4. je prikazana biosinteza PA i antocijana i njihov odnos sa biosinteza lignina. Intercelularna lokalizacija međuproizvoda biosinteze lignina, antocijana i proantocijanidina je prikazana sa poznatim enzimima: colkon sintetaza (CHS), colkon izomeraza (CHI), flavanol-3'-hidroksilaza (F3'H), flavanol-3-hidroksilaza (F3H), dihidroflavanol reduktaza (DFR), leukoantocijanidin reduktaza (LAR), antocijan sintetaza (ANS), flavanol-UDP-glukozil-transferaza (FGT) i glutation-S-transferaza (GST), dok su u zagradi prikazani geni koji kodiraju ove enzime, po navodima Ramirez-Restrepo i Barry (2005). Prvi enzimski koraci u biosintezi PA su identični biosintezi za antocijane. Čitav niz enzimskih promena započinje katalizom uz pomoć CHS, dok je kataliza enzimom DFR poslednji korak. Prvi korak gde nastaje diferencijacija proantocijanidina od antocijana je redukcija NADPH od leukoantocijanidina do katehina katalizom enzima LAR.



**Slika 3.4: Biosinteza proantocijanidina** (Ramirez-Restrepo i Barry, 2005)

Mikroorganizmi u zemljištu ne utiču samo na metabolizam fenolnih jedinjenja, već i na fragmentaciju istih. Sadržaj, transformacija i/ili metabolizam taninsko-proteinskih kompleksa od strane zemljišnih mikroorganizama mogu biti glavna spona između polifenola i cikliranja hranljivih materija (Hassanpour et al., 2011).

Pored prirodnih izvora, tanini se mogu sintetisati i laboratorijskim putem. Sharma et al. (2019) navode da se tanini mogu sintetisati korišćenjem naftalena, krezola i drugih viših hidrokarbona kao primarnih sastojaka.



### 3.2.4. Interakcije tanina sa proteinima

Tanini imaju snažan kapacitet vezivanja sa proteinima, te su, zahvaljujući ovoj osobini, dugo smatrani antinutritivnim sastojcima.

Kompleksi tanina i proteina se mogu ostvariti preko četiri vrste veza (Kumar i Singh, 1984; Lamy et al., 2011b):

- Vodoničnim vezama između hidroksilnih radikala fenolnih grupa i kiseonika iz amidnih grupa proteina, koje su reverzibilne i zavisne od pH vrednosti;
- Hidrofobnim interakcijama između aromatičnog prstena fenolnih jedinjenja i hidrofobnih regiona proteina, koje su takođe reverzibilne i zavisne od pH vrednosti;
- Jonskim vezama između fenolatnog anjona i katjonskog dela proteina. Ove veze su reverzibilne i karakteristične za HT;
- Kovalentnim vezivanjem kroz oksidaciju polifenola do hinona i njihovom naknadnom kondenzacijom sa nukleofilnim grupama proteina. Ova vrsta veza je uglavnom ireverzibilna (Hagerman, 1989).

Hidrofobne i vodonične interakcije važe za najčešći tip veza (Le Bourvellec i Renarda, 2012; Mezzomo et al., 2015). Tanini u zavisnosti od vrste kojoj pripadaju imaju različit dalji tok nakon konzumiranja. Hidrolizabilni tanini se hidrolizuju u kiseloj sredini, oslobađajući proteine, aminokiseline i male fenolične jedinice koje se izlučuju urinom (Martin, 1982). Ukoliko su veze kovalentne, kompleksi koji su formirani su najčešće ireverzibilni, dok u slučaju nekovalentnih veza (vodonične, hidrofobične i van der Walsove sile) kompleksi su reverzibilni (Jeronimo et al., 2016). Tanini poseduju hidrofobna mesta, i sposobni su da stvaraju mrežu ojačanih vodoničnih veza. Stvaranje kompleksa je dinamično i zahteva vreme, a proces se najbolje opisuje kao „navlačenje rukavice na ruku“ (Aerts et al., 1999). Reakcija između tanina i proteina uključuje dve faze: u prvoj fazi dolazi do vezivanja, a u drugoj do sekundarne agregacije, pri čemu se formira talog. Ovi kompleksi nastaju kovalentnim povezivanjem.

Taloženje proteina je veoma kompleksno, i promena jedne varijable može uticati na količinu istaloženih jedinjenja (Adamczyk et al., 2012). Formiranje kompleksa tanin-protein, kao i tip njihove interakcije, zavisi od brojnih faktora (Le Bourvellec i Renarda, 2012; Ozdal et al., 2013; Ropiak et al., 2017) od kojih su dominantni:

- Relativna koncentracija proteina i tanina: Kapacitet za stvaranje kompleksa sa PA se povećava sa povećanjem njihove koncentracije u biljkama, kao i sa povećanjem molekulske mase PA molekula, ali i sa povećanjem odnosa prodelphinidin/procijanidin u molekulu (Aerts et al., 1999). Diaz-Hernandez et al. (1997) su, koristeći više izvora tanina, u *in vitro* istraživanju utvrdili da se količina istaloženih proteina dodavanjem tanina povećavala krivolinijski do postizanja tačke zasićenja, a nakon tog momenta dodatno dodavanje tanina nije uticalo na količine proteina koji se talože. U tabeli 3.1 se prikazuju odnosi vezanih proteina i tanina. Nešto povećan odnos protein/tanin je primećen kod taninske kiseline i može se objasniti prisustvom drugih polifenolnih jedinjenja koji se najčešće nalaze u komercijalnim proizvodima taninske kiseline (Diaz-Hernandez, 1997).

**Tabela 3.1: Kapacitet vezivanja tanina (Diaz-Hernandez, 1997)**

Izvor tanina	Odnos vezanog proteina i tanina ( $\mu\text{g}$ proteina / 100 $\mu\text{g}$ tanina)
<i>Leucaena food leucocephala</i>	68 $\pm$ 2,4
<i>Laminaria pallida</i>	72 $\pm$ 0,1
<i>Leucaena diversifolia</i>	70 $\pm$ 1,0
<i>Acacia aneura</i>	76 $\pm$ 1,0
<i>Acacia harpophylla</i>	72 $\pm$ 0,1
<i>Acacia holosericea</i>	68 $\pm$ 2,4
<i>Acacia saligna</i>	71 $\pm$ 2,6
<i>Azadarachta</i>	73 $\pm$ 2,8
<i>Grevillea robusta</i>	79 $\pm$ 1,9
<i>Actinidia chinensis</i>	76 $\pm$ 0,1
<i>Tipuana tipu</i>	69 $\pm$ 1,0
<i>Flemingia macrophylla</i>	74 $\pm$ 1,7
<i>Celosia cristata</i>	72 $\pm$ 1,1
<i>Casuarina cunninghamiana</i>	69 $\pm$ 0,5
Taninska kiselina	78 $\pm$ 4,4

- Struktura tanina i proteina: Pored koncentracije/sadržaja, za nivo uticaja tanina su podjednako važni i njihov izvor, kao i hemijska struktura. Tanini pripadaju grupi kompleksnih, heterogenih jedinjenja i glavna razlika koja ih diferencira je hidroksilacija B-prstena gradivnih flavan-3-ol jedinica. Stereohemija heterocikličnih C-prstenova zauzima oblik 2,3-cis ili 2,3-trans i ovo određuje kako su flavan-3-ol podjedinice povezane jedna s drugom (Barry et al., 2001). Na oblik polimera utiče da li C4/C8 ili C4/C6 interflavonoidne veze utiču na povezivanje gradivnih jedinica. Takođe, i broj ovih gradivnih jedinica varira, čime teorijski postoji neodređeni broj hemijskih struktura, koje mogu uticati na samu reaktivnost kondenzovanih tanina. Tanini visoke fleksibilnosti, konformacijske mobilnosti, kao i nižeg afiniteta ka vodi imaju veću sposobnost vezivanja za proteine.

Struktura tanina zavisi i od njihovog izvora. Tako na primer, CT iz žutog zvezdana (*Lotus corniculatus*) i barskog zlatana (*Lotus pedunculatus*) se veoma razlikuju u hemijskoj strukturi. Kondenzovani tanini iz žutog zvezdana (molekulske mase 1.900 daltona) se najvećim delom sastoje iz procijanidina sa epikatehinom kao dominantnim, dok se CT iz barskog zlatana (molekulske mase 2.200 daltona) najvećim delom sastoji od prodelfinidinskih podjedinica sa epigalokatehinom kao najdominantnijim (Barry et al., 2001). Tanini iz žutog zvezdana se sastoje uglavnom od epikatehina (67%) i epigalokatehina (30%) (Foo et al., 1996) i ne utiču na inhibiciju apsorpcije aminokiselina (Wang et al., 1994), dok oni iz barskog zlatana koji sadrže oko 70% epigalokatehina (Foo et al., 1997) pokazuju ekstenzivnu inhibiciju za većinu aminokiselina (Foo et al., 2000). U komparativnim ogledima, CT iz barskog zlatana su bili efektivniji pri smanjenju degradacije ribuloza-1,5-bifosfat karboksilaze/oksigenaze proteina od strane buražnih mikroorganizama od kondenzovanih tanina poreklom iz žutog zvezdana (Aerts et al., 1999). Viši odnos prodelfinidina i procijanidina povećava kapacitet CT ka vezivanju proteina (Aerts et al., 1999). Kod leguminoznih hraniva ovo umanjuje degradaciju proteina i može da poveća apsorpciju esencijalnih aminokiselina iz tankih creva (Barry et al., 2001). McMahon et al. (1999a) su

pokazali da se tanini iz esparzete talože sa proteinima frakcije 1 (ribuloza bisfosfat, karboksilaza oksigenaza) više po jedinici mase nego tanini iz drugih hraniva.

Velicina i struktura proteina su takođe faktori koji determinišu sposobnost vezivanja sa taninima. Lorenz et al. (2013) navode da veliki uticaj na interakcije sa taninima ima i trodimenzionalna struktura proteina. Veći proteini fleksibilne strukture, koji sadrže visoke koncentracije prolina i drugih hidrofobnih aminokiselina imaju veći afinitet ka vezivanju sa taninima od malih proteina sa kompaktnom globularnom strukturom. Iako nedovoljno ispitivano, primećeno je da i sadržaj rastvorljivih i nerastvorljivih tanina ima veliku ulogu u stvaranju kompleksa sa proteinima ili ugljenim hidratima (Girard et al., 2018a). Proteini koji ispoljavaju najveći afinitet prema taninima su relativno veliki i hidrofobni, poseduju otvorenu, fleksibilnu strukturu i bogati su u prolinu (Mueller-Harvey i McAllan, 1992).

- Izoelektrična tačka proteina: Taloženje različitih proteina pod uticajem tanina zavisi i od proteinske izoelektrične tačke (pI). Kada je pH vrednost bliska izoelektričnoj tački, proteini se talože brže jer ne nose neto električni naboj. Međutim, tanini mogu da stvaraju komplekse sa proteinima i pri pH vrednosti koja nije bliska izoelektričnoj tački. Albumin iz seruma goveda (Bovine serum albumin – BSA) koji se uglavnom koristi u ispitivanju interakcija tanina i proteina ima pI 4,7, a formira komplekse sa HT pri neutralnoj pH vrednosti sredine, zahvaljujući taninskoj oksidativnoj aktivnosti (Adamczyk i Simon, 2017).
- pH vrednost rastvora: Elektrohemijaska reakcija rastvora takođe ima veliku ulogu u formiranju kompleksa tanina i proteina. Optimalna pH vrednost za formiranje ovih kompleksa je blizu pI vrednosti proteina, gde se elektrostatičko odbijanje, koje sprečava agregaciju proteina, smanjuje na minimum (Jeronimo et al., 2016). Ova zavisnost kompleksa od pH vrednosti rastvora je od naročitog značaja u ishrani preživara jer se prolaskom hrane kroz njihov digestivni trakt elektrohemijaska reakcija sredine i sadržaja menja. Neutralna do blago kisela pH vrednost buraga (6,0-7,0) omogućava formiranje stabilnih kompleksa između tanina i proteina (Alonso-Amelot, 2011). Zato, tanini mogu da ispolje svoje inhibitorne efekte na degradaciju proteina u buragu štiteći ih od razaranja od strane proteaze, ili direktno inhibišući same proteaze, ili čak kombinacijom ova dva. Kada prođu burag, niža pH vrednost u sirištu (pH 2,5-3,5) disosuje komplekse proteina i tanina, pri čemu dovodi do bolje apsorpcije esencijalnih aminokiselina u tankim crevima. Ispod pH 3,0 neki od kompleksa se disosuju, dok se neki dalje transformišu što zavisi od određenog izvora tanina, odnosno njihove strukture (Frazier et al., 2010). Aerts et al. (1999) su utvrdili da su, u laboratorijskim uslovima, kompleksi između Rubisco proteina (ribuloza-1,5-bifosfatne karboksilaze) i PA iz esparzete bili stabilni pri pH 6,0-7,0, ali su se disosovali i otpuštali proteine pri pH < 2,5. Do sličnih zaključaka se došlo u istraživanju Mueller-Harvey (2006), gde se navodi da se taninsko-preoteinski kompleksi razlažu u sirištu (pH 2,5 do 3,5) i u baznim uslovima kakvi su u tankim crevima (pH > 7,5), pri čemu se proteini oslobađaju za digestiju i apsorpciju.
- Temperatura rastvora: Većina tanina je rastvorljiva u vodi pri temperaturama 20-30° C, osim nekih velike molekulske mase (20.000 – 30.000 daltona). Rinaldi i Moio (2020) su ustanovili da je stvaranje kompleksa tanina sa proteinima iz pljuvačke bilo poboljšano pri temperaturi od 37° C.
- Jonska jačina rastvora: Sa porastom jonske jačine, povećava se rastvorljivost agregata tanin-protein (de Freitas et al., 2003).

- Prisustvo drugih jedinjenja u rastvoru: Pored proteina, tanini imaju sposobnost stvaranja kompleksa sa brojnim tipovima molekula, uključujući polisaharide i minerale (Jeronimo et al., 2016). Fenolna hidroksilna grupa tanina utiče na stvaranje kompleksa prvenstveno sa proteinima, u manjem obimu sa polisaharidima, nukleinskim kiselinama i metalnim jonima (Makkar, 2003). Oštećenjem biljnog tkiva, koje može nastati usled žvakanja, mlevenja ili termalnog tretmana materijala, PA se mogu vezivati spontano za polisaharide iz ćelijskog zida biljaka, uz najveći afinitet ka pektinima (Renard et al., 2017). Sa porastom koncentracije ugljenih hidrata (naročito pektina, ksantana, poligalakturonske kiseline i arapske gume) dolazi do povećane rastvorljivosti taninsko-proteinskih kompleksa (de Freitas et al., 2003).

### 3.2.5. Specifične interakcije tanina sa enzimima

Tanini mogu stvarati komplekse i sa enzimima i sprečavati enzimsku aktivnost, tj. mogu biti efikasni inhibitori enzima i to kako endogenih tako i egzogenih (Horigome et al., 1988). Još uvek nisu do kraja objašnjeni svi mehanizmi i uslovi pod kojima se ovo dešava, i u literaturi postoje oprečna mišljenja o efikasnosti tanina u inhibiranju enzimске aktivnosti.

Odgovor enzima ka taninima, pored izvora tanina, zavisi i od vrste enzima. Generalno, interakcije tanina i enzima prate ista pravila kao i formiranje kompleksa tanina sa ne-enzimskim proteinima. Ipak, enzimi variraju u svom afinitetu ka taninima, te je potencijalni uticaj nepoznatih tanina na dati enzim nepredvidiv.

Tanini spadaju u grupu inhibitora celulaze, i oni su detektovani u brojnim divljim biljkama koje koriste preživari (Van Soest, 1994). Ova aktivnost je primećena kod tanina poreklom iz *L. cunetea* i boba (*Vicia faba*) u *in vitro* istraživanjima, budući da su uticali na smanjenje svarljivosti celuloze, odnosno na direktnu inhibiciju celulaze (McMahon et al., 1999a). Waghorn (1996) navodi da tanini (posebno CT) imaju veći afinitet i brže deluju na hemicelulazu nego celulazu. Pored celulaze i hemicelulaze, tanini usporavaju aktivnosti i ureaze, karboksimetilcelulaze, proteaze, glutamat dehidrogenaze i alanin aminotransferaze kod preživara (Makkar et al., 1988; Barbehenn i Constabel, 2011; Carrasco et al., 2017), ali inhibiraju i pektinaze i  $\beta$ -galaktozidaze (Sahoo, 2011). Pored ovih, taninski molekuli mogu inhibirati i 5-lipoksigenazu, angiotenzin konvertujućii enzim, hijaluronidazu i druge (Savić, 2011).

Visoke koncentracije tanina mogu dovesti do smanjenja katalitičke aktivnosti, iako i kompleksi enzim-tanin vrše rezidualnu aktivnost. Makkar et al. (1988) su ustanovili da, kada životinje konzumiraju lišće hrasta, koje je bogato u taninima, enzimski aparat buraga radi na suboptimalnom nivou, prvenstveno zbog inhibirajućeg efekta na proteazu i ureazu, te korišćenje ovog hraniva može imati štetni efekat na enzimski mehanizam životinje.

Kondenzovani tanini poreklom iz biljke *Acacia catechu* su inhibirali aktivnost sintetaze masnih kiselina, značajnog intracelularnog enzima uključenog u *de novo* sintezu masnih kiselina dugog lanca (Zhang et al., 2008).

Određeni PA oligomeri su najpotentniji inhibitori ciklične AMP-zavisne protein kinaze, ali nije jasno da li su tanini precipitatori ili inaktivatori enzima (Aerts et al., 1999).

Tanini poreklom iz bagrema (*Robinia pseudoacacia*) u količini od 10 g/kg obroka su smanjili aktivnost tripsina i alfa-amilaze, ali ne i lipaze u ishrani pacova (Horigome et al., 1988). Iako navedena istraživanja ukazuju na tanine kao na potencijalne inhibitore enzimске aktivnosti (Triebwasser et al., 2012), postoje i oprečna mišljenja, jer je u nekim istraživanjima pokazano minorno smanjenje njihove aktivnosti, pa čak i mogućnost povećavanja aktivnosti enzima nakon reakcije sa taninima, kao na primer ono koje su sprovedi Adamczyk i Simon (2017). Ovo istraživanje je pokazalo

da niski sadržaji tanina utiču na povećanje spiralne strukture enzima, čime se povećava njihova katalitička aktivnost.

U istraživanju Tagliazucchi et al. (2005) je ustanovljena sposobnost nekih fenolnih jedinjenja da povećaju aktivnost pepsina, koji su, međutim, objašnjeni promenama u proteinima izazvanim taninima (Tantoush et al., 2012).

Dodavanje kvebraho tanina u obrok preživara u količini od 89 g/kg SM obroka je uticalo na ekspresiju stearoil-CoA desaturaze ( $\Delta 9$ -desaturaze) koja je katalizator endogene sinteze mononezasićenih masnih kiselina, kao i konjugovane linolne kiseline (Vasta et al., 2009a).

Adamczyk i Simon (2017) navode da su tanini pre modifikatori enzimske aktivnosti nego puki inhibitori, što može biti zanimljivo u pogledu kontrole enzimske aktivnosti, naročito u medicini, prehrambenoj i drugim granama industrije.

### 3.2.6. Interakcije tanina sa organskim neproteinskim azotnim jedinjenjima

Smatralo se da tanini od ukupne količine jedinjenja organskog azota talože jedino proteine i peptide. Međutim, istraživanjima je utvrđeno da tanini mogu da reaguju sa širokim dijapazonom različitih organskih azotnih jedinjenja, uključujući i arginin (aminokiselina), azotne baze, poliamine, hitine, i hitozane (Adamczyk i Simon, 2017).

Pored taloženja proteina, tanini mogu stvarati taloge i sa alkaloidima (Hagerman, 2012) i komplekse sa metalima i drugim jedinjenjima (Adamczyk i Simon, 2017). Isti autori navode da taninska kiselina, čest HT, formira komplekse sa holinom, prekursorom acetilholina, kao i da adsorbuje hitozane.

Slično reakcijama tanin-protein, koncentracija, hemijska struktura i pH rastvora igraju veoma bitnu ulogu. Na primer, mogućnost stvaranja višestrukih vodoničnih veza olakšava formiranje kompleksa sa taninima (Adamczyk i Simon, 2017). U tabeli 3.2 je prikazana reaktivnost aminokiselina, poliamina i azotnih baza. Od svih aminokiselina, arginin ima najveći broj amino grupa (4) i gotovo najveću molekulsku masu (174 daltona) i jedini reaguje sa taninima. Od poliamina, spermin ima najveću molekulsku masu (202 daltona) i najveći broj amino grupa (4), dok je kod azotnih baza najslabija reaktivnost ka taninima utvrđena kod dve koje nemaju amino grupe (uracil i tiamin).

Tanini (iz kvebraha i kestena, kao i njihova kombinacija) su uticali i na smanjenje aktivnosti dva toksina koje proizvodi *Clostridium perfringens*: alfa i epsilon toksina (Elizondo et al., 2010). Pored uticaja na smanjenje aktivnosti, u istom *in vitro* ogledu, tanini su ispoljili i baktericidno svojstvo, pri čemu je uticaj kestenovih tanina bio izraženiji.

Ova otkrića ka interakcijama tanina i neproteinskih jedinjenja azota ukazuju na značaj hemizma tanina. Dalje, reakcije sa brojnim azotnim jedinjenjima ukazuju da je neophodna revizija stava prema taninima jer mogu da reaguju sa neproteinskim organskim azotnim jedinjenjima slično kao sa proteinima.

**Tabela 3.2: Reaktivnost različnih organskih azotnih jedinjenja sa taninima** (Adamczyk i Simon, 2017)

Jedinjenje	Molekulska masa (Da)	Sadržaj azota (%)	Funkcionalne grupe	Reakcija sa taninima
<b><u>Aminokiseline</u></b>				
alanin	89	15,7	1 amino, 1 metil, 1 karboksil	Ne
arginin	174	32,1	4 amino, 1 karboksil	<b>Da</b>
asparagin	132	21,2	1 amid, 1 amino, 1 karboksil	Ne
asparaginska kiselina	133	10,5	1 amino, 2 karboksil	Ne
cistein	121	11,5	1 amino, 1 karboksil, 1 tiol	Ne
glutaminska kiselina	147	9,5	1 amino, 2 karboksil	Ne
glutamin	146	19,1	1 amid, 1 amino, 1 karboksil	Ne
glicin	75	18,6	1 amino, 1 karboksil	Ne
histidin	155	27,0	1 imidazol, 1 amino, 1 karboksil	Ne
izoleucin	131	10,6	1 amino, 1 karboksil, 1 metil	Ne
leucin	131	10,6	1 amino, 1 karboksil, 1 metil	Ne
lizin	146	19,1	2 amino, 1 karboksil	Ne
metionin	149	9,3	1 amino, 1 karboksil, 1 tiol	Ne
fenilalanin	165	8,4	1 amino, 1 karboksil, 1 fenil	Ne
prolin	115	12,1	1 karboksil, 1 pirolidin	Ne
serin	105	13,3	1 amino, 1 karboksil, 1 hidroksil	Ne
treonin	119	11,7	1 amino, 1 karboksil, 1 hidroksil, 1 metil	Ne
triptofan	204	13,7	1 amino, 1 karboksil, 1 indol	Ne
tirozin	181	7,7	1 amino, 1 karboksil, 1 fenil, 1 hidroksil	Ne
valin	117	11,9	1 amino, 1 karboksil, 2 metil	Ne
<b><u>Poliamini</u></b>				
putrescin	88	31,8	2 amino	<b>Da</b>
spremidin	145	28,9	3 amino	<b>Da</b>
spermin	202	27,7	4 amino	<b>Da</b>
<b><u>Azotne baze</u></b>				
adenin	135	51,8	1 amino, 4 N u heterocikličnom prstenu	<b>Da</b>
citozin	111	37,8	1 amino, 1 keton, 2 N u heterocikličnom prstenu	<b>Da</b>
guanin	151	46,3	1 amino, 1 keton, 4 N u heterocikličnom prstenu	<b>Da</b>
uracil	112	25,0	1 metil, 2 keton, 2 N u heterocikličnom prstenu	<b>Da</b>
timin	126	22,2	1 metil, 2 keton, 2 N u heterocikličnom prstenu	<b>Da</b>
<b><u>Aminošćeri</u></b>				
hitin	(203)n	6,89	2 amid, 4 hidroksilne, 2 metil	<b>Da</b>
hitozan	(161)n	8,69	1 amino, 4 hidroksil	<b>Da</b>
N-acetil-d-glukozamin	221	6,3	1 amid, 4 hidroksil, 1 metil	Ne

### 3.2.7. Interakcije tanina sa ugljenim hidratima

Tanini mogu da utiču na smanjenu svarljivost vlakana (Hervas et al., 2003a), ali mehanizmi ovih procesa nisu do kraja objašnjeni. Tanini, naročito CT, mogu da stvaraju komplekse i sa skrobom i sa celulozom (Cannas, 2018).

Skrob ima sposobnost formiranja hidrofobnih šupljina koje omogućavaju inkluziju kompleksa sa taninima i mnogim drugim lipofilnim molekulima. Među molekulima koje vezuju tanini, samo skrob ima ovu osobinu.

Interakcije tanina sa celulozom se svode na direktno vezivanje preko površine. Stvaranje kompleksa tanina sa ugljenim hidratima iz zida biljnih ćelija je nedovoljno jasno. Jedno od objašnjenja je da se tanini vezuju sa ćelijskim zidom na način koji podseća na vezivanje sa ligninom. Ipak, drugo objašnjenje je da je ovo vezivanje samo posledica izolacije tanina iz neživih ćelija (Cannas, 2018). Treba napomenuti da se lokacija tanina i ugljenih hidrata iz ćelijskog zida veoma razlikuje kod živih ćelija biljaka, nego što je to slučaj nakon konzumiranja i varenja od strane životinja. Interakcije tanina sa ugljenim hidratima su povećane kod ugljenih hidrata velike molekulske mase, niske rastvorljivosti i konformacijske fleksibilnosti. Ove interakcije su najverovatnije zasnovane na hidrofobičnim i vodoničnim vezama.

Tanini mogu uticati i na smanjenu svarljivost vlakana stvarajući komplekse sa lignocelulozom čime se sprečava mikrobijelna degradacija (Pineiro-Vazquez et al., 2015), bilo direktnom inhibicijom celulolitičkih mikroorganizama, fibrolitičkom enzimskom aktivnošću, ili delovanjem oba mehanizma (Tseu et al., 2020).

### 3.2.8. Inhibitori i razgradnja tanina

Za vezivanje tanina, i time poništavanje njihovog uticaja na proteine, enzime, ostalih materila, ali i mikrofloru buraga, najčešće se koriste dva vezujuća agensa, polietilen-glikol (PEG), i polivinilpirolidon (PVP) (Alonso-Amelot, 2011). Ova dva agensa sadrže veliki broj atoma kiseonika, koji su u stanju da stvaraju vodonične veze sa fenlnom grupom u taninima i na taj način ih talože iz rastvora (Silanikove et al., 2001). U slobodnoj prodaji se mogu naći kao komercijalni proizvodi različitih molekulske mase, mada su najviše ispitivani PEG molekulske mase 3.350 – 4.000 daltona, a PVP molekulske mase 10.000 – 40.000 daltona. Ovi agensi se koriste za proučavanje interakcije između tanina i proteina, jer su uspešni inhibitori tanina zbog velikog, nepovratnog kapaciteta vezivanja, niske toksičnosti, niskog nivoa inkluzije i relativno male cene (Makkar et al., 1995a). Oni mogu da utiču na raskidanje već formiranih kompleksa tanina i proteina, budući da je njihov afinitet ka taninima veći od proteina, ali afinitet PVP je niži od PEG (Taghizedah i Besharati, 2011).

Tanini se vezuju za PEG pre nego za proteine, te je jednostavno izolovati uticaje tanina u kontrolnim i PEG grupama. Zato se efekti tanina mogu utvrditi upoređivanjem životinja kojima je aplikovan PEG (oralno ili intraruminalno) sa životinjama kod kojih su tanini aktivni. Pri direktnom ubrizgavanju PEG u burag životinja utvrđeno je da je 1,7 do 2,0 g PEG po gramu tanina potrebno da se veže ukupan sadržaj tanina i spreči njihova interakcija sa proteinima (Barry et al., 2001).

Pepeo može biti dobar inhibitor štetnog uticaja tanina, što je potvrđeno u ispitivanju fermentacije *in vitro* (Makkar i Singh, 1992). Rastvor sa 10% hrastovog pepela je smanjio sadržaj ukupnih fenola, CT i kapacitet vezivanja proteina za 66%, 80% i 75%, dok su ove vrednosti za pepeo bora bile 69%, 85% i 80%. Pored pepela, koriste se tretmani sa ureom, jer predstavljaju dobar izvor alkalija (Jovetić, 2020).

Određeni uslovi skladištenja mogu uticati na inhibiciju i smanjenje sadržaja tanina u biljnom materijalu. Stopa smanjenja ukupnih fenola i CT je bila najviša kada je biljni materijal (lišće) bio skladišten na 37° C, zatim na 50° C, pa na sobnoj temperaturi (Makkar, 2003). Takođe, stopa deaktivacije tanina je povećana kada se biljni materijal usitni i skladišti pod pomenutim uslovima, dok se može dodatno povećati povećanjem vlažnosti na 55%.

Pored inhibitora, neki mikroorganizmi mogu direktno da razgrađuju tanine. Postoje indikacije da neki sojevi bakterija mogu da utiču na razgradnju polifenolnih jedinjenja, uključujući i tanine, tačnije katehol, katehin, galotanine, taninsku kiselinu i galnu kiselinu (Taghizadeh i Besharati, 2011). Mohammadabadi et al. (2020) su izolovali sojeve bakterija koje su uticale na razgradnju taninske kiseline koristeći njene produkte razlaganja kao izvor energije, a Deschamps et al. (1983) su izolovali sojeve bakterija koji su razgradili tanine (HT i CT) poreklom iz kestena, kvebraha i hrasta sintezom enzima tanaze. Tanaza (tanin acil hidrolaza) katalizuje hidrolizu estarskih veza u HT kao što je taninska kiselina, pri čemu nastaju proizvodi kao što su glukoza i galna kiselina (Beniwal et al., 2012, Govindarajan et al., 2016). Galna kiselina se dalje, aktivnošću mikroorganizama, razlaže do pirogalola i drugih fenola male molekulske mase, koji se mogu apsorbovati u buragu (Murdiati et al., 1990). Nakon apsorpcije, ovi fenoli se dalje mogu metabolisati konjugacijom do glukuronske kiseline (Reed, 1995).

Bakterije, plesni i kvasci mogu da razgrade galotanine, dok je razgradnja elagitanina teža zbog njihove kompleksne strukture (Sahoo, 2011).

### 3.3. EFEKTI TANINA U ISHRANI PREŽIVARA

U ishrani preživara, tanini imaju višestruke efekte. Na osnovu Alonso-Amelot (2011), tanini mogu uticati na hranljive materije po šest osnovnih principa:

1. Stvaranjem kompleksa sa proteinima i ugljenim hidratima;
2. Izdvajanjem (sekvestracijom) esencijalnih mineralnih materija;
3. Izmenom apsorpcije preko epitela digestivnog trakta;
4. Ubrzanom ekskrecijom nutrijenata;
5. Uticajem na crevni epitel;
6. Uticajem na mikroorganizme, njihov metabolizam i ekologiju.

Kako je prikazano na Slici 3.5, oni mogu imati uticaj na promenu ukusnosti i konzumiranja hrane, na stvaranje kompleksa sa proteinima u usnoj duplji i buragu, mogu da utiču na promene biohidrogenacije u buragu, mogu uticati na smanjenu proizvodnju amonijaka i metana, mogu promeniti nivo svarljivosti u digestivnom traktu, uticati na povećanje dotoka proteina (i aminokiselina) u distalne partije digestivnog trakta i mogu dovesti do povećanja fekalnog azota.

Ovi uticaji mogu biti korisni ili štetni po životinje i uticati na promene u njihovoj produktivnosti, u otpornosti na neke patološke promene (smanjena stopa naduna i otpornost ka parazitima), kao i u kvalitetu njihovih proizvoda (mesa, mleka i vune), ali i izazvati promene u metaboličkom profilu krvi i uticati na promene na parenhimatoznim organima.

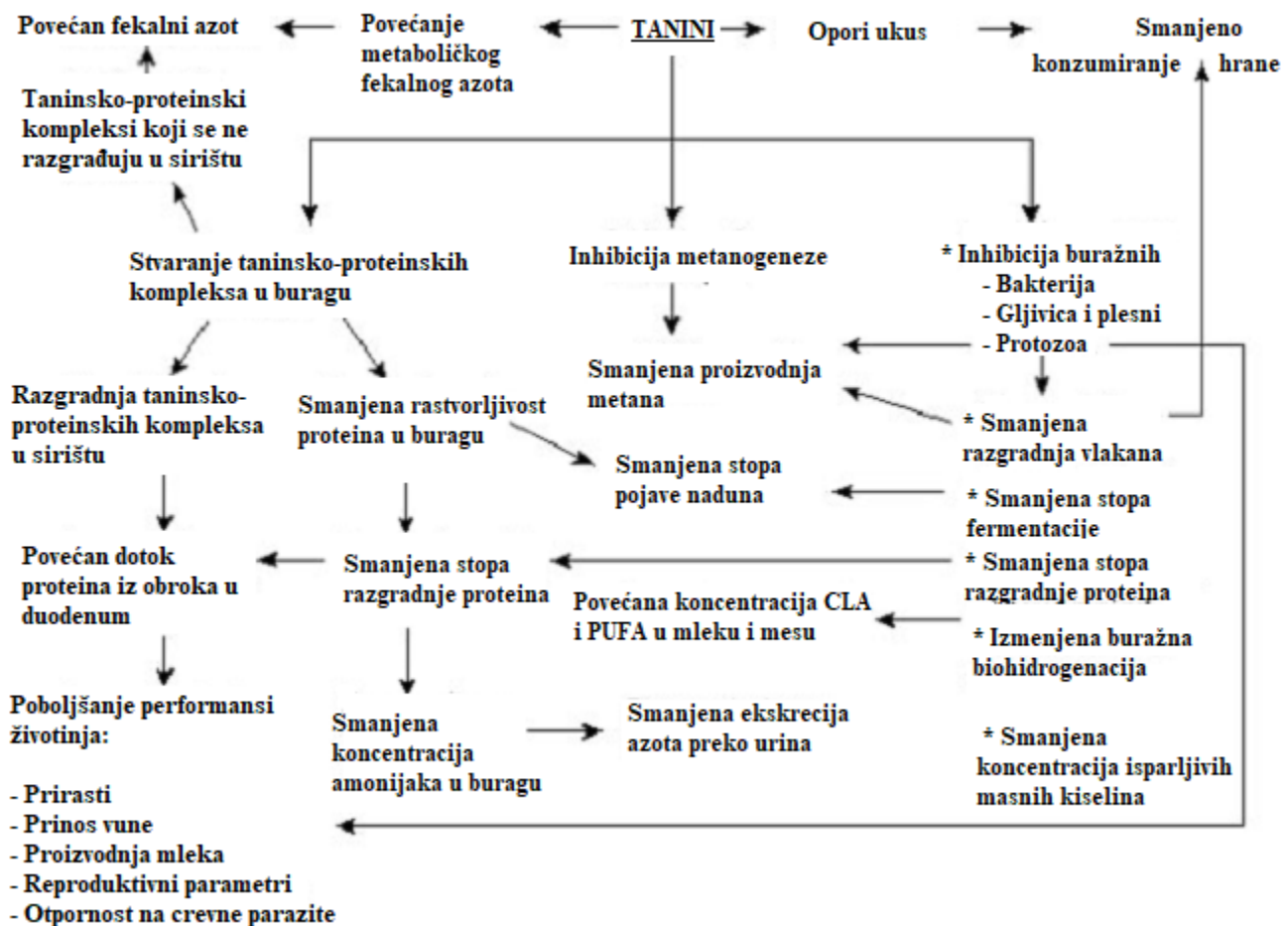
Nakon konzumiranja proteina, njihovo razlaganje u buragu je veoma intenzivno pod uticajem mikroflora. Po literaturnim podacima, stopa razlaganja proteina iz obroka ide i do 80%, najčešće je oko 60%, a ostatak prolazi u distalne delove digestivnog trakta (Van Soest, 1994). Proteini se razlažu najviše dejstvom enzima proteaze mikroorganizama, a ovi enzimi su vezani za površinu ćelijskog zida, te im je supstrat veoma dostupan.

Kada preživari konzumiraju hranu bogatu rastvorljivim proteinima, često dolazi do preterane fermentacije biljnih proteina do peptida, aminokiselina i amonijaka u buragu. Većina ovih produkata



razgradnje proteina se ugrađuje u mikrobijalni protein visoke biološke vrednosti. Međutim, brzo stvaranje amonijaka često prevazilazi nivo ugrađivanja u mikrobijalni protein, što može dovesti do toga da se čak 20% do 35% azota iz ovog izvora izgubi (Barry et al., 2001). Kako količine azota u obroku rastu, produkcija amonijaka u buragu može prevazići potrebe buražne mikroflora, te se višak amonijaka apsorbuje preko buraga, transformiše u ureu i izlučuje preko urina (Holmes et al., 2002), ali, usled visokih koncentracija, amonijak može da prođe iz jetre i pređe u perifernu cirkulaciju, čime može doći do intoksikacije. Toksičnost amonijaka je povezana sa brojnim mehanizmima u mozgu i zato ovce mogu da regulišu konzumiranje hrane kako bi održali nivo amonijaka u krvi ispod 2 mg/l (Fernandez, 2012). Prevelika produkcija amonijaka ukazuje na neefikasnu upotrebu proteina u ishrani, koji su mogli biti iskorišćeni za produkciju same životinje. Takođe, azot, izlučen u formi uree, nitrita, nitrata i amonijaka je ozbiljan ekološki problem, naročito kod tova i zatvorenih sistema držanja životinja. Ovi problemi se mogu prevazići upotrebom tanina, čime dolazi do stvaranja taninsko-proteinskih kompleksa, zatim do povećanih količina proteina koji izbegavaju buražnu fermentaciju (nerazgradivi tzv. „by-pass“ proteini), te proteini nerazgrađeni prelaze u distalne delove digestivnog trakta čime se efikasnije koriste.

Bioaktivna sekundarna jedinjenja u leguminozama mogu da prouzrokuju različite interakcije u digestivnom traktu, pa rezultati buražne fermentacije različitih biljaka mogu značajno da se razlikuju od prosečnih vrednosti njihovih pojedinačnih komponenti (Niderkorn et al., 2012).



**Slika 3.5:** Shematski prikaz uticaja tanina na metabolizam i performanse preživara, gde su CLA – konjugovana linolna kiselina i PUFA – polinezasićene masne kiseline. Preuzeto i prilagođeno od Patra i Saxena (2011).

Sastav ovih tanina je veoma kompleksan, pa iako različita jedinjenja mogu biti izdvojena, hemijska analiza ne može uvek predvideti njihovu biološku aktivnost (Jeronimo et al., 2016).

Zbog svega navedenog, korišćenje biljnih vrsta koje sadrže tanine i implementacija njih ili njihovih ekstrakata, može biti interesantan način za optimizaciju ishrane preživara (Goeritz et al., 2010).

U nastavku, biće opisan uticaj tanina na konzumiranje, varenje (svarljivost), buražnu mikrofloru, promene metaboličkog profila, priraste, konverziju hrane, kvalitet trupa i klanične osobine, kvalitet mesa, i druge osobine.

### 3.3.1. Uticaj tanina na konzumiranje hrane

Preživari se odlikuju jedinstvenim načinom varenja hrane i metabolizmom hranljivih materija, jer konzumiraju velike količine biljnog materijala bogatog vlaknima, često niske energetske vrednosti, koji zahteva buražnu fermentaciju.

Životinje biraju koje će biljke konzumirati na osnovu ukusnosti, koja je definisana kombinacijom tri anatomske razdvojena čula: ukusa, mirisa i hemosenzorne iritacije (Beauchamp i Mennella, 2009). Ukus hraniva i hrane je određen fizičkim i hemijskim osobinama, i tokom konzumiranja, navedena čula utiču na palatabilnost (Atwood et al., 2001).

Nekoliko faktora utiče na konzumiranje hrane kod preživara, i postoje tri teorije koje objašnjavaju ovu pojavu (Jeronimo et al., 2016):

- 1) fizička teorija, po kojoj se konzumiranje smanjuje kada je burag punjen;
- 2) hemostatička teorija, po kojoj je koncentracija hranljivih materija i energije (uključujući i isparljive masne kiseline) uključena u kontrolu konzumiranja;
- 3) teorija tzv. „oksigenne efikasnosti“, po kojoj preživari konzumiraju onu količinu hrane koja pruža optimalni prinos neto energije po jedinici konzumiranog kiseonika.

Bolje razumevanje mehanizama vezanih za senzorna čula i njihov efekat na apetit i ponašanje pri konzumiranju može dovesti do različitih metoda manipulacije hranivima kako bi se izmenila njihova privlačnost životinjama, čemu svakako mogu doprineti tanini. Konzumiranje hrane bogate tanima je određeno, pre svega, preko dva senzorna aspekta koji joj mogu smanjiti ukusnost: oporost i gorčina. Pri konzumiranju hrane bogate taninima može doći do pojave adstringentnosti, odnosno oporog ukusa, što je posledica direktne reakcije sa senzornim receptorima, ali smanjenje ukusnosti može biti i rezultat reakcija između tanina i mukoproteina iz pljuvačke (Taghizadeh i Besharati, 2011).

Jovetić (2020) navodi da postoje tri načina kojima se mogu objasniti negativni efekti visokih količina tanina u obrocima na obim konzumiranja hrane:

- 1) smanjenje ukusnosti hrane,
- 2) usporavanje pasaže i
- 3) razvoj uslovne odbojnosti.

Ginane et al. (2011) navode da su čulo ukusa i mirisa primarni u određivanju senzornih svojstava hrane, samim tim i primarni u određivanju i konzumiranju ukusne hrane, uz istovremenu detekciju i odbacivanje gorke hrane. Opori ukus neke vrste lišća, plodova i vina se manifestuje zbog prisustva tanina. Tanini nisu samo opori, već u humanoj i animalnoj ishrani aktiviraju brojne receptore za gorke (Soares et al., 2013; Lamy et al., 2011b). Pored oralnih tkiva, brojni receptori za gorke se nalaze i u gastrointestinalnom traktu (Colombo et al., 2012), pri čemu tanini imaju potencijalno učešće

u postingestivnim regulacionim procesima (Cheled-Shoval et al., 2014). Istraživanja pokazuju da ćelije zadužene za detekciju ukusa u usnoj duplji i gastrointestinalnom traktu poseduju brojne zajedničke karakteristike, i da receptori mogu da detektuju prisustvo proteina, ugljenih hidrata i masti u hrani, ali i fenolnih jedinjenja (Breer et al., 2012). Velike količine tanina u obroku mogu smanjiti količinu unete hrane zbog generalnog smanjenja ukusnosti hrane, a samim tim dolazi i do smanjene količine suve materije (SM) potencijalno dostupne za varenje. Tanini mogu stvarati komplekse sa proteinima crevnog zida, da inhibiraju enzime koji se nalaze u crevima, da utiču na propustljivost crevnog zida, pri čemu dolazi do smanjene pasaže hranljivih materija preko zida creva (Walton et al., 2001).

Rezultati o uticaju tanina na konzumiranje su u literaturi vrlo oprečni. Ipak, oni se pre mogu objasniti razlikama u izvoru, veličini i strukturi tanina, nego koncentracijama (Mendez-Ortiz et al., 2018). Pored ovoga, postoji mišljenje da, pored prisustva tanina, konzumiranje hrane zavisi i od dodatnih hranljivih materija. Tako na primer, tanini u hrani manje utiču na konzumiranje hrane kod jagnjadi kada su prisutni u obrocima visokog kvaliteta (Baraza et al., 2005). Na osnovu različitih istraživanja, utvrđeno je da konzumiranje biljnih vrsta, ili obroka sa visokim udelom tanina (uglavnom > 50 g CT/kg SM) značajno smanjuje konzumiranje hrane, dok srednji ili niski udeo tanina (< 50 g CT/kg SM) nisu imali uticaj na količinu konzumirane hrane (Taghizadeh i Besharati, 2011). Zbog navedenih razlika u izvoru tanina, u tekstu koji sledi biće navedeni literaturno najčešći izvori tanina koji se koriste u ishrani životinja.

Tako, Perez-Maldonado i Norton (1996) su ustanovili da sa sadržajem tanina od 60 g/kg SM obroka iz barskog zlatana (*Lotus pedunculatus*) pri ishrani jagnjadi dolazi do smanjenog konzumiranja hrane.

Konzumiranje hrane, životni prirasti i prinosi vune kod ovaca na ispaši su pozitivno povezani sa količinama tanina iz žutog zvezdana (*Lotus corniculatus*) na pašnjacima sastavljenim od lucerke i zvezdana, sa sadržajem tanina 8-10 g/kg SM (Douglas et al., 1995). Douglas et al. (1999) su ustanovili da sadržaj CT u obroku od 90 do 130 g/kg SM iz istog izvora u ishrani ovaca ne utiče na palatabilnost hrane. Ispitujući ponašanje goveda i konzumiranje hrane na pašnjacima žutog zvezdana, ustanovljeno je da je odabir biljaka za konzumiranje zavisio od udela CT koji se kretao od 0,5 % do 3,3%, dok su životinje izbegavale biljke sa većim sadržajem tanina (Poli et al., 1998).

Rutter (2006) je ispitivao uticaj tanina iz sule (*Hedysarum coronarium*) na konzumiranje suve materije kod ovaca u laktaciji tako što su ovce imale slobodan pristup pašnjacima na kojima je sula ili engleski ljulj (*Lolium perenne*). Ustanovljeno je da su ovce u početku provodile i do 74% ukupnog vremena za konzumiranje na pašnjacima sule, ali da se dnevni obrazac preferencije ka ovim pašnjacima smanjivao nakon muže. Autori su ovo objasnili akumulacijom tanina u buragu, jer ukus biljne mase nije uticao na konzumiranje.

De S. Costa et al. (2020) su smanjeno konzumiranje hrane kod jagnjadi utvrdili pri sadržaju CT iz mimoze (*Acacia mearnsii*) preko 40 g/kg SM obroka.

Krueger et al. (2010) su ispitivali uticaj mimozinih (700 g CT/kg SM, preparat Chemtan Mimosa Powder) i kestenovih tanina (800 g HT/kg SM, preparat Chemtan Chestnut Powder) na performanse junadi u tovu. Grupe su dobijale obroke sa 14,9 g preparata/kg SM (mimozinih ili kestenovih), dok kontrolni obrok nije sadržao tanine, ali se konzumiranje nije značajno razlikovalo među grupama. Korišćenjem kestenovih tanina (75,4% ukupnih tanina u preparatu) u obroku jagnjadi u količini 0, 10 i 30 g preparata/kg obroka, nisu utvrđene razlike u konzumiranju hrane (Liu et al., 2011). Pri ishrani sojinim brašnom, prethodno tretiranim HT poreklom iz kestena (20,8 g HT/kg SM obroka), nije ustanovljeno smanjenje konzumiranja SM obroka kod ovaca (Frutos, 2004b). Valenti et al. (2020) su poredili obroke bez i sa 4% taninskih preparata iz različitih izvora (kesten, tara, mimoza i gambier (*Uncaria gambir*)) i utvrdili da je najmanje konzumiranje SM bilo kod jagnjadi hranjenih obrokom sa kestenovim taninima. Oralnim doziranjem kestenovih tanina lamama u količini od 12 g/dan nisu primećene razlike u konzumiranju u odnosu na kontrolnu grupu koja nije dobijala tanine (Febres et al., 2021).

Rojas-Roman et al. (2017) su koristili preparat komercijalnog imena BYPRO koji se sastojao od mešavine kvebraho i kestenovih tanina u odnosu 50:50 (minimum 70% tanina u preparatu). Navedeni autori su ustanovili da je dodavanjem tanina u različitim količinama (0; 2; 4; 6 g/kg SM obroka) u obroke jagnjadi u ogledu koji je trajao 70 dana, primećeno da jagnjad iz taninskih grupa, a posebno  $\geq 4$  g/kg SM lošije konzumiraju suhu materiju, utiče se na lošije iskorišćavanje energije, i povećano je konzumiranje vode. Korišćenjem istog preparata u količini 0,3% u SM obroka jagnjadi, nisu utvrđene razlike u konzumiranju SM u odnosu na grupu koja nije dobijala tanine (Ortiz et al., 2013). Dodavanjem proizvoda BYPRO u obroke sa različitim sadržajem sirovog proteina (SP), za krave u laktaciji, takođe nisu primećeni uticaji na konzumiranje azota (i SP) (Aguerre et al., 2016).

Hervas et al. (2003b) su dozirali intraruminalno različite količine kvebraho tanina (0; 0,5; 1,5 i 3 g preparata/kg telesne mase, što je ekvivalentno 0; 28; 83; i 166 g tanina/kg konzumirane SM), i ustanovili da kod prve tri grupe ovaca nije bilo razlike u konzumiranju, odnosno životinje su konzumirale svu ponuđenu hranu, osim onih koje su dobijale najveću količinu tanina. Životinje iz ove grupe su nakon 5-6 dana totalno prestale da konzumiraju hranu. Konzumiranje suve materije, kao i prosečni dnevni prirasti, su bili niži kod jagnjadi hranjenih obrokom sa 6,4% SM kvebraho tanina u odnosu na kontrolu, što se može objasniti smanjenom palatabilnošću (Vasta et al., 2010b).

Priolo et al. (2000) su ustanovili da pri koncentracijama CT iz rogača u obroku jagnjadi od 25 g/kg SM dolazi do smanjenog konzumiranja, dok je jagnjad kojima je u obrok dodavan PEG (molekulska masa 4.000 daltona) u količini 40 g/kg hraniva, konzumirala za 60% više hrane od taninske grupe.

Kada je u hranu ovcama dodato 8 g taninske kiseline po kg telesne mase životinje (TM), konzumiranje SM se značajno smanjilo posle samo 24 časa, i to sa 18 g SM/ kg TM na 2,5 g SM/ kg TM (Zhu et al., 1992). Takođe, buražni pokreti su prestali nakon 24 časa. Autori su ovim istraživanjem hteli da utvrde toksičnost taninske kiseline, te su aplikovane količine prevelike, neprihvatljive i neprimenljive u farmskim i uslovima praktičnog stočarenja.

### 3.3.2. Uticaj tanina na proteine iz pljuvačke

Prilikom konzumiranja hrane, ona prvo prolazi kroz usni aparat gde se usitnjava i meša sa pljuvačkom. Pljuvačka ima važnu ulogu u konzumiranju hrane, jer pored vlaženja biljnog materijala, i sekrecije uree, ima i ulogu u određivanju ukusa i teksture hrane. Žvakanjem biljne mase se takođe oslobađaju i tanini iz intracelularnih vakuola čime se omogućava stvaranje kompleksa između njih i biljnih proteina ili između tanina i proteina iz pljuvačke.

Smanjeno konzumiranje hraniva bogatih u taninima se može objasniti slabom palatabilnošću takvih hraniva zbog adstringentnog osećaja pri konzumiranju hraniva i vezivanju tanina sa proteinima pljuvačke, koja gubi ulogu lubrikanta u usnoj duplji, pri čemu se ispoljava neprijatan osećaj suvoće i grubosti (Lesschaeve i Noble, 2005), ali i neposrednom reakcijom sa receptorima ukusa. Pljuvačna pelikula je tanki, ćelijski organski sloj (film) koji se stvara na bilo kojoj vrsti površine nakon izlaganja pljuvački (Lindh et al., 2014). Tanini mogu reagovati sa pelikulom i doprineti pojavi adstringentnosti.

Dva mehanizma mogu objasniti adstringentnost (oporost) tanina u usnoj duplji (Gibbins i Carpenter, 2013):

- 1) Interakcija tanina sa glikoproteinima pri kojoj dolazi do rupture lubrikantne pljuvačne pelikule, koja oblaže celu oralnu površinu u usnoj duplji, pri čemu nastaje trenje;
- 2) Sa nastankom ruptore pljuvačne pelikule, dolazi do izlaganja oralne sluzokože, čime se dozvoljava agregatima tanin-protein da vrše direktnu interakciju sa oralnim tkivima, verovatno preko receptora.

Dakle, moguće je da slobodni tanini sami reaguju direktno sa sluzokožom ili receptorima nakon rupture pljuvačne pelikule, izazvane agregatima tanin-protein. Pljuvačna pelikula sadrži mnoštvo proteina, naročito mucina, pljuvačnih proteina velike molekulske mase, koji su mahom glikolizovani (Morzel et al., 2014), dok postoje tvrdnje da se njihov sastav može menjati polifenolima iz hrane (Davies et al., 2014).

Pored neprijatnog osećaja oporosti, interakcija tanina i pljuvačnih proteina može rezultirati pozitivnim odbrambenim mehanizmima protiv potencijalnih negativnih efekata pri konzumiranju tanina. Pri konzumiranju hrane bogate taninima dolazi do generalnog povećanja protoka pljuvačke kod životinja (Van Soest, 1994). Međutim, u zavisnosti od brojnih faktora tanini mogu biti štetni ili korisni (Makkar et al., 2007; Waghorn, 2008; Piluzza et al., 2014).

Proteini pljuvačke imaju visok afinitet ka taninima (Mavri et al., 2022), pri čemu su stvoreni kompleksi stabilni pri različitim pH vrednostima gastrointestinalnog trakta. Ova stabilnost omogućava pasažu tanina kroz digestivni sistem, pri čemu se sprečava da budu degradirani i apsorbirani, ili da reaguju sa drugim molekulima hrane, ili čak endogenim molekulima (Piluzza et al., 2014).

Pljuvačni proteini koji se vezuju za tanine se mogu podeliti u dve glavne grupe:

1. proteini bogati prolinima (PRP) i
2. histatini

Iako je prva grupa izolovana kod različitih životinjskih vrsta, pljuvačni histatini su izolovani jedino kod ljudi (de Sousa-Pereira et al., 2013). Pored ovih, u literaturi se mogu naći podaci da su u ljudskoj pljuvački izolovani i staterini, cistatini (Soares et al. 2012) i alfa-amilaza (Soares et al., 2007). Ustanovljeno je da je količina prve grupe pljuvačnih proteina u pozitivnoj korelaciji sa količinom tanina koji se nalaze u svakodnevnoj hrani (Shimada, 2006). Tako, na primer, pljuvačka glodara uobičajno ne sadrži PRP, ali nakon 3-4 dana konzumiranja hrane bogate taninima dolazi do povećanja količina sekrecije ovih pljuvačnih konstituenata (Carlson, 1988). Kod preživara, PRP su prisutni u pljuvački divljih preživara koji brste, kao što su belorepi jelen, irvas i srna, dok se ne nalaze kod preživara koji pasu, kao što su ovce i goveda, a prisutni su u umerenim količinama kod biljojeda koji i pasu i brste, čiji je tipičan predstavnik koza (Shimada, 2006).

Promene u proteinskom profilu pljuvačke nakon konzumiranja obroka koji je sadržao 2,5% preparata hrasta (preparat Indusol-Ato,  $72 \pm 1,5\%$  CT) su praćene i kod ovaca i kod koza, čiji su se nivoi pljuvačnih proteina menjali u zavisnosti od vrste (Lamy et al., 2011a). Isti autori su ukazali da je relativno visok procenat aminokiselina prolina (6,5%), glutamina (16,5%) i glicina (6,1%) u parotidnim žlezdama kod koza pokazao da je došlo do promene sastava pljuvačke pri ishrani bogatoj taninima, u odnosu na onu sa niskim sadržajem tanina, dok kod ovaca nisu ustanovljene značajne razlike. Promene u sekreciji pljuvačke (promene u produkciji pljuvačke iz parotidne žlezde kao odgovor na konzumiranje hrastovog tanina) su pripisane povećanoj sposobnosti koza da se prilagode ishrani bogatoj taninima (Salem et al., 2013). Pored ovoga, utvrđeno je prisustvo proteina koji vezuju tanine u pljuvački koza, kada su životinje hranjene taninima ekstrahovanih iz tropskih biljaka (Alonso-Diaz et al., 2012).

S druge strane, neki autori nisu pronašli proteine iz pljuvačke koji imaju afinitet ka vezivanju sa taninima iz hrasta kod mediteranskih rasa koza, iako su tri meseca bile izložene ishrani bogatoj taninima (Hanovice-Ziony et al., 2010). U pljuvački ovaca nije došlo do promena u proteinskom profilu pljuvačke pri dodavanju tanina poreklom iz hrasta (Ammar, et al., 2010; Salem et al., 2013), dok je pokazano da pljuvačka ovaca nije naročito bitna za neutralizaciju tanina (Ammar et al., 2013).

Međutim, kada su ovce izložene uticaju hrane bogate taninima, može doći do promena u lučenju pljuvačnih žlezdi, odnosno može doći do promena u sastavu pljuvačke. Naime, dodatkom

tanina poreklom iz *L. latisiliquum* primećeno je da su proteini iz pljuvačke imali veći afinitet za tanine od kontrolne grupe, koja nije dobijala tanine (Vargas-Magana et al., 2013).

Iako tanini mogu uticati na pojavu adstringentnog ukusa hraniva, esparzeta je veoma ukusna za preživare, što se objašnjava umerenim sadržajem tanina (5 - 22 mg/g svežeg lisnog materijala) i velikom molekulskom masom polimera, te je moguće da su proteini pljuvačke manje reaktivni sa njima (McMahon et al., 1999a).

Vezivanjem tanina za mukoproteine pljuvačke ili proteine hrane, stvaraju se nerastvorljivi kompleksi koji onemogućavaju mikrobiološku degradaciju proteina u buragu, ali kompleksi disosuju pri pH vrednostima nižim od 3,5, čime se omogućava hidroliza i apsorpcija proteina u sirištu i tankim crevima. Tanini samim tim smanjuju koncentraciju rastvorljivih proteina u buragu, čime limitiraju proizvodnju stabilne pene koja je povezana sa pojavom naduna. Zbog svega navedenog, umerene koncentracije tanina mogu biti nutritivno korisne za preživare koji se hrane svežom hranom (Waghorn et al., 1987a).

Ipak, neophodno je poznavanje i životinjske vrste, ali i tipa, izvora, i koncentracije tanina kada se ispituje uloga pljuvačnih proteina u konzumiranju tanina kod preživara. Poznavanje ove vrste interakcije (pljuvačni proteini-tanini) je od posebnog značaja za razvijanje ishrambenih strategija i programa.

### **3.3.3. Uticaj tanina na svarljivost**

Uticaji tanina na svarljivost hrane su vrlo kompleksni i mogu zavisiti od mnogo faktora. Uslovno se uticaji tanina mogu posmatrati kroz uticaje u buragu i sirištu, uticaje na svarljivost u tankim i debelom crevu, ali i uticaje na svarljivost organske ili suve materije u celom digestivnom traktu.

#### **3.3.3.1. Uticaj tanina na svarljivost u buragu**

Kako je već napomenuto, tanini reaguju sa hranljivim materijama već u usnoj duplji, gde se usled žvakanja mešaju sa pljuvačkom i ostatkom biljnog materijala. Proteini sa kojima tanini reaguju mogu da potiču iz pljuvačke, mogu biti endogeni proteini ili biljni proteini koji postaju dostupni oštećenjem ćelija. Pored interakcije sa proteinima, tanini mogu reagovati i sa biljnim vlaknima (Perez-Maldonado i Norton, 1996).

U buražnim uslovima, tanini mogu biti različito metabolisani, a njihov kapacitet interakcije sa hranljivim materijama, bakterijama i mikrobijalnim molekulima ne zavisi samo od njihovog sadržaja u obroku, već i od hemijskih osobina (Valenti et al., 2021).

Buražne bakterije metabolišu proteine hrane zarad svog rasta i normalnog funkcionisanja, smanjujući količinu proteina iz hrane koja prolazi u sirište. Optimalno je da bakterije razgrade samo onu količinu proteina koja će zadovoljiti potrebe u azotu, kako bi se održala stabilna populacija koja će normalno da funkcioniše, razgrađuje vlakna i sintetiše mikrobijalni protein. Ipak, u praksi često dolazi do veće razgradnje proteina u buragu, i usled buražne fermentacije dolazi do produkcije velike količine amonijaka. Metode koje se mogu koristiti za smanjenje količine amonijaka koji se proizvodi u buragu preživara je korišćenje tanina u ishrani (Barry i Manley, 1986).

Uticaji tanina na svarljivost u buragu se, dalje, mogu uslovno podeliti na nekoliko funkcionalnih celina: uticaj na razgradivost proteina; uticaj na svarljivost ugljenih hidrata, uticaj na isparljive masne kiseline, uticaj na buražnu mikrofloru, i uticaj na produkciju gasova.

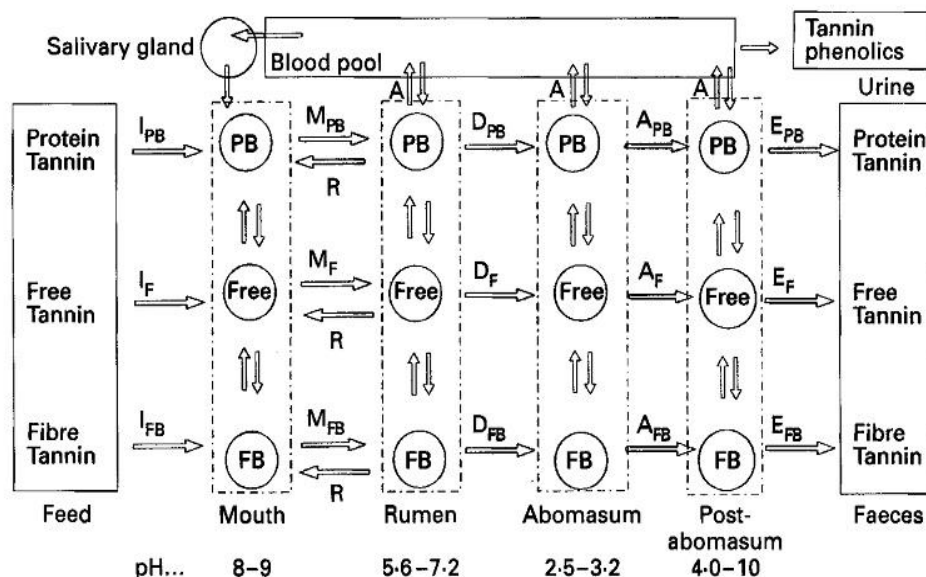
### 3.3.3.1.1. Uticaj tanina na razgradivost proteina

Proteini su jedna od najskupljih nutritivnih materija, i zato se teži njegovoj optimalnoj upotrebi, a to se može postići upotrebom tanina (Herremans et al., 2018). Tanini formiraju stabilne komplekse sa proteinima pri pH 5,6 – 7,2, pri čemu smanjuju njihovu svarljivost u buragu (Perez-Maldonado i Norton, 1996). Na Slici 3.6. je prikazan potencijalni model pasaže tanina i njihov uticaj na digestivni trakt kod preživalara. Tanini se povezuju sa proteinima i stvaraju veze koje su otporne na proteazu mikroorganizama, naročito tanini iz grupe CT, dok kompleksi koje stvaraju HT mogu biti razgradivi u različitom procentu (Niderkorn et al., 2011). Kao rezultat toga, manje amonijaka se sintetiše u buragu, gubitak azota urinom je smanjen, snabdevanje esencijalnim aminokiselinama je bolje balansirano, a samim tim, korišćenje azota je efikasnije (Min et al., 2003b). Kao posledica smanjene razgradivosti, dolazi do povećanog dotoka proteina u sirište, gde je elektrohemijska reakcija ispod 3,5 pri čemu dolazi do disocijacije kompleksa tanina i proteina, i posledično do oslobađanja aminokiselina i njihove apsorpcije u tankim crevima, o čemu će biti reči kasnije.

Ako je aktivnost vezivanja tanina sa azotom efektivnija od njihove antinutritivne aktivnosti, ovce imaju koristi od konzumiranja, dok ukoliko je aktivnost tanina ka vezivanju azota nižeg intenziteta od njihove antinutritivne i toksikološke aktivnosti, ovce neće imati koristi od takve ishrane, već naprotiv (Hutchings et al., 2006).

*In vitro* i *in vivo* ogledi su potvrdili da postoji redukcija efektivne razgradivosti proteina zahvaljujući prisustvu tanina u hrani, čime se povećava dotok nesvarenih proteina u post buražne partije digestivnog trakta, bez uticaja na post buražnu razgradivost (Hervas et al., 2004; Dentinho et al., 2014). Umerene količine CT (2 do 4% SM) smanjuju degradaciju proteina i bakterijsku aktivnost u buragu stvaranjem veza sa rastvorljivim proteinima i drugim makronutrijentima, u zavisnosti od pH reakcije (Min et al., 2003a).

Ipak, pored sadržaja, i od izvora tanina zavisi njihov uticaj na razgradivost proteina u buragu.



**Slika 3.6: Model pasaže tanina kroz digestivni trakt preživalara (Perez-Maldonado i Norton, 1996) gde su: F- slobodni tanini, PB – vezani za protein, FB – vezani za vlakna; I – konzumirani CT iz hrane ( $I_F + I_{PB} + I_{FB}$ ); M – sažvakani CT koji ulazi u burag ( $M_F + M_{PB} + M_{FB}$ ); R – preživanje/ponovno žvakanje CT ( $R_F + R_{PB} + R_{FB}$ ); D – buražna digesta CT koja ide u sirište ( $D_F + D_{PB} + D_{FB}$ ); A – abomazalna digesta koja ide u tanka creva ( $A_F + A_{PB} + A_{FB}$ ), E – CT koji se izlučuje u feces ( $E_F + E_{PB} + E_{FB}$ )**

U *in vitro* istraživanju dodavanjem tanina iz žutog zvezdana došlo je do smanjenja rastvorljivosti lucerkinih proteina od 41,5% do 23,8% (Julier et al., 2003). I u *in vivo* istraživanju, tanini iz žutog zvezdana (39,5 – 44,5 g CT/kg SM) su uticali na smanjenu buražnu degradaciju proteina u buragu (Wang, 1996a). Iako je ova osobina primećena kod ovaca, Min i Solaiman (2018) navode da se ova pojava kod koza ne javlja uvek, zbog neutralizacije tanina proteinima pljuvačke. Kod žutog zvezdana, pokazano je da su tanini smanjili degradaciju proteina u buragu, i povećali nivo apsorpcije aminokiselina, naročito esencijalnih (Waghorn et al., 1987b). Ispitivanjem uticaja na svarljivost dva varijeteta žutog zvezdana, sa visokim (30 g/kg SM) i niskim (10 g/kg SM) sadržajem tanina, ustanovljeno je da sadržaj tanina ne utiče na promene u pH vrednosti buraga, ali da je razgradivost sirovog proteina u buragu bila za 9% niža kod ovaca hranjenih visokim koncentracijama (Chiquete et al., 1989). Korišćenjem žutog zvezdana u ispaši ovaca i jagnjadi primećen je povećani nivo cistina u krvnoj plazmi, što je u vezi sa smanjenjem degradacije metionina i cisteina u buragu, uslovljenih efektima tanina (Ramirez-Restrepo et al., 2004). Ova pojava je ustanovljena i smanjenim nivoom neorganskih sulfata u plazmi kod kontrolnih životinja, i povećane transulfuracije metionina u cistin (Wang et al., 1994).

Perez-Maldonado i Norton (1996) su ustanovili da je pri sadržaju tanina od 15 g/kg SM smanjena razgradivost proteina u buragu i povećan dotok proteina u tanka creva. Ovi autori navode da je prilikom ishrane barskim zlatanom, čiji je sadržaj tanina bio visok (100 g/kg SM), došlo do smanjene koncentracije amonijaka u buragu ovaca. Pored ove biljne vrste, isti autori su utvrdili i da velike količine tanina (preko 40 g/kg SM) poreklom iz biljke *C. calothyrsus* značajno smanjuju koncentracije amonijaka u buragu.

Tanini dodati u vidu kikirikijevih opni, u kompletnom obroku (TMR) ovaca i krava su, pri količini 40 g CT/kg SM, uticali na smanjenje buražnog neamonijačnog azota i koncentracije uree u krvnoj plazmi ovaca, ali i na povećanje prinosa mleka kod krava (Mashudi et al., 1997).

Besharati i Taghizadeh (2009) su ustanovili da se razgradivost SP u buragu u *in vivo* ogledu smanjivala sa povećanjem suve komine grožđa u obroku, što se objašnjava uticajem tanina na proteine hrane, ali i na buražne mikroorganizme jer im se, vezivanjem tanina za proteine, smanjuje dostupnost proteina. Pored sirovog proteina, dodatkom suve komine grožđa se smanjivala i svarljivost organske (OM) i suve materije obroka, ali nisu ustanovljene značajne statističke razlike.

U *in vivo* ogledu, korišćena je sojina sačma sa dodatkom tanina u količini od 15 g/kg (tanini poreklom iz *Cistus ladanifer* L.), i ustanovljeno da je došlo do smanjenja razgradivosti proteina u buragu, bez uticaja na svarljivost suve i organske materije u digestivnom traktu (Dentinho et al., 2014).

Dodavanjem taninske kiseline u obrok ovaca je smanjen nivo degradacije azota (Hervas et al., 2000). Naime, za potrebe ogleda, 100 g sojine sačme je prskano sa 100 ml destilovane vode koja je sadržala 0 g, 1 g, 5 g, 10 g, 15 g i 25 g komercijalnog preparata taninske kiseline. Pored smanjene degradacije azota, doze preko 10 g su smanjile i nivo svarljivosti suve materije u buragu. Efekat dodavanja HT je izraženiji kod azota nego suve materije, zbog snažnog afiniteta ka vodoničnim vezama fenolnih grupa molekula tanina sa peptidnim grupama. Ovo pokazuje da, iako HT mogu da se razlože u buragu delovanjem buražnih mikroba, oni mogu do određene mere da zaštite proteine od razgradnje.



### 3.3.3.1.2. Uticaj tanina na svarljivost ugljenih hidrata

Iako tanini imaju najveći efekat na svarljivost proteina, oni mogu imati efekat i na ugljene hidrate, delimično hemicelulozu, celulozu, skrob i pektine, što je smatrano sekundarnim antinutritivnim efektom (Schofield et al., 2001; Barbehenn i Constabel, 2011). Smanjena svarljivost vlakana u buragu usled prisustva tanina zavisi od dela sastava ćelijskog zida koji je inkubiran. Vezivanje CT za vlakna iz ćelijskog zida se verovatno dešava prilikom oštećenja biljnih ćelija, a postoje pretpostavke da se oni zapravo vezuju za proteine koji se nalaze u matriksu ćelijskog zida (Perez-Maldonado i Norton, 1996). Istraživanja pokazuju da može doći do značajnog smanjenja svarljivosti vlakana u buragu prilikom konzumiranja hraniva bogatih taninima (Hervas et al., 2003a). Isti autori navode da mehanizmi po kojima tanini smanjuju buražnu svarljivost vlakana nisu u potpunosti objašnjeni, ali neki od najprihvaćenijih su onemogućavanje mikroorganizmima da kolonizuju supstrat, inhibicija enzima i direktan uticaj na buražnu mikrofloru (Ghasemi et al., 2012). Tanini mogu sprečiti, ili barem smanjiti, kolonizaciju buražnih mikroorganizama na ćelije biljnog zida, koja je ključna za početak razgradnje (McAllister et al., 1994), a samim stvaranjem kompleksa sa ugljenim hidratima oni postaju nedostupni mikroorganizmima (Mueller-Harvey i McAllan, 1992). Tanini mogu da smanje svarljivost vlakana stvarajući i komplekse sa lignocelulozom i sprečavajući mikrobijalnu kolonizaciju i degradaciju, ili direktno inhibirajući celulolitičke mikroorganizme, ili oba (McSweeney et al., 2001).

Dodavanjem kestenovih tanina (komercijalni preparat Farmatan<sup>®</sup>) u različitim koncentracijama (0,33; 0,67 i 1,33 mg/ml) u *in vitro* istraživanju degradacije celuloze, izmenjeni su kintetički parametri fermentacije, najverovatnije stvaranjem kompleksa sa supstratom koji nisu podložni fermentaciji, i smanjenjem aktivnosti mikroorganizama i/ili mikrobijalnih enzima (Sivka i Lavrenčić, 2007). Dodavanjem tanina iz kestena (*Castanea sativa*) ili valee (*Quercus valonea*) koji su sadržali 68,6%, odnosno 63,3% taninskih fenola u suvoj materiji, konstatovana je smanjena svarljivost SP, ali ne i vlakana (rastvorljivih u neutralnom - NDF i kiselom deterdžentu - ADF) u odnosu na kontrolu (Wischer, 2014). Takođe, kod taninskih grupa je uočena značajna promena azota iz urina do fecesa.

Poznato je da se tanini bolje vezuju i inhibiraju aktivnost ekstracelularnih enzima od onih koji su u ćeliji (Hervas et al., 2003a). Budući da su tanini efikasni u inhibiranju hemicelulaze, brojni radovi su ukazali na smanjenu razgradnju hemiceluloze u prisustvu tanina, iako ovaj efekat može zavisiti od samog izvora tanina (Waghorn et al. 1994). Tako, na primer, hemiceluloza je osetljivija na inhibitorne efekte tanina u poređenju sa celulozom, što delimično može objasniti razlike primećene u efektima tanina iz kvebraha na nestanak NDF u *in situ* inkubaciji materijala (Hervas et al., 2003b).

Povišene količine tanina iz kvebraha (166 g/kg SM) dovode do negativnih posledica na svarljivost vlakana, ali i do pojave toksikoze kod ovaca (Hervas et al., 2003a).

Velike količine CT iz barskog zlatana (50-100 g izdvojivih CT/kg SM) su uticale na smanjeno konzumiranje hrane i smanjili su buražnu svarljivost SM, organske materije i vlakana (Barry i Duncan, 1984). Ispitivanjem uticaja na svarljivost organske materije dva varijeteta barskog zlatana, sa visokim (106 g/kg SM) i niskim (46 g/kg SM) sadržajem tanina u ishrani ovaca, došlo se do zaključaka da je sadržaj tanina uticao na svarljivost određenih hranljivih materija (Barry i Manley, 1984). Tako, svarljivost celuloze i hemiceluloze je bila bolja kod niskih količina tanina, kao i svarljivost lignina. Iako tanini nisu uticali na svarljivost fermentabilnih ugljenih hidrata (šećeri rastvoreni u vodi i pektini), svarljivost OM i energije je bila niža kod visokih koncentracija tanina. Svarljivost vlakana (NDF i ADF) se linearno smanjivala dodavanjem suve komine grožđa, i te razlike su statističke značajne (Besharati i Taghizadeh, 2009).

Paradoksalno, iako svarljivost strukturnih ugljenih hidrata može biti smanjena, bilans azota se poboljšava kod životinja hranjenih taninima, što se može objasniti povećanjem dotoka mikrobijalnog proteina u distalne delove digestivnog trakta (Makkar et al., 1988).

### 3.3.3.1.3. Uticaj tanina na masne kiseline u buragu

Isparljive masne kiseline predstavljaju oko 70-80% apsorbovane energije kod preživara, koja se koristi i za glukoneogenezu i za proizvodnju mleka.

U *in vitro* ispitivanju uticaja 1,5% SM ekstrakta kestenovih tanina (750 g ekvivalenta taninske kiseline/kg SM) na buražnu fermentaciju, ustanovljeno je da je dodatak kestenovih tanina smanjio koncentraciju amonijaka, ali nije uticao na produkciju gasa i produkciju isparljivih masnih kiselina (Sarnataro i Spanghero, 2020). Tanini iz kestena u *in vitro* ispitivanju su smanjili sadržaj linolne i linoleinske kiseline, nisu uticali na ruminsku kiselinu, ali su imali uticaj na smanjenje stearinske i povećanje vakkenske kiseline (Morales i Ungerfeld, 2015).

Prilikom poređenja uticaja tanina iz različitih izvora (mimoza, kesten i njihova kombinacija) na buražnu fermentaciju, utvrđeno je da je koncentracija isparljivih masnih kiselina niža prilikom dodavanja mimoze (sadržaj tanina 683-723 g/kg) nego kestena (sadržaj tanina 650 g/kg) (Costa et al., 2018).

Poređenjem antioksidativnog kapaciteta tanina iz dva izvora (kvebraho i kestena) utvrđeno je da su kestenovi tanini imali veći redukujući kapacitet, i doveli su do veće sinteze masnih kiselina kratkog lanca, dok su kvebrahovi tanini imali veću antiradikalnu aktivnost (Molino et al., 2018).

Burke et al. (2006) su, ispitujući *in vitro* produkciju isparljivih masnih kiselina ustanovili da su najveći uticaj na produkciju imale leguminoze, ali da je kod onih koje su sadržale tanine uočena niža produkcija.

Selje et al. (2007) su utvrdili da biljke bogate taninima nemaju uticaj na inhibiciju proizvodnje masnih kiselina kratkog lanca, ali su uticale na smanjenu proteolizu u buragu, dok je inhibicija proteolize reverzibilna sa dodatkom PEG. S druge strane, Utsumi et al. (2013) su, ispitujući uticaj tanina iz kleke u obrocima ovaca i koza, utvrdili da proteini, terpeni, tanini i PEG, kao i njihove međusobne interakcije, mogu uticati na koncentraciju isparljivih masnih kiselina u buragu, ali i na koncentraciju aminokiselina u krvnoj plazmi.

Poređenjem uticaja kestenovih i kvebraho tanina, Buccioni et al. (2015b) su došli do zaključaka da tanini iz različitih izvora imaju različit uticaj. Naime, kada su ovcama davani kestenovi tanini, količina isparljivih masnih kiselina i acetata je porasla, i pratila ju je relativno velika populacija *B. fibriosolvens*. S druge strane, kada su ovcama davani kvebraho tanini, došlo je do smanjenja produkcije ukupnih isparljivih masnih kiselina i acetata.

### 3.3.3.1.4. Uticaj tanina na buražnu mikrofloru

Literaturni podaci i mišljenja autora pokazuju raznolikost i oprečnost o uticaju tanina na buražnu mikrofloru, kako u inhibiciji mikroorganizama, tako i u mikrobijalnoj degradaciji tanina. Ipak, kao tri najčešća štetna mehanizma delovanja tanina na mikroorganizme, Cannas (2018) navodi:

- Inhibiciju enzima i nedostatak supstrata
- Aktivnost na membranama
- Deprivaciju (nedostatak) metalnih jona

Makkar et al. (1995b) su ustanovili da mikroorganizmi buraga ne razlažu CT, dok je crevna mikroflora ljudi i pacova u mogućnosti da izazove strukturne promene u CT (Deprez et al., 2000; Abia i Fry, 2001). S druge strane, Perez-Maldonado i Norton (1996) su, prateći frakcije CT (slobodne, vezane za proteine i vezane za vlakna), ustanovili da mikroorganizmi buraga mogu doprineti degradaciji i svarljivosti jednog dela slobodnih CT. McSweeney et al. (2001) ukazuju da tanini mogu da deluju

direktno, inhibitorno na celuloitičke mikroorganizme, ili da spreče mikrobijalnu kolonizaciju i degradaciju stvaranjem komplekse sa lignocelulozom, ili kombinacijom ovih efekata.

Dugoročni efekti tanina na buražni mikrobijalni ekosistem još uvek nisu dovoljno ispitani, ali se potencijalno veliki kapacitet za adaptaciju može očekivati usled činjenice da neke vrste buražnih bakterija mogu da rastu metabolišući fenolna jedinjenja (Aerts et al., 1999). O'Donovan i Brooker (2001) tvrde da je veliki broj vrsta buražnih mikroorganizama tolerantan na relativno visoke koncentracije tanina i ovaj efekat je uglavnom povezan sa dozom i vremenom izloženosti. Naime, oni su pokazali da neke proteolitičke bakterije iz buraga imaju mogućnost modifikovanja metabolizma i time obezbeđuju selektivnu prednost u odnosu na druge sojeve kada rastu u prisustvu fenolnih jedinjenja. Ove bakterije su, stoga, inicijalno osetljive na tanine i ovo može, donekle, da objasni smanjenje buražne degradacije kada se mere prve dve nedelje dodavanja tanina.

S druge strane, HT mogu da se delimično (ili potpuno) razlože u buragu delovanjem buražnih mikroba. Neke buražne bakterije mogu enzimski da razruše strukturalne veze kod HT i da koriste ove produkte razlaganja (Hervas et al., 2000).

Ispitivanjem odgovora na tanine u pogledu modifikacije u morfologiji mikroorganizama, utvrđeno je da visoke koncentracije tanina (pretežno PA) iz žutog zvezdana izazivaju stvaranje glikokaliksa kod buražnih bakterija (Aerts et al., 1999). Takođe, isti autori navode da buražne gljivice i plesni koje su rasle u prisustvu tanina iz žutog zvezdana su bile pokrivene filamentoznim materijalom, najverovatnije usled formiranja kompleksa tanina i proteina. Naime, kao jedan od mehanizama odbrane, mikroorganizmi mogu da sintetišu polimere koji se vezuju sa taninima, čime ih neutrališu (Cannas, 2018). Chiquete et al. (1989) su utvrdili da su životinje hranjene visokim sadržajem tanina iz žutog zvezdana (30 g/kg SM) imale veći broj protozoa u buragu od onih hranjenih niskim sadržajem tanina (10 g/ kg SM).

Tanini poreklom iz žutog zvezdana i barskog zlatana su efikasni u inhibiciji razvoja proteolitičkih bakterija, ali je u *in vitro* istraživanju ustanovljeno jače dejstvo tanina poreklom iz barskog zlatana (Molan et al., 2001).

U *in vitro* ispitivanju uticaja 1,5% SM proizvoda sa kestenovim taninima (750 g ekvivalenta taninske kiseline/kg SM) na buražnu fermentaciju, ustanovljeno je da je došlo do povećanja broja neceluloitičkih bakterija, kao što su *P. ruminicola* i *S. ruminatum*, koji koriste amonijak za sintezu aminokiselina (Sarnataro i Spanghero, 2020).

Prilikom poređenja uticaja tanina iz različitih izvora (mimoza, kesten i njihova kombinacija) na buražnu fermentaciju, populacije određenih bakterija su bile malobrojnije kod dodavanja mimoze, te su autori zaključili da tanini iz mimoze imaju veći inhibitorni efekat na buražnu fermentaciju od tanina poreklom iz kestena (Costa et al., 2018).

Dodavanjem mešavine ekstrakata kvebraho i kestenovih tanina (2:1) u količini 2 g/kg SM obroka došlo je do promena sastava buražne mikroflore, jer su populacije bakterija koje vrše razgradnju ugljenih hidrata (vlakana i skroba) smanjene, uz istovremeno povećanje pH vrednosti buraga (Carrasco et al., 2017).

Posmatranjem uticaja kvebraho tanina (9,57% SM obroka na bazi ječma) u ishrani jagnjadi, Vasta et al. (2010b) su utvrdili da su tanini uticali na smanjenje buražne populacije *Butiryvibrio proteoclasticus*, a na povećanje populacije *Butiryvibrio fibriosolvens* i populacije protozoa, čime je došlo do promena u toku biohidrogenizacije.

Tanini, naročito CT, imaju direktan uticaj na smanjenje populacije, rast i aktivnost metanogenih bakterija, kao što su *Methanomicrobium* i *Methanobrevibacter* (Mahachi et al., 2020). Alternativno, tanini sprečavaju rast i aktivnost fibrolitičkih bakterija i protozoa, čija je uloga u metanogenezi ta da menjaju koncentraciju buražnog vodonika, čime dolazi do smanjene dostupnosti supstrata potrebnih za produkciju metana (Min i Solaiman, 2018; Vasta et al., 2019). Posledično, pored smanjene produkcije metana, tanini mogu dovesti i do smanjene svarljivosti vlakana u buragu, a time i do smanjene produkcije acetata.

Pored mikroflore buraga, tanini mogu uticati i na mikroorganizme u distalnim delovima digestivnog trakta. Tako, ispitivana je antimikrobna uloga tanina na *Campylobacter* bakterije i utvrđeno je da su navedene bakterije najosetljivije na florotanine poreklom iz braon algi (*Ecklonia kurome*), što su objavili Nagayama et al. (2002), ali i da tanini iz drugih izvora imaju inhibitorno dejstvo na *Campylobacter jejuni* (Anderson et al., 2012). Naime, navedeni autori su, ispitujući tanine iz kupine, brusnice, kestena, mimoze, kvebraha i sirka utvrdili da oni imaju inhibirajuće dejstvo na navedene bakterije, što se može objasniti deprivacijom hranljivih materija i metalnih jona, ali i uticajem na ćelijske membrane.

### 3.3.3.1.5. Uticaj tanina na produkciju gasova

Usled uticaja na hranljive materije, ali i mikrofloru buraga, tanini mogu smanjivati stopu i obim produkcije gasa (Frutos et al., 2004a). Ovo je najverovatnije posledica redukcije kolonizacije mikroba na čestice hrane (Hervas et al., 2003a) i specifične inhibicije buražne degradacije kroz inhibiciju rasta mikroorganizama i aktivnosti mikrobijalnih enzima (McSweeney et al., 2001; Mahachi et al., 2020).

Metan je jedan od gasova staklene bašte, i smatra se da metan proizveden od preživara čini oko 28% od ukupnog antropogenog metana (Beauchemin et al., 2008). Preživari su, stoga, glavni proizvođači metana iz poljoprivrede koji završi u atmosferi (Pulina et al., 2017), te je njima posvećena velika pažnja od strane zainteresovane javnosti i donosioca odluka (Tedeschi et al., 2014). Pored ekološkog, veliki problem u ishrani preživara je i gubitak vodonika i ugljenika u formi metana koji se izlučuje u atmosferu podrigivanjem, jer se na taj način smanjuje iskoristivost energije. Metan je produkt anaerobne fermentacije ugljenih hidrata iz hrane i kao takav je kompetent povoljnijem proizvodu fermentacije, propionatu, i drugim masnim kiselinama male molekulske mase (Aboagye et al., 2018). Produkcija metana u buragu nije samo ekološki problem, već i ekonomski, jer predstavlja gubitak od 5-8% (Makkar i Vercoe, 2017), odnosno 2-12% (Paengkoum et al., 2015) ukupne energije unete ishranom. Tanini imaju uticaj na smanjenje produkcije metana, ali su rezultati, u zavisnosti od izvora, tipa i koncentracije, veoma varijabilni i kreću se od 2% do 58% u odnosu na kontrolu. Tako, Jayanegara et al. (2012) su poređenjem rezultata iz više istraživanja utvrdili da se sa povećanjem količine tanina u ishrani iznad 20 g/kg SM obroka smanjivala količina proizvedenog metana. Ovo smanjenje produkcije se objašnjava dvojako, direktnim uticajem na rast i aktivnost metanogenih bakterija i protozoa (Cieslak et al., 2013) ili indirektnim uticajem preko smanjene svarljivosti vlakana (Jayanegara et al., 2012), o čemu je već bilo reči. Ispitivanjem uticaja kestenovih tanina, utvrđeno je da su efikasni u smanjenju stope metanogeneze bez uticaja na produkciju acetata (Manelli et al., 2019). Samim tim, dodavanje kestenovih tanina u obroke preživara može biti efikasna strategija u smanjenju proizvodnje metana bez uticaja na performanse životinja. Sliwinski et al. (2002) su, s druge strane, ustanovili da dodavanje preparata kestenovih tanina u koncentraciji 1 g i 2 g po kg SM utiče na blago povećanje produkcije metana u odnosu na kontrolu. Archimede et al. (2011) su utvrdili da je produkcija metana bila niža kod životinja hranjenih hranom sa visokim sadržajem tanina od onih hranjenih leguminozama sa niskim sadržajem tanina. Taninski preparat iz hrasta sadrži približno 75% tanina (u odnosu na SM) i male količine prostih fenola i postoje indikacije da ovaj preparat dovodi do smanjenog nivoa produkcije metana i gasova u buragu (Frutos et al., 2004a). Ova sposobnost se pripisuje kapacitetu tanina da se vezuju sa molekulima i polisaharidima i da smanjuju aktivnost mikrobijalnih enzima (Min et al., 2006).

Konzumiranje esparzete pokazuje potencijal u smanjenju azotnog zagađenja i emisije gasova staklene bašte, pre svega metana od strane preživara (Hatew et al., 2011). Kod angorskih koza koje su u obroku dobijale hraniva koja sadrže tanine (*Sericea lespedeza*) i kontrole, ustanovljeno je da su tanini uticali na smanjenu produkciju metana (Puchala et al., 2005). S druge strane, dodavanje taninskog

preparata poreklom iz mimoze (*Mimosa tenuiflora*, 720 g CT /kg SM) u količini od 30 g/kg obroka ovnova nije uticalo na produkciju metana u odnosu na životinje koje nisu dobijale tanine (Lima et al., 2019).

### 3.3.3.2. Uticaj tanina na svarljivost u distalnim delovima digestivnog trakta

Tanini mogu da utiču na dotok i apsorpciju hranljivih materija iz buraga. Utvrđeno je da tanini različitih biljnih vrsta imaju različit efekat u crevima.

Veliki deo kompleksa tanina i proteina, u zavisnosti od kapaciteta vezivanja, se disosuje u uslovima kisele sredine sirišta, čime se oslobađaju obe komponente u digestu (Patra i Saxena, 2011). U uslovima neutralne pH vrednosti, kompleksi se opet mogu formirati, ali se smatra da je manja verovatnoća da se to desi u uslovima alkalne sredine (Naumann et al., 2017). Isti autori navode da afinitet i snaga vezivanja proteina i tanina, utiču na svarljivost proteina kroz digestivni trakt. Iako nije u potpunosti jasan dalji put tanina u kontekstu interakcija sa proteinima, postoji nekoliko pretpostavki. Jedna od njih ukazuje da se tanini depolimerišu hidrolizom interflavonskih veza u kiseljoj sredini, kakva se nalazi u sirištu (Naumann et al., 2017).

Međutim, ako se CT ne razgrade u buragu ili sirištu, postoji mogućnost da stvore nove komplekse sa proteinima, peptidima i aminokiselinama. Perez-Maldonado i Norton (1996) su, dodavanjem CT u obroke ovaca i koza, ispitivali tri oblika CT koji se nalaze u digestivnom traktu: slobodni, vezani za proteine ili vezani za vlakna (Slika 3.6). Ustanovljeno je da je mala količina slobodnih CT stigla do tankih creva iz sirišta, ali da su značajne količine slobodnih CT generisane iz kompleksa sa proteinima i vlaknima, te se pretpostavlja da su ovi kompleksi disosovani u duodenumu usled visoke pH vrednosti sredine, prisustva deterdžentskih supstanci i žučnih sekreta.

Nasuprot, postoje mišljenja da jednom formirani kompleksi ne disosuju u zavisnosti od pH vrednosti. Tako, Diaz-Hernandez et al. (1997) navode da je inkubacija kompleksa protein-tanin sokom iz sirišta i tankih creva dovela do otpuštanja oko polovine proteina u kompleksima i smatra se da je to posledica proteolitičke aktivnosti enzima digestivnog trakta, pre nego promena u pH vrednosti. Dalje analize su pokazale da su pepsin i tripsin veoma odgovorni za disocijacije koje se javljaju u sirištu i tankim crevima. Pri zakišeljavanju kiselinama ili alkalizovanju bazama disocijacija taninsko-proteinskih kompleksa se desila u opsegu samo 8 do 14%, ali dodatkom tečnosti iz sirišta i tankih creva i kod ovaca i kod goveda disocijacija kompleksa je bila veća od 60% (Makkar, 2003). S druge strane, Hervas et al. (2000) su ukazali na to da pored pH vrednosti i prisutnosti enzima, na svarljivost utiče i sadržaj, odnosno količina dodatih tanina. Navedeni autori su davanjem soje tretirane rastvorom taninske kiseline utvrdili da količine veće od 10 g taninske kiseline/ 100 g soje dovode do smanjene svarljivosti proteina, tj da su kompleksi otporni na dejstvo crevne proteaze, kao i da delovanje mikroorganizama nije bilo dovoljno da prevaziđe efekte navedenog izvora tanina.

Pored interakcija sa proteinima, tanini mogu uticati i na smanjenje svarljivosti masti. Li et al. (2019) su utvrdili da tanini (CT) mogu da inhibiraju svarljivost lipida do određene mere, usled interakcije sa žučnim solima. Naime, navedeni autori su ustanovili da CT iz banane stvaraju komplekse sa žučnim solima, uz pojavu negativne entalpije i pozitivne entropije, što može ukazivati da se povezivanje dešava preko vodoničnih veza i hidrofobnih interakcija. Prilikom vezivanja žučnih soli za tanine, smanjuje se njihova sposobnost vezivanja lipida, pri čemu se povećava njihovo izlučivanje iz organizma.

### 3.3.3.2.1. Uticaj tanina na dotok hranljivih materija

Istraživanja su pokazala da korišćenjem malih količina tanina u hrani, usled smanjenog nivoa degradacije proteina u buragu, više proteina dolazi do creva, što dovodi do njihovog boljeg korišćenja (Barry et al., 1986a). Poređenjem neamonijačnog azota (izraženog po jedinici konzumiranog azota) koji dolazi do abomazuma i duodenuma, i koncentracija tanina iz *Lotus spp.*, utvrđeno je da se ukupni dotok neamonijačnog azota povećava sa povećanjem koncentracije tanina (Barry et al., 2001). Isti autori su pokazali da je ovo u suprotnosti sa mikrobijalnim azotom, koji ne pokazuje promene u dotoku u abomazum i duodenum pri povećanju koncentracije tanina. Pored povećanog dotoka neamonijačnog azota, tanini posledično mogu da utiču na povećani dotok i esencijalnih aminokiselina u tanka creva, kao i na povećanje nivoa aminokiselina (AK) koje sadrže sumpor u krvnoj plazmi (Waghorn et al., 1987a). Isti autori su izračunali da je trend povećanja dotoka neamonijačnog azota do tankih creva 0,0046 g/ g CT za *Lotus spp.* Ako se ova pretpostavka prenese za taninski preparat iz mimozine kore, 100 g preparata po danu bi povećao dotok neamonijačnog azota do tankih creva za 0,23 g/dan.

Ispitujući isti izvor tanina (mimozini tanini, 50 g/kg preparata, tj 15 g/kg SM obroka), Avila et al. (2015) su utvrdili da je dotok organske materije, azota i  $\alpha$ -amino azota bio povećan dodavanjem tanina, dok je dotok mikrobijalnog azota bio nepromenjen.

### 3.3.3.2.2. Uticaj tanina na dotok i apsorpciju aminokiselina

Ukoliko tanini ostaju biološki aktivni u alkalnoj sredini u tankim crevima, moguće je da se mešaju sa proteinima zaduženim za transport AK.

Međutim, ukoliko i postoje takve interakcije, one mogu biti pozitivne jer prividna apsorpcija aminokiselina u tankim crevima je značajno povećana pri ishrani sulom od 45 g/dan do 52 g/dan (Waghorn et al., 1987a). Kod sule, aktivni tanini su poboljšali prividnu apsorpciju aminokiselina u tankim crevima, bez obzira na smanjenje svarljivosti aminokiselina u crevima jer je došlo do velikog povećanja dotoka AK (Birmingham et al., 2001). Isti autori navode da su tanini iz esparzete uticali na povećanje dotoka aminokiselina u tanka creva, ali je došlo i do blagog smanjenja svarljivosti, tako da tanini nisu uticali na prividnu apsorpciju aminokiselina. Razlike u svarljivosti i apsorpciji AK pri ishrani ovaca esparzetom i sulom mogu se pripisati različitim hemijskim osobinama tanina u svakom hranivu, uključujući i strukturu (Birmingham et al., 2001). Dalja istraživanja su pokazala da su tanini iz sule (64 g/kg SM) uticali na povećanje stepena apsorpcije esencijalnih aminokiselina za 20%, dok nije primećeno povećanje pri korišćenju tanina iz esparzete (38,1 g/kg SM).

Min et al. (2003a) navode da konzumiranje CT ispod 50 g/dan može doprineti povećanoj dostupnosti i apsorpciji aminokiselina. Aplikacijom buražne i duodenalne fistule ovcama, ustanovljeno je da je, kod životinja koje su dobijale obrokom 2,2 – 3,6 % tanina poreklom iz žutog zvezdana, bolja apsorpcija ukupnih aminokiselina u crevima, nego kada je uticaj tanina poništen dodatkom PEG (Waghorn et al., 1987b). Naime, kod kontrole (bez dodatka PEG) je ustanovljena bolja apsorpcija esencijalnih aminokiselina za 62%, ali i 9% lošija apsorpcija ne-esencijalnih aminokiselina u odnosu na grupu koja je dobijala PEG. Autori navode da iako je svarljivost aminokiselina u obe grupe bila slična, bez značajnih razlika, nešto niža je bila za aspartat, serin, glutamat, alanin i prolin. Tanini iz žutog zvezdana su značajno uticali na povećanje količine apsorbovanih esencijalnih aminokiselina, dok je povećanje neznatno kod korišćenja tanina iz barskog zlatana. Ovo otkriće ukazuje da je, pored koncentracije, i struktura tanina značajna za određivanje njihovog efekta u ishrani preživara (Barry i McNabb, 1999).

Kondenzovani tanini iz barskog zlatana su uticali na povećan dotok neamonijačnog azota do sirišta, ali sa druge strane, ispoljen je negativan uticaj na svarljivost aminokiselina u tankim crevima, što utiče i na njihovu smanjenu apsorpciju. Uzroci nešto smanjene svarljivosti navedenih aminokiselina nisu još uvek razjašnjeni, ali ipak postoje dve teorije (Waghorn et al., 1987b). Po prvoj, kompleksi proteina i tanina nisu u potpunosti disocirani u tankim crevima, pri čemu se smanjuje efektivnost proteolitičkih enzima. Po drugoj, tanini su i dalje aktivni u tankim crevima i mešaju se sa proteinima i enzimima uključenim u varenje. McNabb et al. (1993) su isptivali uticaj tanina iz barskog zlatana na svarljivost i metabolizam metionina, cistina i neorganskog sumpora u ishrani ovaca, gde je obrok sadržao 50-55 g CT /kg SM (kontrolna grupa), ili je u obrok dodavan PEG (PEG grupa). PEG grupa je izgubila 30% konzumiranog metionina i cistina preko buraga, dok kod kontrolne grupe nisu ustanovljeni ovi gubici. Dalje, apsorpcija metionina u tankim crevima je bila za 27% viša u kontrolnoj nego u PEG grupi, dok je apsorpcija cistina kod obe grupe bila slična. Navedeni autori su ustanovili da se u prisustvu tanina smanjila proteoliza proteina i razgradnja sumpornih aminokiselina do neorganskih sulfida u buragu, što je za posledicu imalo povećanje neto apsorpcije metionima i bolje korišćenje cistina, što povećava potencijal za proizvodnju vune.

### 3.3.3.2.3. *Uticaj tanina na svarljivost u debelom crevu*

Ukoliko tanini nisu svareni, onda oni mogu da predstavljaju gubitak potencijalno svarljivih hranljivih materija.

Iako postoje mišljenja da, zbog fenolne prirode molekula tanina i njihove sličnosti sa ligninom, ne dolazi do mikrobijalne degradacije u buragu ili debelom crevu, Marin et al. (2015) navode da je degradacija flavonola, flavanola, flavan-3-ola, izoflavona, flavona, lignana, CT i HT, u različitom stepenu, moguća u debelom crevu.

Perez-Maldonado i Norton (1996) su, praćenjem tri frakcije CT u digestivnom traktu ovaca i koza, ustanovili da je deo CT svaren, apsorbovan ili metabolisan od strane mikroorganizama iz cekuma i izlučen u vidu ne-fenolnih jedinjenja.

### 3.3.3.3. *Uticaj tanina na svarljivost hrane u celom digestivnom traktu*

Pored uticaja na razgradivost i dostupnost hranljivih materija u buragu i tankim crevima, tanini, posledično, utiču i na svarljivost organske i suve materije u celom digestivnom traktu.

Dodavanjem tanina poreklom iz kestena ili mimoze došlo je do smanjenja koeficijenata prividne svarljivosti silaže za SM, OM i NDF u odnosu na kontrolu u obroku ovaca, s tim što su mimozini tanini imali jači uticaj na smanjenje (Deaville et al., 2010). Dodavanjem 110 grama kestenovih tanina po kg sena u obrok koji je bio na nivou uzdržanih potreba za ovce i koze, došlo je do smanjenja svarljivosti suve i organske materije u odnosu na kontrolu, s tim što su efekti bili izraženiji kod ovaca nego kod koza (Zimmer i Cordesse, 1996).

De S. Costa et al. (2020) su ustanovili da dodavanjem CT iz mimoze do 40 g/kg SM obroka dolazi do poboljšane svarljivosti SM, dok sa pri sadržaju većem od preporučenog (60 g/kg i 80 g/kg SM obroka) izazivaju štetne efekte u buražnoj fermentaciji, a povećava se udeo i fekalnog azota kao pokazatelj narušene buražne fermentacije. Ispitivanjem različitih sadržaja (0, 1%, 3% i 5%) taninskog preparata iz mimoze (725 g tanina/ kg SM) na svarljivost organske materije kod ovaca, primećeno je da tanini od 1% nisu uticali na svarljivost, dok je značajno smanjena kod 3% (-21%) i 5% (-28%) u odnosu na kontrolu (Gerlach et al., 2018).

Količina CT 20-80 g/ kg SM poreklom iz biljke *Lespedeza juncea var. sericea* ima neutralan efekat na svarljivost obroka kod jagnjadi, ali je količina od 100 g/kg SM smanjila razgradivost proteina i svarljivost SM (Mahachi et al., 2020).

Ispitivanjem uticaja na svarljivost organske materije *in vitro* različitih sadržaja (0, 1%, 2% i 3% u SM smeše) kvebraho taninskog preparata (75% CT) došlo je do inhibitornih efekata na svarljivost organske materije pri nivoima od 2% i 3% (Al-Dobaib, 2009). Isti autor je, koristeći isti izvor tanina, zaključio da pri dodavanju od 2% u obrok za jagnjad dolazi do povećanog dotoka neamonijačnog azota u distalne delove digestivnog trakta, što je, posledično, povećalo prinos mesa.

Svarljivost organske materije obroka koji je sadržao 0,1% taninskog preparata (preparat sa 95% tanina) kod jagnjadi je veća u poređenju sa kontrolom, ali je svarljivost sirovog proteina bila niža (Zhao et al., 2019).

Umerene količine tanina ( $31 \pm 6$  g/kg SM) iz sule (*Hedysarum coronarium*), koji se sastoje od monomera cijanidina i delfinidina, dovele su do redukovane prividne svarljivosti sirovog proteina kod Sarda ovaca, bez uticaja na mlečnost (Molle et al., 2009). Isti efekat tanina na prividnu svarljivost je prethodno utvrđen kod jagnjadi hranjenih svežom sulom (Stienzen et al., 1996).

Redukcija degradacije proteina u buragu dovodi do niže stope proizvodnje amonijačnog azota u buragu. Rezultat toga je smanjenje azota u urinu i blago povećanje u fecesu, ukoliko se nesvarljivi kompleksi formiraju u digestivnom traktu (Jeronimo et al., 2016) i postoji mišljenje da je ovo posledica smanjene svarljivosti hrane (Burggraaf i Snow, 2011). Ipak, treba biti oprezan kod donošenja zaključaka, jer povećanje fekalnog azota može biti posledica nekoliko posebnih, ili združenih faktora. Waghorn (1996) navodi da povećanje fekalnog azota može biti posledica povećanog lučenja endogenih proteina (glukoproteini iz pljuvačke, sluz i digestivni enzimi, pa čak i deskvamacija ćelija creva), dok Perez-Maldonado i Norton (1996) povećanje ukupnog azota u fecesu objašnjavaju pre povećanjem ukupnog dotoka azota nego smanjenom apsorpcijom proteina u distalne delove digestivnog trakta. Oni navode dva glavna razloga za povećanje fekalnog azota kod životinja hranjenih CT:

- 1) dolazi do većeg dotoka proteina iz buraga, ili
- 2) značajne količine kompleksa protein-CT mogu da prođu nepromenjene kroz digestivni trakt i budu izlučene fecesom.

S druge strane, Naumann et al. (2017) ukazuju da jedan od razloga ove pojave može biti i ponovno stvaranje kompleksa CT i proteina, peptida i aminokiselina u distalnim delovima digestivnog trakta, što može doprineti njihovoj smanjenoj apsorpciji i dostupnosti životinjama.

### 3.3.4. Uticaj tanina na promene metaboličkog profila krvi

Sekundarna jedinjenja, i tanini koji im pripadaju, mogu uticati na održavanje homeostaze biohemijskih parametara krvi ili promeniti koncentracije određenih parametara krvi, kao što su glukoza u plazmi ili serumski insulin (Jovetić, 2020). Pored ovih, tanini mogu uticati na koncentracije hormona rasta, serumske uree, aktivnosti određenih enzima, fosfora i holesterola, odnosa albumin/globulin kao i na indikatore oksidativnog stresa.

Kod sisara, biotransformacija sekundarnih metabolita se dešava u jetri, obično kroz dve faze (Mote et al., 2007). U prvoj, reaktivne grupe, kao što su -OH, -NH<sub>2</sub>, -COOH ili -SH se vezuju za sekundarne metabolite čineći ih hidrofiličnijim i polarnijim. U drugoj fazi, novoformirano jedinjenje se konjuguje sa endogenim molekulima ili grupama - glukuronskom kiselinom, AK, sulfatima ili metil grupama, koje su hidrofilne. U zavisnosti od tipa sekundarnih jedinjenja, zavisi i njihova biotransformacija, pa se tako terpeni biotransformišu najčešće preko faze 1, dok tanini preko faze 2.



Iako se smatra da tanini ne mogu biti apsorbirani u krvotok i, pod normalnim fiziološkim uslovima, ne mogu uticati na oštećenje parenhimatoznih organa kao što su jetra, bubrezi i slezina, ovo je delimično tačno, jer se HT mogu razgraditi na niža jedinjenja (McSweeney et al., 2001; Singh et al., 2001). Kako je već navedeno, utvrđeno je da neki sojevi bakterija mogu da sintetišu enzim tanazu, koja utiče na razgradnju HT, pri čemu može doći do sinteze jedinjenja kao što je pirogalol i resorcinol, koji su toksični za preživare jer po apsorpciji mogu da izazovu ćelijska oštećenja, bubrežne i hepatične lezije, pa čak i smrt. Ova jedinjenja se metabolišu iz galne kiseline, koja nastaje enzimskom depolimerizacijom u buragu raskidanjem estarskih veza između glukoze i fenolnih podjedinica (Jeronimo et al., 2016). Pirogalol se može naći u velikim koncentracijama u buragu ovaca i izazvati methemoglobinemiju (Sahoo, 2011). Toksična jedinjenja u količini većoj od 20% HT mogu da izazovu nekrozu jetre, oštećenje bubrega sa proksimalnom tuberalnom nekrozom, lezije povezane sa hemoragičnim gastroenteritisom i visoku stopu mortaliteta, koja je ustanovljena kod ovaca i krava (Reed, 1995).

Ustanovljeno je da pri koncentraciji galne i taninske kiseline  $< 0,4$  mg/kg telesne mase ovaca dnevno u buragu može doći do detoksikacije ovih jedinjenja (Murdiati et al., 1992). Kada je u obroke ovaca dodato 8 g taninske kiseline po kg TM, došlo je, usled intoksikacije, do drastičnog povećanja methemoglobina u arterijskoj krvi, smanjenja oksihemoglobina, dok je pH vrednost krvi opala, dok su promene na jetri bile blage (Zhu et al., 1992).

Pod uslovima kada postoje određena oštećenja crevne sluzokože, CT se mogu apsorbirati u krv i izazvati slične promene parenhimatoznih organa kao i HT (Taghizadeh i Besharati, 2011). Do oštećenja sluzokože, ili iritacije ćelijskih membrana može doći i usled velikih količina tanina u obrocima.

Ne postoji mnogo informacija o dugoročnoj adaptaciji ovaca na tanine u ishrani. Utvrđeno je da tokom perioda od 8 nedelja, ovce delimično mogu da prevaziđu negativne efekte veoma velikih količina tanina u ishrani. Glavna fiziološka adaptacija na tanine je bila u povećanoj koncentraciji hormona rasta u krvnoj plazmi. U svom istraživanju, Barry (1984) je ustanovio da pri ishrani ovaca leguminoznom vrstom barski zlatan koncentracija hormona rasta (GH) u krvnoj plazmi se pozitivno i linearno povećavala sa porastom koncentracije CT u hrani. Barry et al. (1986b) su ustanovili da je pri ishrani barskim zlatanom (95 g CT/kg), primećeno da je nivo GH u krvnoj plazmi jagnjadi bio veći od jagnjadi kojima je aplikovan PEG radi neutralisanja uticaja tanina. Kod ovaca hranjenih prethodno pomenutom biljnom vrstom, linearna i pozitivna korelacija je ustanovljena između koncentracije reaktivnih tanina iz hrane i nivoa hormona rasta u krvnoj plazmi (Aerts et al., 1999). Hormon rasta stimuliše retenciju azota u organizmu životinje, i zbog toga veće koncentracije ovog hormona usled umerenih nivoa tanina u hranivima mogu da budu faktor poboljšanog metabolizma proteina. Poređenjem efekata tanina iz dve biljke, barskog zlatana i žutog zvezdana, kao i biljke koja ne sadrži tanine (engleski ljulj), ustanovljeno je da se značajno povećala koncentracija cisteina i glutationa u krvi kod ovaca hranjenih barskim zlatanom, dok tanini nisu uticali na sadržaj fenilalanina u krvi (Lee et al., 1992).

Značajno niža koncentracija uree u krvi krava koje su dobijale tanine, može ukazivati na efikasniju iskoristivost proteina hrane, a detekcija najniže koncentracije  $\beta$ -hidroksibuterne kiseline (BHBA) u krvi krava koje su konzumirale 40 g preparata kestenovih tanina (komercijalni preparat - Tanimil), bez promena na nivo glukoze, ukazuje da postoji pozitivan uticaj kestenovih tanina na zdravstveno stanje i metabolički profil krava (Jovetić, 2020). Sa dodatkom 20 g/dan istog preparata u obrok krava pred partus, takođe je utvrđena niža koncentracija uree u krvi, ali i veća koncentracija glukoze, kao i insulina, što se može dovesti u vezu sa nižim nivoom BHBA i ne-esterifikovanih masnih kiselina (Prodanović et al., 2021). Usled uticaja kestenovih tanina, koncentracija malonodialdehida (indikatora oksidativnog stresa), je smanjena u krvnoj plazmi krava u tranzicionom periodu (Liu et al., 2013). Dodavanjem kestenovih tanina (110 g preparata/kg sena), u obroku na nivou uzdržanih potreba odraslih ovaca, ustanovljeno je smanjenje holesterola u odnosu na kontrolu, dok nije bilo uticaja na

trigliceride i BHBA (Zimmer i Cordesse, 1996). Dodavanjem preparata kestenovih tanina (sadržaj tanina u preparatu 751 g/kg) u količini od 0, 5 i 10 g/kg SM obroka u uslovima toplotnog stresa, ustanovljene su najviše vrednosti kortizola, kreatin kinaze (CK), glukoze i hormona štitne žlezde u krvi kod jagnjadi koja nisu dobijala tanine, što ukazuje da tanini mogu smanjiti određene uticaje stresa (Liu et al., 2016).

Ispitivanjem uticaja kvebraho ili kestenovih tanina na parametre krvi ovaca, ustanovljeno je da su razlike bile samo u sadržaju fosfora koji je bio niži kod životinja koje su dobijale kestenove tanine (Buccioni et al., 2017b). Obroci su sadržali po 52,8 g/kg SM kestenovog, odnosno kvebraho preparata, dok kontrolni obrok nije sadržao dodate tanine.

Pri dodavanju tanina poreklom iz kvebraha (naziv preparata Unitan SAICA) u količini od 4% od konzumiranog obroka kod ovaca je ustanovljena niža koncentracija uree u krvi u odnosu na životinje koje nisu konzumirale tanine (Fernandez et al., 2012). Kada je u obrok krava u tranzicionom periodu dodato 100 grama preparata koji sadrži kvebraho taninine, došlo je do smanjenja koncentracije ukupnih serumskih proteina, globulina, glukoze i triglicerida kod ogleadne grupe u odnosu na kontrolnu, ali značajne razlike u koncentraciji albumina, uree, kreatinina i holesterola nije bilo (Attia et al., 2016). Pri dodavanju duplo veće vrednosti pomenutog preparata (200 grama) nije došlo do promena u koncentraciji globulina, glukoze i triglicerida. Ishranom jagnjadi sa 6,4% kvebraho tanina u suvoj materiji obroka (preparat dobijen iz *S. lorentzii*, proizvođač Figli di Guido Lapi S), ustanovljeno je da je krvna plazma posedovala veći antioksidativni kapacitet u odnosu na kontrolu, što se prepisuje profisentinidinu (Lopez-Andres et al., 2013). Ovo jedinjenje se ne razgrađuje i ne apsorbuje u digestivnom traktu, ali indukuje antioksidativne efekte u tkivu životinja. Dodavanjem preparata koji sadrže kvebraho kondenzovane tanine nisu primećeni uticaji na koncentraciju ukupnih proteina, albumina, globulina, glukoze i triglicerida u odnosu na kontrolu, ali je kod bivolica koje su dobijale 100 g preparata sa taninima (komercijalni preparat - Tanextra, 84,6% CT) došlo do značajnog porasta koncentracije serumske uree u poređenju sa životinjama iz kontrole i sa onima koje su dobijale 200 g preparata (Sallam et al., 2019).

Mkhize et al. (2018) su ustanovili najviše koncentracije uree i ne-esterifikovane masne kiseline, kao i najnižu koncentraciju proteina u krvi kod koza u čiji obrok su dodavani tanini iz mimoze (*Acacia mearnsii*) u koncentraciji 20 g/kg SM, što ukazuje da su tanini imali negativan uticaj na metabolizam energije i proteina. De S. Costa et al. (2020) su utvrdili da sa povećanjem tanina u obroku (do 60 g/kg SM obroka) iz mimoze dolazi do povećanja holesterola u serumu.

Dodavanjem tanina poreklom iz lista mimoze, rogača, ili kvebraha, u *in vitro* uslovima je došlo do smanjene mikrobijalne sinteze vitamina B<sub>12</sub>, koji je glavni prekursor u sintezi hemoglobina (Priolo i Vasta, 2007). Ovo posledično može dovesti do smanjenih koncentracija hemoglobina u krvi, ali i do dobijanja svetlijeg mesa preživara.

Flores et al. (2013) su ustanovili da su jagnjad, koja su dobijala obrok sa 0,3% tanina u suvoj materiji (izvor tanina proizvod BYPRO), imala manju koncentraciju uree u krvi u odnosu na kontrolu i grla koja su dobijala i anabolike.

Dodavanjem lišća biljke *Ficus bengalensis* (12,6 % CT) u obrok krava (1,5% lišća u obroku) došlo je do značajnog smanjenja uree u krvi (Dey i De, 2014). Takođe, u istom ogledu, primećeno je povećanje aktivnosti određenih enzima: superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT) i glutation sintetaze (GSH). Do sličnih zaključaka (povećanje aktivnosti SOD, CAT i GSH) se došlo i korišćenjem samlevenog lišća biljke *Ficus infectoria* u ishrani jagnjadi, pri čemu je sadržaj CT bio 1,5% i 2% u SM obroka (Dey et al., 2015).

Min et al. (2019) su, između ostalog, ispitivali metabolički profil krvi jaradi hranjenih obrokom u koje su dodavane opne kikirikija do 30% u suvoj materiji obroka, čemu je obezbeđeno do 4,9% CT u SM i ustanovili da su takvi obroci uticali na povećanje glukoze, fosfora i holesterola u krvi u odnosu na kontrolu.

Grupa jagnjadi, koja je konzumirala 0,1% taninskog preparata u obroku (preparat sa 95% tanina) je imala povećan nivo globulina i alkalne fosfataze, ali je smanjen odnos albumin/globulin u odnosu na kontrolu (Zhao et al., 2019).

### 3.3.5. Uticaj tanina na priraste i konverziju hrane

Fiziološki status, kao i izbalansiranost obroka su neki od faktora koji određuju odgovor preživara na obroke koji sadrže tanine, budući da su povezani sa potrebama za održanje i proizvodnju životinje (Waghorn, 2008). Pri ishrani kabastom hranom, energija je najčešće prvi limitirajući faktor proizvodnosti. Ovakav tip ishrane obezbeđuje niske količine isparljivih masnih kiselina, a dodatkom tanina u ishrani može se uticati na smanjenje svarljivosti vlakana zbog inhibicije celulolitičkih bakterija. U slučaju energetske deficitarnosti obroka, povećanje apsorpcije aminokiselina može doprineti bilansu energije, a ne sintezi proteina, te iskorišćavanje hranljivih materija nije optimalno (Waghorn, 2008). Tako, pokazano je da u esparzeti, suli i barskom zlatanu, CT nemaju pozitivan efekat na produktivnost (Waghorn, 2008). Međutim, pri obrocima visoke energetske vrednosti, odnosno u slučajevima kada su energetske potrebe zadovoljene, ili u suficitu, efekti tanina na produktivnost životinja mogu biti direktni, ali zavise od izvora i njihove koncentracije u obroku.

Waghorn (2008) je, uporednim pregledom prethodno prijavljenih rezultata, utvrdio da tanini iz žutog zvezdana imaju pozitivan uticaj na dnevne priraste jagnjadi (8-38% više od kontrole) i na produkciju mleka ovaca (10-21% više od kontrole). U poređenju sa lucerkom (koja sadrži zanemarljive količine tanina), žuti zvezdan koji je sadržao 35-45 g CT/kg SM je uticao na povećanje prirasta kod jagnjadi i produkciju mleka kod ovaca (Wang et al., 1994). Ovo se može objasniti većom dostupnošću aminokiselina, naročito esencijalnih aminokiselina metionina, lizina i onih razgranatog lanca (leucin, izoleucin i valin). Prilikom pregonske ispaše jagnjadi i odraslih ovaca na pašnjacima koji su sadržali samo žuti zvezdan (32-57 g tanina/kg SM), smešu leguminoza (8-10 g tanina/kg SM) ili monokulturu lucerke (udeo tanina zanemarljiv, < 2 g/kg SM) ustanovljeno je da su najviše priraste imale životinje koje su bile na pašnjacima sa žutim zvezdanom, uz istovremeni zaključak da su muška grla bolje reagovala na prisustvo tanina od ženskih (Douglas et al., 1995). Autori ovu pojavu objašnjavaju boljim konzumiranjem hrane, boljom svarljivošću organske materije i boljim korišćenjem svarenih hranljivih materija. Odbijena jagnjad koja su pasla na pašnjacima žutog zvezdana su imala veće životne priraste od jagnjadi koja su pasla lucerku (Wang et al., 1996b). Do sličnih zaključaka su došli i Molle et al. (2008), sa razlikom što je kontrola bio pašnjak engleskog ljulja, dok je kao izvor tanina služio pašnjak žutog zvezdana. Iako su na početku oglada jagnjad bila iste telesne mase, jagnjad koja su pasla žuti zvezdan (24 g CT/kg SM) su imala značajno veće prosečne dnevne priraste, a samim tim i veću telesnu masu na kraju oglada od jagnjadi koja su se napasala na pašnjacima zasejanim italijanskim ljuljem i belom detelinom, čiji je sadržaj tanina bio zanemarljiv (Ramirez-Restrepo et al., 2002). Neograničenom (*ad libitum*) ispašom žutim zvezdanom ili sulom, ustanovljeni su visoki prirasti jagnjadi (271 g/dan, odnosno 279 g/dan), ali su mase trupa jagnjadi koje su pasle sulu bili niže. Autori ovo objašnjavaju time da je količina tanina u suli previsoka (8,8% od ukupne SM obroka), da utiče na smanjenu apsorpciju aminokiselina i da je ne bi trebalo koristiti u monokulturi (Douglas et al., 1999).

Barry (1985) navodi da je idealna količina tanina u hrani ona pri kojoj se rastvorljivi protein, stvarajući komplekse, prevodi u nerastvorljivi oblik, a smatra se da ona iznosi 20-40 g/kg SM. Naime, u istraživanju ovog autora je ispitivan uticaj ishrane jagnjadi na pašnjacima barskog zlatana, ili smeše ječma i bele deteline, uz dodavanje ili nedodavanje PEG. Ustanovljeno je da su jagnjad koja su pasla barski zlatan, i kojima je aplikovan PEG ostvarili veće priraste, što ukazuje da je sadržaj tanina bio prevelik, te je smanjio količinu dostupnih hranljivih materija.

Mahachi et al. (2020) su ustanovili da sa porastom biljke *Lespedeza juncea var. sericea* u obroku jagnjadi (10, 20 i 40% obroka, odnosno 18, 36 i 72 g CT/kg SM) dolazi do linearnog smanjenja konzumiranja SM, do svarljivosti, kao i retencije azota, što rezultira nižim prosečim dnevnim prirastima. Isti autori su utvrdili da su jagnjad osetljivija od jaradi na CT poreklom iz ove biljke.

Ispitivanjem uticaja tanina iz kestena, mimoze, kvebraha, tare, ili njihovih kombinacija, zaključci su oprečni. Valenti et al. (2018) su, poređenjem obroka koji su sadržali 4% tanina iz različitih izvora (poreklom iz mimoze, kestena ili tare) sa kontrolnim (koji nije sadržao dodate tanine) u ishrani jagnjadi, ustanovili da su najniži prirasti i najnepovoljnije konverzije bile kod onih životinja koje su dobijale kestenove tanine. Poređenjem obroka sa kestenovim taninima (komercijalni preparat Tanino Vinitanon, sadržaj ukupnih tanina 750 g/kg) u količini 20,8 g preparata/kg obroka, i kontrolnog koji nije sadržao tanine, nisu ustanovljene razlike u prirastima, konverziji hrane i dužine završnog tova jagnjadi kod Frutos et al. (2004b). Tanini iz kestena (0,6% SM), kvebraho (0,6% SM) ili mešavine kestena i kvebraha (odnos 1:1, 0,6% SM) u obroku junadi u završnoj fazi tova doprineli su većim prirastima uz veće konzumiranje energije (Rivera-Mendez et al., 2017). Krueger et al. (2010) ispitivanjem mimozinih (700 g CT/kg SM, preparat Chemtan Mimosa Powder) i kestenovih tanina (800 g HT/kg SM, preparat Chemtan Chestnut Powder) na performanse junadi u tovu nisu ustanovili razlike u prirastima. Grupe su dobijale obroke sa 14,9 g preparata/kg SM (mimozinih ili kestenovih), dok kontrolni obrok nije sadržao tanine. Do sličnih rezultata su došli i Mezzomo et al. (2016), koji su zaključili da dodavanje smeše različitih ekstrakata tanina (kvebraho, kesten i tara) u različitim koncentracijama u obrok junadi u tovu nije dovelo do razlike u prirastima u odnosu na kontrolu, ali je uticalo na smanjenje konzumiranja suve materije, te je poboljšana konverzija.

Dodavanjem taninskog preparata koji je smeša kestenovih i kvebraho tanina (proizvod BYPRO sa 72% tanina) u količini od 0,3% SM obroka jagnjadi, ustanovljeni su veći prirasti nego kod kontrole za 18% (Ortiz et al., 2013). Korišćenjem istog preparata u količini od 0%, 0,15%, 0,30% i 0,45% SM u obroku, ustanovljeno je da su tanini uticali na prosečne dnevne priraste jagnjadi i da je optimalna količina u obroku između 0,15% i 0,30% (Barajas et al., 2014).

Dodavanje kvebraho taninskog preparata (preparat sadržao 75% CT u SM) u količinama 1% i 2% CT u SM u obrok junadi koja su pasla mladu pšenicu dovelo je do povećanog prosečnog dnevnog prirasta od 15% kod tovnje junadi, što je posledica kombinacije povećanog dotoka by-pass proteina do tankih creva i smanjenja pojave naduna, kao i smanjenja produkcije metana (Min et al., 2006).

Dodavanjem taninskog preparata mimoze (sadržaj CT 700 g/kg), u obroke jaradi u količini 0, 16 g, 32 g i 48 g / kg SM obroka, ustanovljeno je da su jarad koja su dobijala 32 g/kg SM preparata postigli najbolje priraste uz najbolje konzumiranje hrane (Pimentel et al., 2020). Korišćenjem istog preparata u obroku jagnjadi u količini 0, 20 g, 40 g, 60 g i 80 g /kg SM, došlo se do zaključka da su tanini (do koncentracije 40 g/kg SM) imali pozitivne uticaje na konzumiranje suve materije, svarljivosti, konverzije i prirasta, dok su pri većoj koncentraciji izazivali negativne efekte u vidu smanjenog konzumiranja, negativnih promena u buražnoj fermentaciji, smanjene svarljivosti, konverzije i prirasta (de S. Costa et al., 2020).

### 3.3.6. Uticaj tanina na kvalitet trupa i klanične osobine

Tanini mogu imati uticaj na masu toplog i hladnog trupa, konformaciju trupa, kao i sadržaj loja u trupu, kalo ceđenja, masu pojedinih partija mesa, ali i na masu praznih digestivnih organa. U zavisnosti od izvora, sadržaja tanina, načina ishrane, ali i vrste preživara, efekti se razlikuju.

Niski sadržaji tanina u obroku (do 20 g/kg SM) mogu uticati na smanjenje loja u trupu kod jagnjadi u tovu (Waghorn i Shelton, 1992; Perez-Maldonado i Norton, 1996).

Frutos et al. (2004b) nisu ustanovili razlike u masi hladnog trupa i konformacije trupa između jagnjadi koja su dobijala kestenove tanine i kontrole u intenzivnom tovu. Ispitivanjem uticaja kestenovih (K grupa) i mimozinih tanina (M grupa) u količini od 14,9 g/kg SM obroka ustanovljeno je da su bikovi iz K grupe imali veću masu toplog trupa, masu praznog trupa, i masu praznog digestivnog trakta za 10%, dok je masa buraga bila veća za više od 15% (Krueger et al., 2010). Korišćenjem mešavine ekstrakata kvebraho, kestenovih i tarinih (*Caesalpinia spinosa*) tanina u različitim udelima u obroku junadi u tovu, došlo je do promena u kvalitetu trupa u smislu povećanog sadržaja mišićnog tkiva i smanjenog sadržaja masti u odnosu na kontrolu (Mezzomo et al., 2016). Santiago et al. (2019) su ispitivali klanične osobine i kvalitet trupa jagnjadi koja su pasla na dve vrste pašnjaka, beloju detelini ili barskom zlatanu (*Lotus uliginosus*, odnosno *Lotus pedunculatus*) uz dodatak ili bez koncentrovane smeše koja je sadržala kestenove i kvebraho tanine (BYPRO) u količini 1% koncentrata. Navedeni autori su utvrdili da je dodavanjem koncentrovane smeše došlo do povećanja mase toplog trupa, ali da je masa slabina bila veća kod životinja koje su pasle samo na pašnjaku bele deteline od onih koja su pasle barski zlatan, ili dobijale koncentrovane smeše.

Dodavanje mlevenog žira (sadržaj ukupnih tanina 43,4 g/kg SM) u udelu 8%, 17% i 25% u obroku jaradi uticalo je na smanjenje debljine loja na trupu i sadržaja abdominalnog loja (Froutan et al., 2015).

Dodavanjem taninskog preparata mimoze (sadržaj tanina 700 g/kg CT) u obrok jaradi u količini od 16 g, 32 g, 48 g / kg SM obroka došlo je do povećanja određenih partija mesa, kao što su plećka, vrat i rebra u odnosu na kontrolu (Pimentel et al., 2020).

Ispašom koza na pašnjacima biljke *Lespedeza juncea* (sadržaj CT u listu 16 g, a u stabljikama 3,3 g/100g SM) ili pašnjacima koji su sadržali i zubaču (*Cyndon dactylon*), ustanovljena je povećana masa toplog trupa za 10% u odnosu na životinje koje su pasle na pašnjaku zubače (Mechineni et al., 2020).

Neograničenom (*ad libitum*) ispašom žutim zvezdanom ili sulom, ustanovljeno je da su CT iz sule (8,8% SM) uticali na manju masu trupa i kalo ceđenja trupova jagnjadi (Douglas et al., 1999).

Fenolna jedinjenja, u koje spadaju i tanini, su poznati po svojim antioksidantnim osobinama, a pozitivan uticaj na antioksidativni status ovaca i goveda je uočen u nekoliko radova (Luciano et al., 2011; Lopez-Andres et al., 2013; Dey i De, 2014). Takođe, u nekim studijama je utvrđeno da tanini mogu da povećaju oksidativnu stabilnost mesa pri skladištenju (Jeronimo et al., 2016).

### 3.3.7. Efekti tanina na kvalitet mesa

Jagnjeće meso, u pogledu sadržaja proteina, masti i vitamina predstavlja značajnu namirnicu u ljudskoj ishrani. Sadržaj masti i masnokiselinski profil jagnječeg mesa zavisi od: genotipa, uzrasta, pola, načina gajenja i ishrane (Ružić-Muslić et al., 2020). Ipak, Vasta et al. (2010b) tvrde da na masnokiselinski profil mesa preživara najviše utiče ishrana. U tabeli 3.3 su prikazane masne kiseline prema strukturi, nazivu i tipu (Barbir et al., 2014). Mast preživara se odlikuje visokim nivoom zasićenih masnih kiselina (saturated fatty acids – SFA), niskim nivoom polinezasićenih masnih kiselina

(polyunsaturated fatty acids – PUFA), i promenljivim nivoom mononezasićenih (monounsaturated fatty acids - MUFA) i trans-masnih kiselina (Jeronimo et al., 2016). Navedeni odnos masnih kiselina može uticati negativno na ljudsko zdravlje (Fernandes et al., 2021). Tako, Vasta et al. (2009b) navode da se visoke koncentracije SFA, koje se nalaze u proizvodima preživara, povezuju sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih bolesti. Ovakav masnokiselinski profil je uglavnom posledica intenzivnog metabolizma u buragu, gde dolazi do brze hidrolize masti iz obroka i otpuštanja nezasićenih masnih kiselina (uglavnom C18 PUFA) koje se biohidrogenizuju pri čemu nastaju velike količine zasićenih masnih kiselina (uglavnom 18:0), kao i promenljive količine nekoliko izomerskih C18 masnih kiselina, uključujući oktatrionsku, oktadecenoinsku i oktamoneinoičnu kiselinu, koje nastaju kao rezultat nekompletne biohidrogenizacije nezasićenih C18 masnih kiselina (Bessa et al., 2007). Ishranom se značajno može uticati na sastav mesa i masnih kiselina, ka postizanju optimalnijeg odnosa zasićenih, nezasićenih i polu-nezasićenih masnih kiselina. U poslednje vreme, sve se više ispituje uticaj tanina na metabolizam lipida, i na masnokiselinski profil proizvoda preživara, kako bi se dobio proizvod koji zadovoljava potrebe potrošača za zdravijom hranom (Frutos et al., 2020).

Promenama u buražnoj fermentaciji može se uticati na masnokiselinski profil mesa i loja. Meso preživara izloženih umerenim količinama polifenola može da sadrži velike količine PUFA i međuproizvoda njihove biohidrogenacije (Carreno et al., 2015; Mahachi et al., 2020). Ova osobina se može prepisati selektivnoj inhibiciji bakterija tzv. A grupe, koje konvertuju linoleinsku i alfa-linoleinsku kiselinu u vakcensku (Vahmani et al., 2020). Konjugovani izomeri linolne kiseline (CLA) nastaju u toku buražne biohidrogenizacije, a neki nastaju i endogeno, u tkivima, od trans monoena, koji opet nastaju u toku buražne biohidrogenizacije, pri čemu meso preživara prirodno postaje bogato u konjugovanoj linolnoj kiselini (Sels i Philippaerts, 2014; Shingfield i Wallace, 2014; Yonjalli et al., 2018). Ruminska kiselina (18:2 cis-9, trans-11) je glavni izomer CLA koji se nalazi u masnom tkivu i nastaje buražnom biohidrogenizacijom linolne kiseline (18:2 n-6) (Jeronimo, 2016). Takođe, nastaje endogenom konverzijom vakcenske kiseline (18:1 trans-11) u tkivima, aktivnošću enzima stearoil-CoA desaturaze ( $\Delta 9$ -desaturaze) (Griinari et al., 2000). Tako, povećanje ruminske kiseline u masnom tkivu se može postići njenom povećanom sintezom, ali i vakcenske kiseline, kao i povećanjem endogene konverzije vakcenske u ruminsku kiselinu (Bessa et al., 2015). Međutim, proces biohidrogenizacije je obično nepotpun, i velika paleta međuprodukata (metabolita) napušta burag i oni, nakon apsorpcije i crevima, postaju dostupni za inkorporaciju u meso (Frutos et al., 2020). Isti autori navode da, uprkos obično niskim koncentracijama određenih međuprodukata biohidrogenizacije (kao npr. trans-10 cis-12 CLA ili cis-9 trans-11 cis-15 konjugovana linolenska kiselina), njihove biološke posledice na domaćina preživara ili krajnjeg potrošača mesa, mogu da budu od značaja.

Neki od modulatora buražne biohidrogenizacije koji mogu da poboljšaju hranljivu vrednost mesa i loja su sekundarna jedinjenja, i među njima svakako tanini. Iako postoje rezultati koji pokazuju uticaj tanina na buražnu biohidrogenizaciju, njihovo delovanje može biti različito, ali su najčešći uticaji smanjenje stearinske i povećanje vakcenske kiseline, linolne i CLA, kao i promena odnosa PUFA:SFA i PUFA:MUFA. Kada se posmatra uticaj tanina na navedene efekte, njihovo dejstvo zavisi od mnogo faktora, od kojih su neki izvor tanina, njihova vrsta, struktura i sadržaj u obroku, način ishrane preživara i vrsta preživara koja se ispituje (Buccioni et al., 2017a). U zavisnosti od navedenih faktora, efekti mogu biti različiti.

Tako, u nekim *in vitro* ispitivanjima je utvrđeno nakupljanje vakcenske kiseline i smanjenje stearinske u buražnoj tečnosti i u buražnom sadržaju koje je povezano sa bakterijama nakon inkubacije sa izvorima tanina, što ukazuje na inhibiciju buražne biohidrogenizacije (Khiaosa-Ard et al., 2009; Vasta et al., 2009a; Buccioni et al., 2011). *In vivo* istraživanja na jagnjadima su pokazala povećanje u proizvodnji vakcenske kiseline i smanjenje stearinske u digesti (buražna tečnost i abomazalna digesta) jagnjadi hranjenih kvebraho taninima (*Schinopsis lorentzii*) (Vasta et al., 2009b) i žbunastom biljkom *Cistus ladanifer*, takođe bogatoj u taninima (Jeronimo et al., 2010). Uključivanjem tanina ekstrahovanog iz kvebraha, bilo u obroke bazirane na koncentratima (40,4 g ukupnih tanina/kg SM) ili

na svežoj biljnoj masi (40,6 g ukupnih tanina/ kg SM), došlo je do promena u masnokiselinskom profilu intramuskularne masti kod jagnjadi, ali, iako su efekti bili u zavisnosti osnovnog obroka, svakako su doveli do smanjenog nivoa zasićenih masnih kiselina (Vasta et al., 2009b). Isti autori navode da je pri ishrani koncentrovanim smešama, dodatak tanina doveo do povećanja vakcenske i ruminske kiseline u intramuskularnoj masti, dok je udeo zasićenih masnih kiselina opao. Jagnjad koja su hranjena kabastom hranom tretiranom taninima su imala veći nivo ukupnih PUFA i linolne kiseline u mesu od onih hranjenih kabastom hranom bez dodatka tanina. Ovi rezultati ukazuju na to da tanini mogu drugačije da menjaju masnokiselinski profil mesa preživara u zavisnosti od ishrane, i da dodavanje kvebraho tanina može da utiče na povećani sadržaj omega-6 masnih kiselina (n-6) u mesu jagnjadi.

Jarad hranjena ekstraktom biljke haritaki (*Terminalia chebula*), koja sadrži velike količine tanina, su u svom mesu imala veće količine PUFA i MUFA, a smanjene količine SFA u odnosu na kontrolnu grupu (Rana et al., 2012). Naime, autori su ustanovili da je kod grupa koje su dobijale 1,06 ili 3,18 g/kg TM navedenog ekstrakta primećeno povećanje sadržaja MUFA i PUFA za 25% i 35%, redom, uz istovremeno smanjenje SFA za 20%, dok je aktivnost  $\Delta 9$ -desaturaze povećana za 47%, što je doprinelo i do povećanja CLA u leđnom mišiću.

Tanini iz žutog zvezdana mogu uticati na povećane sadržaja CLA i polinezasićenih omega-3 masnih kiselina (n-3), koje mogu imati pozitivan uticaj na ljudsko zdravlje (Turner et al., 2005). Jagnjad hranjena silažom bogatom taninima – žuti zvezdan i esparzeta (21 i 104 g CT/kg SM), su imala drugačiji masnokiselinski sastav mesa (smanjenje zasićenih masnih kiselina i viših sadržaja PUFA) od onih hranjenih silažom lucerke ili crvene deteline (Girard et al., 2015). Ova promena je najvećim delom zbog smanjenja stearinske i povećanja linolne, lionoleinske i PUFA. Međutim, ove promene su bile izraženije kod esparzete koja je sadržala skoro 5 puta više tanina. Meso jaradi hranjenih na pašnjacima žutog zvezdana je sadržalo manje nivoa linolne kiseline od onih hranjenih na pašnjacima crvene deteline, dok se nivoi SFA, PUFA nisu značajno razlikovali (Turner et al., 2015).

Pri ishrani svežom sulom, kod jagnjadi su primećene veće koncentracije ruminske, alfa-linoleinske kiseline, CLA i mononezasićenih masnih kiselina, a niže koncentracije linolne i stearinske kiseline u intramuskularnom loju od onih koja su hranjena koncentrovanom smešom (Priolo et al., 2005). Povećanje alfa-linoleinske kiseline se prepisuje uticaju zelene hrane u odnosu na koncentrovanu, a ne uticaju tanina.

Vasta et al. (2007) su pokazali da dolazi do smanjenja ruminske i vakcenske kiseline u intramuskularnoj masti uključivanjem pulpe od rogača u ishrani jagnjadi (45%, odnosno 27 g tanina po kg SM) u odnosu na kontrolu. Međutim, dodavanje PEG (molekulske mase 4.000 daltona u obrok jagnjadi (42 g/kg) je dovelo do povećanja ruminske i vakcenske kiseline u mesu, čime je utvrđeno učešće tanina iz rogača na ruminalnu biohidrogenizaciju. Istovremeno, sadržaj sirovog proteina je bio značajno viši u mesu grla koja su dobijala rogač od onih kojima je aplikovan PEG. Promena u masnokiselinskom profilu intramuskularne masti je praćena kod jagnjadi hranjenih većim udelom rogača (24 i 35% rogača, tj 3,4 g i 4,5 g ukupnih tanina/kg SM), pri čemu je došlo do smanjenog sadržaja ukupnih zasićenih masnih kiselina, i povećanja sadržaja ukupnih polinezasićenih masnih kiselina, ruminske, linolne i linoleinske kiseline u mesu u odnosu na kontrolu (Gravador et al., 2015). Drugim rečima, korišćenjem rogača došlo je do proizvodnje mesa povoljnijeg masnokiselinskog profila, što može delovati povoljno na ljudsko zdravlje (Gravador et al., 2015).

Dodavanjem taninskog preparata mimoze (sadržaj CT 700 g/kg) u obrok jaradi (16 g, 32 g, 48 g), u odnosu na kontrolu, došlo je do povećanja SFA, PUFA, odnosa PUFA:SFA i PUFA:MUFA, dok je ukupan sadržaj MUFA smanjen (Pimentel et al., 2020).

**Tabela 3.3: Masne kiseline prema strukturi, nazivu i tipu** (Barbir et al., 2014)

Redni broj	Struktura	Naziv kiseline	Tip (zasićenost)*
1	C4:0	Buterna	SFA
2	C6:0	Kaprnska	SFA
3	C8:0	Kaprilna	SFA
4	C10:0	Kaprińska	SFA
5	C11:0	Unidekanska	SFA
6	C12:0	Laurinska	SFA
7	C13:0	Tridekanska	SFA
8	C14:0	Miristinska	SFA
9	C15:0	Pentadekanska	SFA
10	C16:0	Palmitinska	SFA
11	C17:0	Heptadekanska	SFA
12	C18:0	Stearinska	SFA
13	C20:0	Arahidska	SFA
14	C21:0	Heneikozanoična	SFA
15	C22:0	Behenska	SFA
16	C23:0	Trikozanoična	SFA
17	C24:0	Lignocerinska	SFA
18	C14:1	Mirostoleinska	MUFA (n-5)
19	C15:1	Cis-10-pentadekanska	MUFA
20	C16:1	Palmitoleinska	MUFA (n-7)
21	C17:1	Cis-10-heptadekanska	MUFA
22	C18:1n9t	Elaidična	MUFA (n-9)
23	C18:1n9c	Oleinska	MUFA (n-9)
24	C20:1	Cis-11-eikozenska	MUFA
25	C22:1n9	Eručna	MUFA (n-9)
26	C24:1	Nervnonična	MUFA
27	C18:2n6t	Linolna (LA)	PUFA (n-6)
28	C18:2n6c	Linolna	PUFA (n-6)
29	C18:3n6	$\gamma$ -linolenska	PUFA (n-6)
30	C20:2n6	Eikozadienska	PUFA (n-6)
31	C20:3n6	Eikozatrienska	PUFA (n-6)
32	C20:4n6	Arahidonska	PUFA (n-6)
33	C22:2	Dokozadienična	PUFA (n-6)
34	C18:3n3	$\alpha$ -linolenska (ALA)	PUFA (n-3)
35	C20:3n3	Eikozatrienska	PUFA (n-3)
36	C20:5n3	Eikozapentaenična (EPA)	PUFA (n-3)
37	C22:6n3	Dokozaheksaenska (DHA)	PUFA (n-3)
38	C24	Tetrakozanska	SFA
39	C26	Heksakozanska	SFA
40	C28	Oktakozanska	SFA
41	C30	Triakontanska	SFA
42	C32	Dotriakonska	SFA

\*SFA - zasićene masne kiseline; MUFA - mononezasićene masne kiseline; PUFA - polinezasićene masne kiseline



### 3.3.7.1. Uticaj tanina na organoleptičke osobine mesa

Pored promena u hemijskom i masnokiselinskom sastavu mesa, tanini mogu uticati i na organoleptičke osobine, uključujući miris, ukus, aromu, sočnost, mekoću, ali i boju mesa. Takođe, tanini u ishrani preživara utiču i na poboljšanje oksidativne stabilnosti mesa, što, usled inhibicije promene senzornih karakteristika mesa, utiče na duži rok trajanja.

- Uticaj tanina na organoleptičke osobine mesa: Uključivanje pulpe rogača u ishranu jagnjadi u količini od 200 g/kg (12,4 g CT/kg SM) obroka nije uticalo na promenu senzornih osobina mesa, budući da senzornom analizom nisu utvrđene razlike između mesa dobijenog od jagnjadi hranjenih kontrolnim obrokom i obrokom sa rogačem (Priolo et al., 1998). Ali, kada se udeo pulpe rogača poveća na 560 g/kg (25 g CT/kg SM) obroka ustanovljeno je da meso postaje manje prihvatljivo, sa pojavom stranih mirisa, u poređenju sa mesom jagnjadi iz kontrolne grupe ili onih koji su uz rogač dobijali i PEG (Priolo et al., 2000). Iako je pri korišćenju gorepomenutog hraniva, kao i biljke *Cistus ladanifer*, ustanovljeno da dolazi do promena u masnokiselinskom sastavu mesa jagnjadi, kao i u profilu isparljivih supstanci (Vasta et al., 2010a), nisu utvrđeni efekti na senzorne osobine mesa (Jeronimo et al., 2012).

Korišćenjem tečnog ekstrakta grožđanih semenki kao izvora tanina u količini od 33 g/dan kod jagnjadi hranjenih belom detelinom (*Trifolium repens*) ili engleskim ljujlem (*Lolium perenne*) smanjen je intenzitet mirisa jagnječeg mesa, kao i miris intramuskularne masti (Schreurs et al., 2007). Redukovanje negativnog mirisa (tzv. ovčijeg mirisa) je primećeno kod mesa dobijenog ishranom jagnjadi sa dodatkom 10% kvebraho (*Schinopsis lorentzii*) taninskog preparata (40 g CT/kg SM obroka), i u obroku na bazi kabastih hraniva, i u obroku na bazi koncentrovanih hraniva (Priolo et al., 2009).

Na kvalitet mesa mogu uticati i prisustvo i koncentracija indola i skatola, koji doprinose prisustvu negativnih aroma (Seoni et al., 2018; Del Bianco et al., 2020). Indol i skatol se često povezuju sa negativnim mirisom „farme“ ili „tora“ u mesu životinja. Smatra se da na koncentracije indola i skatola utiče prisustvo triptofana. Min et al. (2000) su poredili uticaj bele deteline, engleskog ljulja i žutog zvezdana u obroku na prisustvo i koncentracije indola i skatola. U istraživanju je utvrđeno da bela detelina utiče na najveću, a žuti zvezdan na najmanju koncentraciju ova dva jedinjenja. Ovo se može objasniti time da su proteini iz bele deteline rastvorljiviji i podložniji razgradnji, a samim tim otpuštaju brže i više aminokiselina u buragu, dok se tanini iz žutog zvezdana vezuju sa proteinima u buragu i stvaraju nerastvorljive komplekse. Ova osobina smanjuje rastvorljivost i razgradivost biljnih proteina u buragu (Min et al., 2000), što dovodi do smanjenja buražne biosinteze skatola, čime se smanjuje njihova akumulacija u mesu i mleku (Fraser et al., 2007; Vasta i Luciano, 2011). Pored stvaranja kompleksa sa proteinima, tanini mogu uticati i na smanjenje proteolize inhibicijom buražnih bakterija, što takođe utiče na niže koncentracije indola i skatola (Schreurs et al., 2003). Pored uticaja na smanjeno formiranje indola i skatola u buragu ovaca u odnosu na belu detelinu ili engleski ljujlj, žuti zvezdan je imao marginalne efekte na miris i ukus mesa (Farouk et al., 2007).

Korišćenjem tanina u ishrani preživara može doći do povećanja negativnog ukusa njihovog mesa i proizvoda. Fraser et al. (2004) su ustanovili da grupa jedinjenja koja utiču na negativnu aromu u junećem i ovčijem mesu, kao i u mlečnoj masti su alkilfenoli, posebno metilfenol (krezol), čija se koncentracija može povećati dodavanjem taninskih jedinjenja u obroke. Tako, najveća koncentracija metilfenola je ustanovljena pri ispaši žutim zvezdanom (Fraser et al., 2003).

Pimentel et al. (2020) su ustanovili da je dodavanjem CT iz taninskog preparata mimoze poboljššan ukus, aroma, mekoća i sveukupan utisak jarećeg mesa u odnosu na kontrolu. Prilikom zamene ovsenog sena mlevenim lišćem kleke (*Juniperus coahuilensis*) u količini od 33%, 66% i 100% ustanovljena je povećana sočnost, mekoća i pozitivan ukus i miris (tzv. jagnjeći miris) mesa (Whitney i Smith, 2015).

Tayengwa et al. (2020) navode da dodatak tanina u obroke preživara može dovesti i do smanjene mekoće mesa. Navedeni autori su ustanovili da dodatkom koline grožđa u obrok angus junadima (sadržaj ukupnih tanina 104,2 g ekvivalenta galne kiseline / kg SM) mišićna vlakna su zahtevala veću silu sečenja, odnosno meso je bilo tvrđe, od grupa koje su dobijale kominu citrusa (sadržaj ukupnih tanina 19,1 g ekvivalenta galne kiseline / kg SM), odnosno grupe koja nije sadržala tanine.

- Uticaj tanina na oksidativnu stabilnost mesa: Ishrana bogata taninima, pored povećanja korisnih masnih kiselina u mesu, dovodi i do poboljšanja oksidativne stabilnosti mesa (Gravador et al., 2015). Oksidativne reakcije imaju negativan efekat na kvalitet i prihvatljivost mesa i mesnih proizvoda, jer oni dovode do razvoja neprijatnih mirisa i gubitka boje kao rezultata oksidacije masti i lipida (Jeronimo et al., 2016). Pored ovoga, hranljiva vrednost i senzorne osobine mesa mogu da budu narušene oksidacijom proteina (Lund et al., 2011).

Uključivanje kvebrahovitih (*Schinopsis lorentzii*) tanina u ishranu jagnjadi (40,4 g/kg SM) je dovelo do usporene oksidacije mioglobina i poboljšanja stabilnosti boje mesa koje je skladišteno u atmosferi bogatoj kiseonikom (Luciano et al., 2009; Luciano et al., 2011). Ipak, nisu ustanovljeni antioksidativni efekti u mastima (Luciano et al., 2009). Do sličnih zaključaka su došli Brogna et al. (2014) koji su ispitivali uticaj tanina poreklom iz *Aspidosperma quebracho* na oksidativnu stabilnost masti u jagnjećem mesu.

S druge strane, utvrđeno je da se uključivanjem ekstrakta grožđanih semenki ili *Cistus ladanifer* u ishrani jagnjadi podstiče otpornost mesa ka lipidnoj oksidaciji, uključujući i meso bogato PUFA (Jeronimo et al., 2012). Do sličnog zaključka su došli Francisco et al. (2015) određujući oksidaciju lipida preko TBARS testa (testa reaktivnih supstanci tiobarbiturne kiseline), bez oksidativne indukcije u mesu, pri čemu je utvrđeno značajno smanjenje redukcije lipidne oksidacije kod mesa jagnjadi koji su obrokom dobijali veće količine tanina iz *Cistus ladanifer*, uz istovremenu redukciju u promeni boje mesa čuvanog u frižideru. Služeći se takođe TBARS testom, Barreira et al. (2008) su ustanovili da se sa povećanjem koncentracije povećava i antioksidativni kapacitet kestenovitih tanina.

Utvrđeno je, međutim, da antioksidativni efekti tanina u ishrani ovaca nisu povezani sa njihovom apsorpcijom (Lopez-Andres et al., 2013). Lokalna aktivnost u gastrointestinalnom traktu je objašnjena kao indirektni antioksidativni mehanizam za fenolna jedinjenja koja se slabije apsorbuju u digestivnom traktu, pri čemu potencijalno dovode do poboljšanja u antioksidativnom statusu životinja (Halliwell et al., 2005). Poboljšanje oksidativne stabilnosti mesa pod uticajem tanina može biti i rezultat njihove interakcije sa drugim komponentama antioksidativnog sistema (Jeronimo et al., 2012).

- Uticaj tanina na razvoj bakterija na mesu: Pored pozitivnog uticaja na oksidativnu stabilnost jagnjećeg mesa, primećeno je da su tanini poreklom iz tare i mimoze uticali na redukciju razvoja bakterija na mesu u toku njegovog skladištenja u rashladnim vitrinama, što produžava svežinu i rok trajanja svežeg mesa (Biondi et al., 2019).
- Uticaj tanina na boju mesa: Uključivanje kvebraho tanina u obrok ovaca poboljšava boju mesa jagnjadi koja i dalje sisaju, i njegovu stabilnost kada je izloženo u rashladnoj vitrini (Lobon et al., 2017). Korišćenjem rogača, *Acacia cyanophylla* ili sule u ishrani jagnjadi došlo je do

dobijanja svetlijeg mesa u poređenju sa mesom životinja koje nisu konzumirale ove biljke, ili je uticaj tanina bio poništen dodavanjem PEG (Priolo et al., 2000; 2002; 2005). Jeronimo et al. (2012), pak, nisu ustanovili efekat u promeni boje mesa pri ishrani jagnjadi obrokom koji je sadržao 250 g/kg SM *Cistus ladanifer*.

### 3.3.8. Ostali uticaji tanina

Potencijalni benefiti tanina na performanse životinja se, pored već navedenih, ogledaju i većim prinosima vune, promenama u plodnosti, sprečavanju naduna, smanjenoj produkciji metana, povećanoj otpornosti na endoparazite, promenama u prinosu i kvalitetu mleka i smanjenoj stopi pojave proliva.

- Uticaj na prinos vune: Pri ishrani ovaca žutim zvezdanom, a usled prisustva tanina i povećane apsorpcije proteina u tankim crevima, dolazi do povećanja rasta vune (Waghorn et al., 1987a; Ramirez-Restrepo et al., 2002). Tanini u zvezdanu su povećali nivo cistina u krvnoj plazmi i povećali rast vune kod ovaca na ispaši i prinosi su bili veći u odnosu na kontrolu (Wang et al., 1994). Min i Hart (2003) su uporedili rezultate iz 11 istraživanja i zaključili da su tanini iz žutog zvezdana u koncentraciji od 22-38 g/kg SM uticali na povećanje prinosa vune za 10-15%.
- Uticaj na plodnost: U ispitivanju uticaja tanina na plodnost ovaca, ustanovljeno je da ispašom žutim zvezdanom u trajanju 6 do 8 nedelja pre i u toku parenja dolazi do povećane stope ovulacije za 22%, pri čemu se polovina pripisuje direktnom uticaju tanina (Min i Hart, 2003). Do sličnih zaključaka su došli Ramirez-Restrepo et al. (2002), koji su takođe ustanovili da ishrana žutim zvezdanom doprinosi većoj stopi ovulacije, kao i većem indeksu jagnjenja, bez uticaja na konzumiranje hrane. Povećanje stope ovulacije i reproduktivnog potencijala kod ovaca se pripisuje boljem iskorišćavanju proteina u prisustvu tanina, odnosno povećanom apsorpcijom proteina (Barry i McNabb, 1999; Barry et al., 1999). Ramirez-Restrepo i Barry (2005) su ukazali da se pri ishrani žutim zvezdanom u toku rane bremenitosti smanjuju embrionalna uginuća, kao i uginuća nakon jagnjenja. Ipak, neophodno je ispitivati detaljnije ovu pojavu.
- Uticaj na pojavu naduna: Nadun je digestivni poremećaj koji se često javlja kod životinja koje se napasaju leguminozama, naročito u rano proleće. Brzo otpuštanje rastvorljivih proteina u buražnu tečnost dovodi do formiranja polisaharidne sluzi, koja se naziva još i biofilm, koja ne dopušta evakuaciju nastalih gasova i dovodi do pojave penušavog ili akutnog naduna. Samim tim se gas nakuplja, i burag postaje veoma uvećan, što može izazvati različite probleme, pa čak i smrt. Utvrđeno je da leguminoze koje sadrže tanine, kakve su žuti zvezdan, esparzeta, ajčica (*Coronilla varia*), ili čič (*Astragalus cicer*) bilo kao monokultura ili u smeši sa leguminozama koje izazivaju nadun, mogu efikasno uticati na prevenciju naduna kod preživara (Wang et al., 2012). Smatra se da, zahvaljujući stabilnim kompleksima tanina i proteina, ovo omogućava proteinima da izbegnu degradaciju u buragu i budu hidrolizovani uticajem enzima u sirištu. Visok kapacitet precipitacije proteina, i činjenica da sveža esparzeta sadrži umerene količine tanina (5-22 mg CT/g svežeg lisnog materijala) ukazuju na to da uključivanje malih količina esparzete pri ishrani preživara lucerkom, može dovesti do smanjene pojave naduna i boljeg iskorišćavanja lucerkinog azota, bez uticaja na ukus i svarljivost hrane (McMahon et al., 1999b). Isti autori su pokazali da je 10% esparzete u ukupnoj količini biljne mase dovoljno da se ispolje pozitivni uticaji na preživare koji pasu.

Iako još uvek nisu precizno definisane minimalne koncentracije tanina u hrani koje utiču na sprečavanje naduna, predloženo je da one ne bi trebalo da budu ispod 5 g CT/kg SM (Li et al., 1996; Min i Hart, 2003).

- Uticao na crevne parazite: Značaj tanina u ishrani životinja se povezuje i sa njihovim uticajem na smanjenje broja i aktivnosti crevnih parazita. Budući da su endoparaziti značajan ekonomski teret u stočarstvu i pretnja po dobrobit životinja, a njihova rezistentnost na komercijalne antiparazitike sve prisutnija, tanini mogu, na održivi način, učestvovati u njihovoj kontroli (Taghizadeh i Besharati, 2011; Hassanpour et al., 2011; Novobilsky et al., 2011). Primećena je pojava da ovce mogu da detektuju prisustvo crevnih parazita ili simptome povezane sa njima i da uvećaju preferenciju i konzumiranje hraniva bogatim u taninima (Huang et al., 2018). U kontroli parazita, u literaturi se, kao izvori tanina, navode cikorija, žuti zvezdan, barski zlatan, esparzeta i drugi. Laboratorijski ogleđi su potvrdili antiparazitalne osobine cikorije (*Cichorium intybus*) koje su objašnjene niskim koncentracijama CT i sadržajem laktona, koji utiču na smanjenu vitalnost jajašaca i inhibicije pokretljivosti larvi (Molan et al., 2000). Efekti tanina ekstrahovanih iz cikorije na pokretljivost larvi nematoda (stadijum L3) u *in vitro* ispitivanjima pokazala su da su koncentracije tanina od 100, 400 ili 1000 µg/ml tečnosti uticale na inhibiciju 27%, 56% i 73% larvi, redom (Molan et al., 2003). Efektivnost žutog zvezdana u smanjenju brojnosti populacije nematoda smanjuje se od sirišta i tankog creva ka debelom crevu, što se može objasniti smanjenjem koncentracije CT i potencijalnim promenama u njihovoj strukturi (Ramirez-Restrepo i Barry, 2005). Smatra se da sadržaj tanina u obroku ispod 20 g/kg SM nije efektivan u kontroli crevnih parazita (Huang et al., 2018). Pri ispaši jagnjadi žutim zvezdanom, problem sa crevnim parazitima se može smanjiti na nekoliko načina. Neki od njih uključuju ispašu pri većoj visini biljaka, čime se smanjuje unos larvi, zatim tanini mogu da utiču direktno na pokretljivost i inhibiciju razvoja larvi i parazita, ali i indirektno uticajem na dostupnost proteina i aminokiselina, čime se stimuliše imuni sistem, a samim tim i povećava otpornost ka infekcijama (Niezen et al., 1998; Min i Hart, 2003; Ramirez-Restrepo i Barry, 2005). Jedan od faktora jačanja imunog sistema je i povećanje apsorpcije esencijalnih AK pod uticajem tanina (Mupeyo et al., 2011). Mata Padrino et al. (2019) su ispitivali uticaj pašnjaka koji su sadržali žuti zvezdan na gastrointestinalne nematode *Haemonchus contortus* i ustanovili da tanini mogu imati i preventivno i terapeutsko dejstvo u suzbijanju ovih nematoda, te bi zasnivanje pašnjaka sa žutim zvezdanom trebalo biti sastavni deo sistema i strategije u kontroli gastro-intestinalnih parazita. Ramirez-Restrepo et al. (2002) su utvrdili da je broj jajašaca nematoda u fecesu, kao i stepen zaprljanosti zadnjeg dela tela (kao indikator proliva) bio veći kod grla (ovaca i jagnjadi) koja su pasla na pašnjaku engleskog ljulja i bele deteline od onih koja su pasla zvezdan.
- Uticao na prinos, kvalitet mleka i mlečnih proizvoda: Tanini u ishrani mogu da utiču na prinos i kvalitet mleka. Naime, dodatak kestenovih tanina u ishrani ovaca, može doprineti i većoj proizvodnji mleka (+18,64% u odnosu na kontrolu) sa većim sadržajem omega-3 masnih kiselina, uz istovremeno smanjenje sadržaja uree u mleku (Buccioni et al., 2015a). S druge strane Toral et al. (2011) su ustanovili da je dodatak kestenovih i kvebraho tanina u količini od 10 g /kg SM samo privremeno izmenio masnokiselinski sastav mleka ovaca (u korist nezasićenih masnih kiselina), dok efekti na prinos, i hemijski sastav mleka nisu utvrđeni. Dodavanje preparata kestenovih tanina u količini 20, 30, 40 g/dan u obrok mlečnih krava je doprinelo smanjenoj koncentraciji uree u mleku i broja somatskih ćelija (najviše sa 20 g/dan), dok je, s druge strane, primećena značajno veća produkcija mleka kod grupe koja je dobijala 40 g preparata na dan, uz istovremeno povećanje sadržaja proteina i laktoze (Ali et al., 2017). U odnosu na krave koje su konzumirale obrok bez dodatka tanina, krave koje su u toku

oglednog perioda unosile 20 g dnevno kestenovog taninskog preparata (komercijalni preparat Tanimil SCC), ostvarile su veći prosečan prinos mleka za 2,91%, dok je kod grupe krava kojoj je u obrok dodavano 40 g ovog preparata dnevno, mlečnost povećana za 1,8%, ali nije bilo statistički značajnih razlika između tretmana u količini proizvedenog mleka korigovanog na sadržaj mlečne masti od 4%, kao ni u hemijskom sastavu mleka (Jovetić, 2020). Dodatak kvebraho tanina (20 g preparata/kg SM obroka) u obrok bogat linolnom kiselinom nije značajno uticao na dugoročne promene u masnokiselinskom sastavu mleka ovaca (Toral et al., 2013). Ovce u laktaciji koje su pasle žuti zvezdan imale su veće prinose mleka za oko 20% od ovaca koje su se napasale lucerkom (Wang et al., 1994).

Kestenovi tanini (preparat sa 750 g ekvivalenta taninske kiseline po kg SM), u vodenom rastvoru koncentracije 200 g/L su totalno inhibirali proliferaciju plesni *Cladosporium cladosporoides* na površini ovčijih sireva, čime je sprečeno njihovo kvarenje (Messini et al., 2017).

- Uticaj na pojavu i suzbijanje proliva: Zahvaljujući sposobnosti tanina da talože proteine i na površini crevne sluzokože, pri čemu formiraju stabilne komplekse koji deluju kao zaštitna barijera, preveniraju se infekcije crevne sluzokože i sprečava gubitak vode preko crevnog zida, a kao posledica ovog mehanizma, tanini sprečavaju prolive (Pirman i Orešnik, 2016; Javornik et al., 2019). Dodavanjem kestenovih tanina (750 g ekvivalenta taninske kiseline/kg) u obrok teladi, ustanovljeno je da su kestenovi tanini uticali na značajno skraćivanje perioda od pojave proliva do normalizacije defeciranja i konzistencije fecesa (Bonelli et al., 2018). Dodavanje 1% preparata kestenovih tanina (54% HT) u obrok prasadi, smanjen je broj prasadi sa dijarejom kao i njeno trajanje (Girard et al., 2018a). Jedan od mogućih načina delovanja tanina je, da oni usled sposobnosti vezivanja proteina, mogu da inaktiviraju mikrobijalne adhezine i ekstracelularne mikrobijalne enzime, ali i da zaštite transportne proteine. Takođe, tanini mogu da spreče vezivanje patogena za epitel creva, dok neki polifenoli imaju mogućnost inaktivacije enterotoksina (Girard et al., 2018b). Pored navedenih načina, polifenoli mogu da utiču na oduzimanje supstrata neophodnog za rast i razvoj bakterija. Tako na primer, vezivanjem jona gvožđa, taninska kiselina utiče na smanjenje apsorpcije ovog elementa kod laboratorijskih pacova, čime inhibiše rast i ukupan patogena kojima je gvožđe neophodno, kao što je *E. coli* (Afsana et al., 2004). Konzumiranje brašna od komine grožđa (1% i 2% u koncentrovanom delu obroka) smanjuje brojnost bakterija (Molosse et al., 2021), što autori objašnjavaju činjenicom da ovo hranivo poseduje funkcionalna jedinjenja (tanine) sa antimikrobnim i prebiotskim karakteristikama, usled čega dovode do promena u mikrobioti.

- Uticaj na kvalitet zemljišta: U pogledu zaštite životne okoline, tanini pored uticaja na produkciju metana, utiču i na smanjenje zagađenja azotom. Naime, povećanje fekalnog azota i smanjenje urinarnog je veoma važno, budući da je azot iz urina prvenstveno urea, koja se brzo konvertuje u amonijak i azot(III)oksid, koji učestvuju u zagađenju životne okoline, dok fekalni azot ostaje u zemljištu i popravljiva plodnost istog kroz povećanje udela organske materije (Hristov et al., 2013). Smatra se da fekalni azot doprinosi boljem povećanju organske materije u zemljištu od urinarnog, te je, stoga, manje štetan oblik azota (Deaville et al., 2010).

## 4. MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

Istraživanja su sprovedena na imanju Instituta za stočarstvo u Beogradu (Autoput za Zagreb 16, 11080 Zemun, 44°50'20,66" N, 20°17'07,09" E). Životinje su bile smeštene na Eksperimentalnoj farmi ovaca, smeše koncentrata su pripremane u eksperimentalnoj mešaoni, kabasti deo obroka je obezbeđen sa obradivih površina, dok je većina analiza sprovedena u laboratorijama Instituta za stočarstvo.

U zavisnosti od sastava obroka, definisanih potreba i ciljanih prirasta, ispitivanje efekata dodavanja kestenovih tanina na hranljivu vrednost obroka i proizvodne rezultate u tovu jagnjadi je obavljeno kroz dva ogleđa, oba detaljnije objašnjena u okviru posebnih delova. U prvom ogledu (ogled broj 1) je korišćen standardni farmski obrok za ishranu odlučene jagnjadi. Ogled 1 je postavljen tako da reprezentuje standardne farmske uslove, što je podrazumevalo korišćenje jednog obroka u čitavom periodu tova, kao i ishranu u dužem periodu tova preko potreba. U drugom ogledu (ogled broj 2) su formulisani obroci deficitarni u metaboličkom proteinu, uz pretpostavku uticaja kestenovih tanina na njegovo povećanje. Naime, ogled 2 je postavljen tako da se ispituje da li se, u uslovima deficita u metaboličkom proteinu, kada obrok zadovoljava ostale potrebe, može očekivati povećanje proizvodnosti kod grupa koje dobijaju kestenove tanine. Ovakvom postavkom ogleđa sa nedostatkom metaboličkog proteina se očekuje da tanini mogu uticati na zaštitu dela proteina od razgradnje stvaranjem kompleksa, čime će se povećati udeo nerazgradivog proteina iz hrane, bez narušavanja mikrobijalnog proteina.

U ogleđima su korišćena jagnjad MIS rase, dobijena složenim kombinacijskim ukrštanjem pirotske pramenke, virtemberške (Merinolandschaf) i il de frans (Ile de France) rase (Petrović, 2006), koja su u ogleđe uvedena nakon odbijanja od majki.

U oba ogleđa, sprovedena je identična zdravstvena zaštita životinja. Po rođenju, jagnjadima je aplikovana injekcija preparata koji sadrži selen i vitamin E, radi prevencije nedostatka selena i avitominoza koja mogu dovesti do različitih uzgojnih bolesti (rahitis, degenerativna miopatija, mišićna distrofija i druge). Mesec dana nakon rođenja aplikovana je vakcina protiv klostridijalnih infekcija, uz revakcinu 14 dana nakon prve doze. Pri starosti od oko tri meseca, jagnjadima je aplikovana vakcina radi aktivne imunizacije protiv bolesti plavog jezika.

Radi bolje preglednosti, zajedničke osobine oba ogleđa su prikazana u okviru jednog potpoglavlja, dok će specifičnosti za svaki ogled biti definisane u okviru posebnih, jasno diferenciranih celina.

#### 4.1. KARAKTERIZACIJA PREPARATA KESTENOVIH TANINA

Kao izvor tanina korišćen je preparat tanina izolovanih iz pitomog kestena, komercijalnog naziva Farmatan Plus<sup>®</sup> (Slika 4.1.) proizvođača Tanin Sevnica (Tanin Sevnica d.d., Hermanova 1, 8290 Sevnica, Slovenia). Preparat je, po specifikaciji proizvođača, dobijen vodenom ekstrakcijom i sastoji se od  $73 \pm 2\%$  kestenovog ekstrakta (*Castanea sativa* Mill.) i 0,1% zaslađivača (ekstrakt stevie). Organoleptički, preparat je praškasta materija braon boje, intenzivnog drvenastog mirisa.

Kako bi se što jasnije definisao navedni preparat, utvrđen je njegov hemijski sastav (tabela 4.1.), na osnovu analiza detaljno opisanih u potpoglavlju 4.4. Pored hemijskog sastava, izvršena je i spektrofotometrijska analiza, kao i određivanje pojedinačnih polifenolnih jedinjenja korišćenjem reverzno-fazne tečne hromatografije visokih performansi sa masenom spektrometrijom.

**Tabela 4.1. Hemijski sastav preparata Farmatan Plus<sup>®</sup>**

Parametar*	Vrednost
Vlaga, g/kg	101,70
Suva materija, g/kg	898,30
Ukupni azot, g/kg SM	2,20
Sirovi proteini, g/kg SM	13,75
Sirove masti, g/kg SM	1,20
Sirova celuloza, g/kg SM	0,50
Sirovi pepeo, g/kg SM	19,40

\*SM - suva materija

Spektrofotometrijski je određena koncentracija ukupnih polifenola po Folin-Ciocalteu metodi (Singleton i Rossi, 1965), koncentracija flavonoida po Makkar (2000) i sadržaj kondenzovanih tanina po Nakamura et al. (2003)., što je prikazano u tabeli 4.2.

Za ekstrakciju, odmereno je oko 2,00 g biljnog materijala i dodato 20 ml rastvora za ekstrakciju (etanol : voda : HCl = 80 : 19 : 1). Nakon 2 časa stajanja na sobnoj temperaturi, dekantovan je rastvor, a čvrsti ostatak je još 2 puta ekstrahovan na sledeći način: 20 ml i 10 ml rastvora za ekstrakciju. Filtrat dobijen ceđenjem sakupljenih ekstrakata kroz Bihnerov levak prenet je u normalan sud od 50 ml, i razblažen rastvaračem do crte. Dobijeni ekstrakt je čuvan na tamnom i hladnom mestu.

Za određivanje sadržaja ukupnih polifenola u pripremljenim uzorcima korišćena je metoda po Folin-Ciocalteu, koja se zasniva na oksidaciji fenolnih jedinjenja pomoću reagensa (rastvora Folin-Ciocalteu). Ovaj rastvor sadrži smešu fosfor-volframove i fosfor-molibdenske kiseline, te on oksidiše fenolna jedinjenja, a sam se redukuje u smešu volfram-oksida i molibden-oksida. Rastvor postaje intenzivno plave boje, čiji je intenzitet srazmeran količini fenolnih jedinjenja. Plava boja oksida je stabilna. Intenzitet boje je meren spektrofotometrijski, na talasnoj dužini  $\lambda = 760$  nm. Postupak analize je bio sledeći: u erlenmajerovu tikvicu, zapremine 25 ml, otpipetirano je 0,25 ml uzorka, 15 ml destilovane vode, 1,25 ml Folin-Ciocalteu reagensa (potrebno ga je bilo razrediti neposredno pre merenja u odnosu 1:2). Nakon 3 minuta smeši je dodato 3,75 ml zasićenog rastvora Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a zatim je rastvaračem korišćenim za ekstrakciju dopunjen do crte. U slepu probu umesto uzorka dodat je isti volumen destilovane vode. Nakon toga, tikvice su termostatirane u vodenom kupatilu na 50° C 30 minuta, te je izmerena apsorbancija pri talasnoj dužini od 760 nm. Na osnovu izmerenih apsorbanci, sa kalibracione krive standardnog rastvora galne kiseline određena je masena koncentracija (mg/ml) polifenolnih jedinjenja, a zatim je sadržaj polifenolnih jedinjenja u biljnom materijalu izražen kao ekvivalent galne kiseline (mg galne kiseline / g ekstrakta ili biljnog materijala).

Flavonoidi i flavonoglikozidi imaju osobinu da sa metalima grade odgovarajuće komplekse. Naročito je važan kompleks sa Al<sup>3+</sup>, budući da se koncentracija flavonoida određuje primenom AlCl<sub>3</sub>

kao reagensa, spektrofotometrijskom metodom (Makkar, 2000). Priprema reakcione smeše je obavljena mešanjem 1,25 ml ekstrakta i 750  $\mu$ l 5% rastvora  $\text{NaNO}_2$ . Smeša je ostavljena da stoji 6 minuta, a zatim je dodato 1,5 ml 10% rastvora  $\text{AlCl}_3$  i smeša je ostavljena da stoji 5 minuta, nakon čega je dodato 7,5 ml 1M rastvora  $\text{NaOH}$ . Reakciona smeša je dopunjena dejonizovanom vodom do zapremine od 25 ml. Nakon 15 minuta reakciona smeša je dobila roze (pink) boju, i određivanje je vršeno spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 510 nm. Sadržaj ukupnih flavonoida je izražen kao g katehina / 100 g SM uzorka. Kontrolni uzorak je pripremljen mešanjem 1,25 ml ekstrakcionog rastvora sa odgovarajućim količinama reagenasa koji su korišćeni za pripremu uzorka.

Sadržaj kondenzovanih tanina je određen vanilin metodom prema Nakamura et al. (2003), a izračunat je iz kalibracione krive uz katehin kao standard. U 1 ml ekstrakta je dodato 2 ml sveže pripremljenog vanilina i 1,5 ml koncentrovane hlorovodonične kiseline. Smeša je ostavljena 15 minuta u vodenom kupatilu na 35° C, nakon čega je merena apsorbancija na 500 nm prema katehinu kao standardu. Kontrolni uzorak je pripremljen mešanjem 1,00 ml ekstrakcionog rastvora sa odgovarajućim količinama reagenasa koji su korišćeni za pripremu uzorka. Sadržaj kondenzovanih tanina je izražen kao g katehina / 100 g SM uzorka.

**Tabela 4.2. Sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i kondenzovanih tanina u preparatu Farmatan Plus®**

Parametar*	Vrednost
Ukupni polifenoli, g GAE/100 g SM	36,14
Flavonoidi, g CAE/100 g SM	17,01
Kondenzovani tanini, mg CAE/100 g SM	1339,77

\*g GAE/100 g SM – grama ekvivalenta galne kiseline u 100 grama suve materije; g ili mg CAE/100 g SM – grama ili miligrama ekvivalenta katehina u 100 grama suve materije.

Karakterizacija preparata kestenovih tanina (tabela 4.3.) je obuhvatila određivanje pojedinačnih fenolnih jedinjenja u preparatu kestenovih tanina. Analiza je izvedena primenom reverzno-fazne tečne hromatografije visokih performansi sa masenom spektrometrijom (engl. high-performance liquid chromatography - mass spectrometry, HPLC-MS). Preparat je ekstrahovan u metanolu, a ekstrakcija je trajala preko noći, u odsustvu svetlosti, na temperaturi od oko 4° C. Ekstrakt je 25 puta razblažen u metanolu i profiltriran kroz 0,22 mikronski najlon špric filter. Uzorci su injektirani u HPLC sistem (proizvođača Waters, SAD) sastavljen od pumpi, termostata i autoinjektora povezanog sa Waters 2996 Diode Array (poljem dioda) i EMD 1000 kvadrupol detektorom sa elektron-sprej jonizacionom (engl. electron spray ionization, ESI) probom istog proizvođača. Razdvajanje fenolnih jedinjenja je izvedeno pomoću Symmetry C-18 RP kolone, pakovane sa česticama prečnika 5  $\mu$ m (Waters, SAD) i povezane sa odgovarajućom pretkolonom. Dve mobilne faze, A (0,1 % rastvor mravlje kiseline) i B (acetonitril) su korišćene pri protoku od 1 mL/min u sledećem gradijentnom profilu: 0,0 - 20,0 min 10 % B, 2,0 - 30,0 min od 10 % do 20 % B, 30,0 - 35,0 min od 40 % do 50 % B, 35,0 min - 45 min od 50% do 70%, zatim 10 % B 15 min. Postkolonski delilac protoka mobilne faze (ASI, Richmond, SAD) sa 5/1 odnosom korišćen je za dobijanje optimalnog protoka (0,2 ml/min) mobilne faze za ESI probu. Za LC/MS analizu, signali svake komponente su detektovani u negativnom skenirajućem režimu (100 - 1000 m/z) sa sledećim parametrima ESI izvora: napon na kapilari - 3,0 kV; napon na konusu - 35V; napon ekstraktora i naponi RF sočiva su bili 3,0 odnosno 0,2V, redom. Temperatura izvora i temperatura desolvacije su bile 130° C, odnosno 400° C, u struji  $\text{N}_2$  od 500 l/h. Zbog nedostatka specifičnih standarda, vrednosti, tačnije prisutnost jedinjenja je prikazana gradacijski, od 1 do 5, gde su vrednosti definisane na sledeći način:



- 1 - nije prisutno
- 2 - u tragovima
- 3 - prisutno
- 4 - veoma prisutno
- 5 - izuzetno prisutno

Prikupljanje, obrada podataka i spektralna evaluacija za potvrdu pikova specifičnih jedinjenja urađena je pomoću Waters Empower 2 softvera. U samom preparatu detektovano je dvadeset i četiri fenolna jedinjenja, koja su, na osnovu prisustva u navedenom preparatu, svrstana u pomenute grupe, u zavisnosti od vidljivosti na hromatogramu, što je i prikazano u tabeli 4.3.



Slika 4.1. Izgled komercijalnog pakovanja korišćenog taninskog preparata

**Tabela 4.3. Karakterizacija fenolnih jedinjenja u preparatu Farmatan Plus®**

r.br	Naziv jedinjenja	$\lambda_{max}^*$	MW (g/mol)**	Prisustvo u preparatu	Klasa***
1	Veskalagin	224, 276	934	5	HT
2	Kastalagin	224, 276	934	5	HT
3	Galna kiselina	272	170	5	FK
4	Elaginska kiselina	254	302	5	FK
5	Dehidro tergalaginski-C-glukozid	250, 374	614	5	FG
6	Digaloil glukoza	274	484	5	FK
7	Monogaloil glukoza I	274	332	4	FK
8	Trigaloil glukoza	276	636	4	FK
9	Kretanin	280	470	4	FG
10	Elaginska kiselina-glukopiranozid	280	552	3	HT
11	Veskalin	230, 280	632	2	HT
12	Kastalin	230, 280	632	2	HT
13	Monogaloil glukoza II	274	332	2	HT
14	Tetragaloil glukoza	276	788	2	HT
15	Pentagaloil glukoza	274	940	2	HT
16	Protokatehuinska kiselina	297, 258	154	2	FK
17	Vanilinska kiselina	260, 292	168	2	FK
18	Siringinska kiselina	274	198	2	FK
19	Astragalin	280	448	2	FL
20	Kempferol kumaroil heksozid	280	594	2	FL
21	Protokatehualdehid	280, 310	138	1	FA
22	Vanilin	280, 312	152	1	FA
23	Koniferaldehid	290, 322	178	1	FL
24	Sinapaldehid	300, 338	208	1	FL

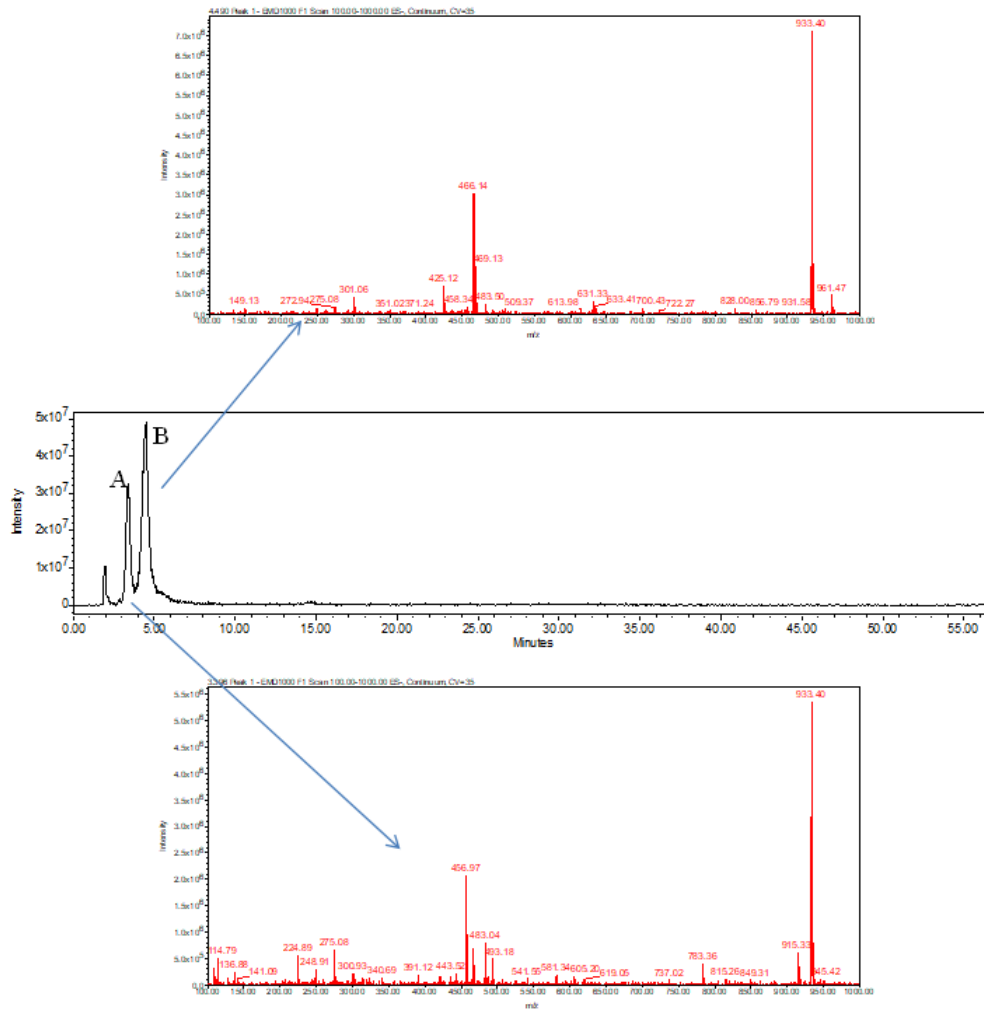
\* $\lambda_{max}$  - maksimalna talasna dužina;

\*\*MW - molekulska masa, prikazana u g/mol;

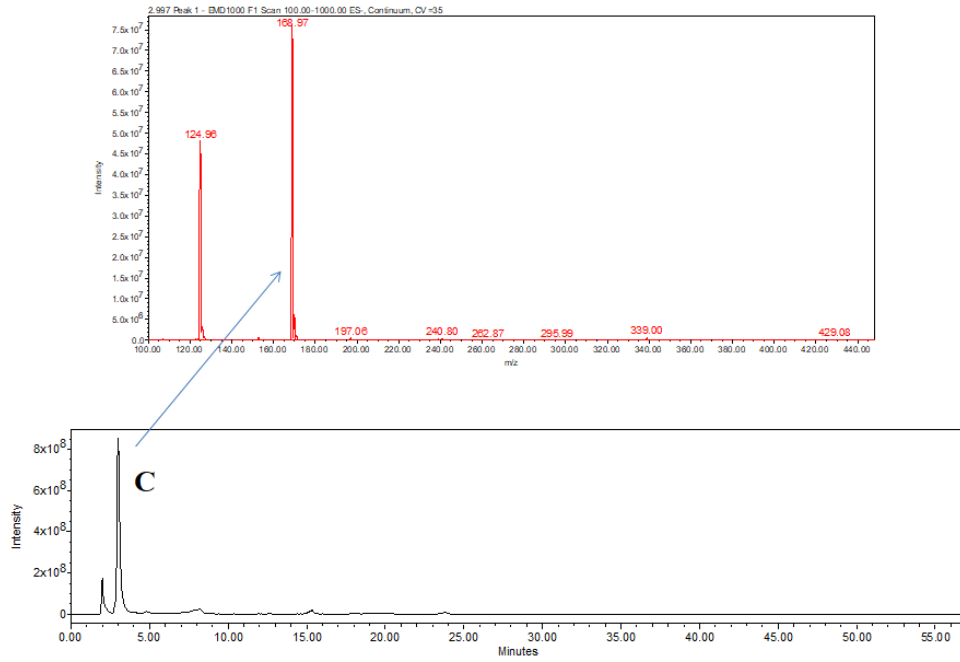
\*\*\*HT - hidrolizabilni tanini, FK - fenolna kiselina, FG - fenolni glukozid, FL - flavonoid, FA - fenolni aldehid

Klasa većine jedinjenja u navedenoj tabeli je dodeljena na osnovu otvorene baze hemijskih jedinjenja PubChem (Kim et al., 2021), uz izuzetak kretanina, čija je klasa dodeljena na osnovu Oracz et al. (2022), te su definisani hidrolizabilni tanini - HT, fenolne kiseline - FK, fenolni glukozidi - FG, flavonodi - FL i fenolni aldehidi - FA.

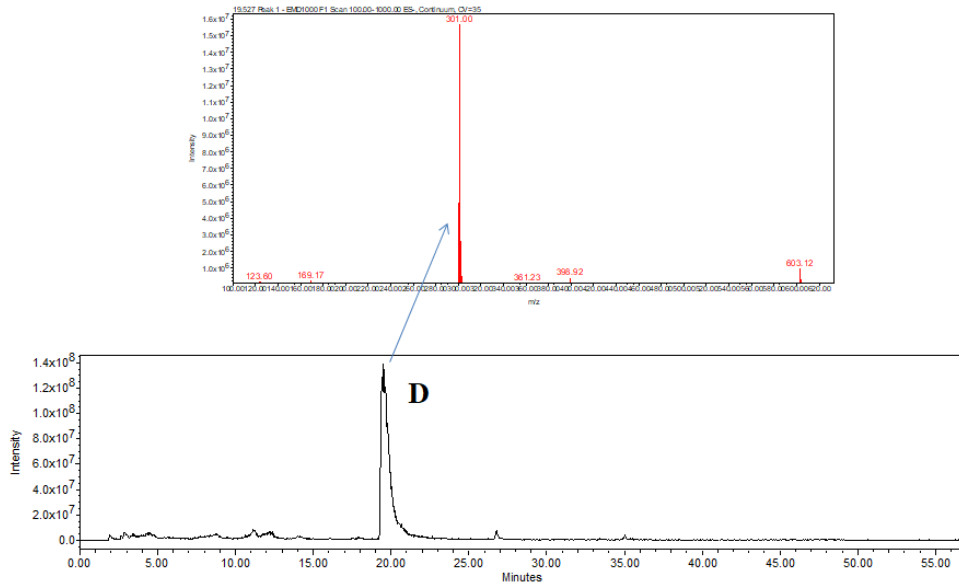
Od identifikovanih jedinjenja, za šest najzastupljenijih su prikazani njihovi hromatogrami sa pikovima: veskalagin i kastalagin (Slika 4.2), galna kiselina (Slika 4.3), elaginska kiselina (Slika 4.4), ali i glukozid tergalaginske kiseline (Slika 4.5), kao i galotanin digaloil glukoza (Slika 4.6).



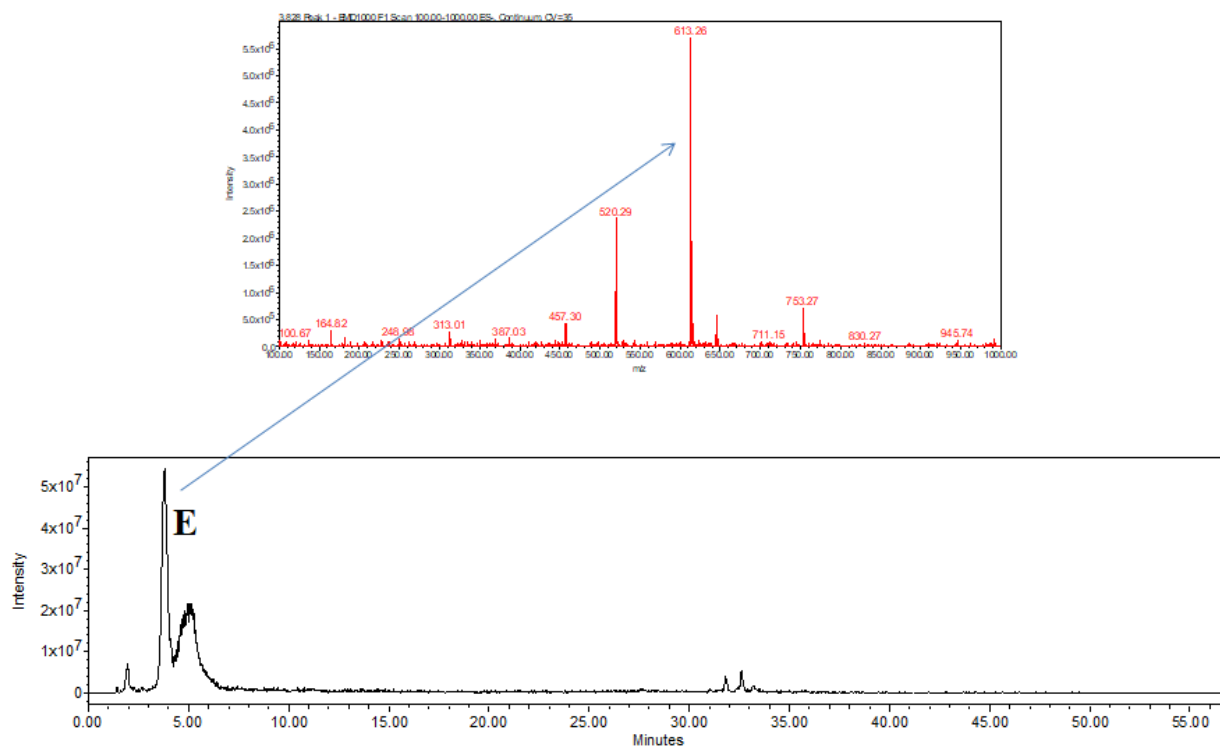
Slika 4.2: Hromatogram veskalagina (A) i kastalagina (B), sa prikazanim spektrima pikova



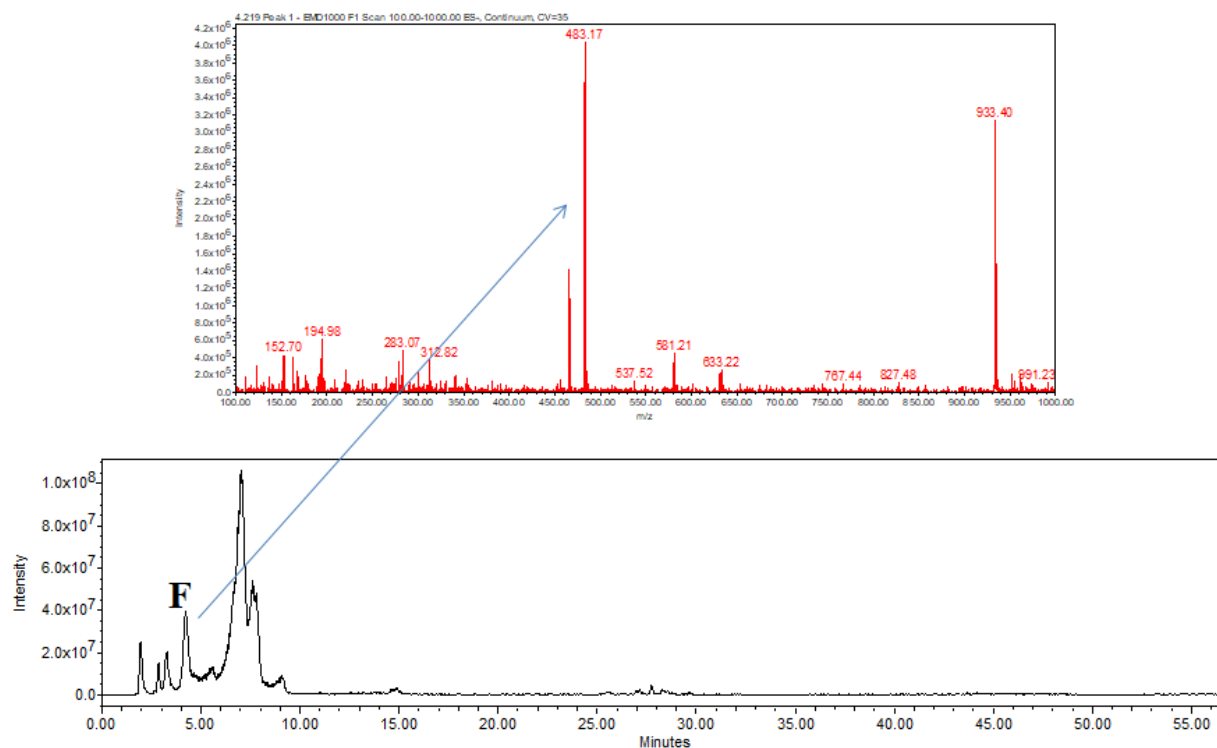
Slika 4.3: Hromatogram galne kiseline (C), sa prikazanim spektrom pika



Slika 4.4: Hromatogram elaginske kiseline (D), sa prikazanim spektrom pika



Slika 4.5: Hromatogram dehidro tergalaginskog-C-glukoze (E) sa prikazanim spektrom pika



Slika 4.6: Hromatogram digaloil glukoze (F) sa prikazanim spektrom pika

## 4.2. OGLED 1 - UTICAJ KESTENOVIIH TANINA U STANDARDNIM FARMSKIM USLOVIMA

### 4.2.1. Ogled 1 - plan ogleda i formiranje grupa

Ogled je, na osnovu stručnog mišljenja Etičke komisije o sprovođenju ogleda na životinjama, odobren od strane Uprave za veterinu, Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede. Broj rešenja 323-07-05054/2018-05.

U ogledu je korišćeno 30 jagnjadi muškog pola MIS rase. Jagnjad su uvedena u ogled u starosti od 2 meseca ( $\pm 3$  dana), odnosno nakon odbijanja od majki i jasno su obeležena brojem na vuni koji je označavao vezu sa majkom, kao i identifikacionim brojevima koji su aplikovani u obe ušne školjke.

Nakon odbijanja jagnjadi, izvršeno je merenje telesne mase i na osnovu tog parametra su formirane homogene grupe, po 10 jagnjadi. U pogledu telesne mase nije bilo statistički značajnih razlika između grupa ( $p > 0,05$ ). Prosečna telesna masa na početku ogleda je bila 20,55 kg, kako je prikazano u tabeli 4.4.

Eksperiment je postavljen kao jednofaktorijski ogled sa tri tretmana, gde je ispitivan uticaj tanina poreklom iz kestena. Parametri koji su praćeni su: konzumiranje hrane, prirasti, iskoristivost hrane, svarljivost hranljivih materija, metabolički profil krvi, kao i klanične osobine, prinos i kvalitet mesa, i analiza ekonomske održivosti.

U zavisnosti od količine tanina u ishrani formirane su tri grupe:

- K - kontrola (bez dodatih tanina),
- T1 koja je dobijala 9,46 g preparata po kg SM obroka
- T2 koja je dobijala 18,87 g preparata po kg SM obroka

Detaljnije o određivanju količine preparata je navedeno u okviru potpoglavlja 4.2.2. *Ogled 1 - sastav obroka i ishrana jagnjadi u ogledu.*

**Tabela 4.4. Ujednačenost grupa u ogledu 1**

Grupa	Broj životinja	Prosečna telesna masa, kg	Maksimalna vrednost kg	Minimalna vrednost, kg	Standardna devijacija (SD)	Koeficijent varijacije (CV), %
<b>K</b>	10	20,60	22,50	18,50	1,26	6,12
<b>T1</b>	10	20,50	22,50	18,50	1,28	6,27
<b>T2</b>	10	20,55	22,00	19,00	0,93	4,55

\*K - grupa bez dodatih tanina ; T1- grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka;

U toku ogleda, jagnjad su bila smeštena u objektu zatvorenog tipa sa dubokom prostirkom, a kao prostirka je korišćena pšenična slama. Jednom nedeljno dodavane su nove količine čiste prostirke.

Sve tri grupe jagnjadi (K, T1 i T2) su, pokretnim lesama, dodatno podeljene u po 5 posebnih bokseva (2 jagnjeta po boksu). Na taj način postavljen je jednofaktorijski ogled sa tri tretmana, sa pet ponavljanja po tretmanu. Jasle i valovi su bili dovoljno dugački da omoguće istovremeni pristup hrani grlima, u celom periodu tova. Napajanje je vršeno iz automatskih metalnih pojilica, sa neograničenim pristupom vodi.

Pre početka ogleda, izvedeno je prilagođavanje u trajanju od 7 dana, odnosno pri starosti grla od 60 ( $\pm$  3 dana) do 66 ( $\pm$  3 dana) dana. Prilagođavanje je imalo za cilj da se jagnjad priviknu na uslove koji će postojati u ogledu, pre njegovog početka. Nakon inicijalnog deljenja u grupe i spajanja jagnjadi u bokseve, postepeno im je uvođen koncentrovani deo osnovnog obroka, uz njegovo dnevno povećanje od 150 g po grlu, kako bi 6. i 7. dana davana puna količina, predviđena ogledom. Što se kabastog dela obroka tiče, davano je seno istog porekla, kvaliteta i količine, predviđeno ogledom. Nakon perioda prilagođavanja, sproveden je ogled u trajanju od 60 dana.

#### 4.2.2. Ogled 1 - sastav obroka i ishrana jagnjadi u ogledu

Za ishranu jagnjadi u ogledu korišćen je standardni obrok koji se koristi na Eksperimentalnoj farmi Instituta za stočarstvo. Obrok jagnjadi se sastojao iz kabastog i koncentrovanog dela. Sve tri grupe jagnjadi su hranjene istim osnovnim obrokom, uz jedinu razliku u količini dodatog taninskog preparata.

Kabasti deo obroka je činilo seno lucerke, dobijeno sa obradivih površina Instituta za stočarstvo. Lucerkino seno je obezbeđeno košenjem drugog otkosa na početku faze cvetanja. Jagnjad su dnevno dobijala 0,70 kg sena/grlu.

Smeša koncentrata je pravljena u pogonu za proizvodnju stočne hrane Instituta za stočarstvo. Preparat kestenovih tanina je dodavan kroz smešu koncentrata i to 0 g/kg, 15 g/kg i 30 g/kg smeše redom za K, T1 i T2. Jagnjad su dnevno dobijala 0,90 kg koncentrata/grlu, odnosno 0 g, 13,5 g i 27 g taninskog preparata na dan. Sastav i hranljiva vrednost obroka su prikazani u tabeli 4.5.

Tačan hemijski sastav je utvrđen na osnovu hemijskih analiza, dok je hranljiva vrednost smeše i obroka ocenjena holandskim - CVB 2016 normativima za ishranu ovaca (CVB, 2018).

Raspored davanja hraniva je bio takav da je jagnjadima prvo davana dnevna količina koncentrovanog dela obroka u posebne posude (valove), a zatim seno u jaslje sa punim dnom, kako bi se sprečio rastur (Slika 4.7). Hrana je davana jedanput dnevno, u jutarnjim časovima, uvek u isto vreme (od 7:00). Svakodnevno su mereni ostaci hrane (koncentrovane i kabaste), a zatim su u prazne jaslje stavljana sveža hraniva u količini od 0,7 kg sena i 0,9 kg koncentrata.



**Slika 4.7: Konzumiranje sena iz jaslja**

**Tabela 4.5. Sastav i hranljiva vrednost obroka u ogledu 1**

<b>Obrok</b> <b>Hranivo</b>	<b>Grupa*</b>		
	<b>K</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Lucerkino seno, g/dan	700,00	700,00	700,00
Kukuruz, zrno, g/dan	479,70	472,50	465,30
Suncokretova sačma, g/dan	281,70	277,47	273,24
Pšenično stočno brašno, g/dan	108,00	106,38	104,76
So, g/dan	18,00	17,73	17,46
Monokalcijum fosfat, g/dan	2,70	2,70	2,61
Stočna kreda, g/dan	5,40	5,31	5,22
Vitaminsko mineralni premiks, g/dan	4,50	4,41	4,41
Taninski preparat, g/dan	0,00	13,50	27,00
Ukupno, g/dan	1600,00	1600,00	1600,00
<b>Hemijski sastav obroka, g/kg SM**</b>			
Suva materija, g/kg obroka	892,77	891,87	894,06
Sirovi protein	185,10	185,41	182,20
Sirove masti	29,91	29,23	30,71
Sirova celuloza	182,76	180,16	178,25
Sirovi pepeo	67,64	64,73	66,90
NDF	329,04	316,31	313,09
ADF	231,62	232,24	232,86
BEM	534,59	540,46	541,95
NFC	408,04	423,98	426,95
Kalcijum	10,33	8,97	9,78
Fosfor	5,80	5,86	5,74
Pepeo nerastvorljiv u HCl	4,04	4,03	4,15
Šećeri	67,63	65,46	65,28
NDICP	19,73	19,66	19,85
ADICP	7,66	7,72	7,56
Ukupni polifenoli g GAE/100 g SM	5,73	10,60	15,49
Flavonoidi g CAE/100 g SM	3,72	6,02	8,31
Kondenzovani tanini mg CAE/100 g SM	410,91	591,78	772,63
<b>Hranljiva vrednost obroka, na osnovu CVB 2016 (2018)***</b>			
NEmeat, MJ/dan	9,96	9,86	9,75
Metabolički protein, g/dan	118,31	117,21	116,11
bRP, g/dan	14,91	15,08	15,25
<b>Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu****</b>			
<b>Telesna masa, kg</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>35</b>
Konsumiranje suve materije, kg/dan	0,60 - 1,10	0,80 - 1,30	1,00 - 1,50
NEmeat, MJ/dan	5,52 - 7,80	6,35 - 8,90	7,11 - 10,01
Metabolički protein, g/dan	79,00 - 107,00	83,00 - 113,00	86,00 - 119,00
bRP	≥ 0,00	≥ 0,00	≥ 0,00

\*K - grupa bez dodatih tanina ; T1- grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*NDF - vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu; ADF - vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu; BEM - bezazotne ekstraktivne materije; NFC - nevlaknasti ugljeni hidrati; NDICP - proteini vezani za NDF; ADICP - proteini vezani za ADF; g GAE/100 g SM – grama ekvivalenta galne kiseline u 100 grama suve materije; g ili mg CAE/100 g SM – grama ili miligrama ekvivalenta katehina u 100 grama suve materije.

\*\*\* NEmeat - neto energija za porast; bRP - bilans razgrađivih proteina;

\*\*\*\*Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu, pri željenim prosečnim dnevnim prirastima 200-300 g, u zavisnosti od telesne mase, na osnovu CVB 2016 (2018)



Ukupne potrebe jagnjadi u tovu su, na osnovu holandskog CVB 2016 normativa (CVB, 2018), određene na osnovu telesnih masa i očekivanog prirasta između 200 i 300 grama. Vrednosti neto energije za porast (NEmeat) i metaboličkog proteina (MP) u okviru iste telesne mase predstavljaju intervalno zavisne vrednosti u odnosu na željene priraste. Tako, za životinje telesne mase 25 kg, pri željenom prirastu od 200 gr, potrebno je obezbediti 5,52 MJ/dan NEmeat i 79 g/dan MP, dok recimo pri istoj telesnoj masi, ali pri željenom dnevnom prirastu od 300 g treba obezbediti 7,80 MJ/dan NEmeat i 107 g/dan MP. Ipak, prema navedenom sistemu, MP nije samostalni parametar, već zavisi od tzv. bilansa razgradivih proteina (bRP) koji predstavlja razliku u mogućoj sintezi mikrobijalnog proteina u buragu, te njegova vrednost može biti pozitivna ili negativna, u zavisnosti od hraniva koji se koriste (Božičković et al., 2020). Isti autori navode da pored zadovoljenja parametra MP, obrok treba biti tako sastavljen da vrednost bRP bude pozitivna i što bliža nuli, budući da korišćeni sistem pravilno procenjuje MP samo u takvim situacijama.

Kao vitaminsko-mineralni dodatak je korišćen premiks za jagnjad i jarad u porastu i tovu, proizvođača Gebi, D.O.O, (Maršala Tita 46, 24220 Čantavir, Republika Srbija), čiji sirovinski sastav čini: monokalcijum-fosfat, kalcijum-karbonat, natrijum-hlorid, mikroelementi, vitamini, organski vezani selen, žive ćelije kvasca, Neozel, antioksidant i kukuruzno stočno brašno kao nosač za premiks. Detaljni hemijski sastav vitaminsko-mineralnog premiksa je prikazan u tabeli 4.6.

**Tabela 4.6. Hemijski sastav premiksa (u 1 kg), na osnovu proizvođačke specifikacije**

Komponente premiksa*	Količina
Vitamin A, E-672, IJ	500.000
Vitamin D <sub>3</sub> , E-671, IJ	50.000
Vitamin E, mg	4.000
Vitamin K <sub>3</sub> , mg	150
Vitamin B <sub>1</sub> , mg	500
Vitamin B <sub>2</sub> , mg	200
Vitamin B <sub>6</sub> , mg	150
Vitamin B <sub>12</sub> , mg	1,5
Vitamin C, mg	3.000
Holin, mg	6.000
Biotin, mg	5
Folna kiselina, mg	6
Niacin, mg	1.000
Pantotenska kiselina, mg	500
Kalcijum (Ca), najmanje %	24,00
Fosfor (P), najmanje %	4,00
Natrijum (Na), najmanje %	5,00
Magnezijum (Mg), najmanje %	2,00
Gvožđe (Fe), E-1, mg	1.350
Bakar (Cu), E-4, mg	300
Mangan (Mn), E-5, mg	1.200
Cink (Zn), E-6, mg	1.700
Jod (J), E-2, mg	26
Selen (Se), E-8, mg	4
Kobalt (Co), E-3, mg	4
Organski selen, mg	1.000
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , CFU	2x10 <sup>6</sup>
Antioksidant: E-321, E-320, E-338, E-202, mg/kg, najmanje	4.000

\*kao nosač je korišćeno kukuruzno stočno brašno

### 4.2.3. Oglad 1 - ispitivanje svarljivosti hranljivih materija

Uticaj tanina na svarljivost hranljivih materija je utvrđen određivanjem grupne prividne svarljivosti indirektnom metodom, upotrebom indikatora. Kao indikator pri određivanju koeficijenata svarljivosti je korišćen sadržaj pepela nerastvorljivog u hlorovodoničnoj kiselini u hrani i fecesu. Princip indirektnog određivanja svarljivosti se zasniva na praćenju odnosa između inertne materije (indikatora) i hranljive materije u suvoj materiji hrane i izmeta (Đorđević et al., 2003). Indikator se ne resorbuje i ne utiče na varenje hranljivih sastojaka, niti utiče na zdravlje i produkciju životinje. Kolekcionni period je trajao 5 dana, a kolekcija fecesa je vršena u tri kolekciona perioda:

- 1. od 15. do 19. dana
- 2. od 30. do 34. dana
- 3. od 45. do 49. dana

Feces se sakupljao ujutru pre hranjenja i popodne u svakom boksu direktno sa prostirke, nakon čega su uzorci homogenizovani u zajednički dnevni uzorak za grupu, i skladišteni na temperaturi od 4° C. Nakon određivanja sirovog proteina, uzorci su pakovani u plastične vreće i skladišteni u zamrzivaču na -20° C za dalje analize.

U uzorcima je određen je hemijski sastav fecesa Weende metodom (određivanje vlage, sirovog pepela, kalcijuma i fosfora, sirovog proteina Kjeldahl-ovom metodom, sirove masti i sirove celuloze), sadržaj vlakana po Van Soest-u (neutralna i kisela deterdžentska vlakna) i pepeo nerastvorljiv u hlorovodoničnoj kiselini.

Prividna svarljivost je utvrđena primenom sledeće formule:

$$\text{Svarljivost (\%)} = 100 - \left[ \frac{\% \text{ indikatora u hrani}}{\% \text{ indikatora u izmetu}} \times \frac{\% \text{ hranljive materije u izmetu}}{\% \text{ hranljive materije u hrani}} \right] \times 100$$

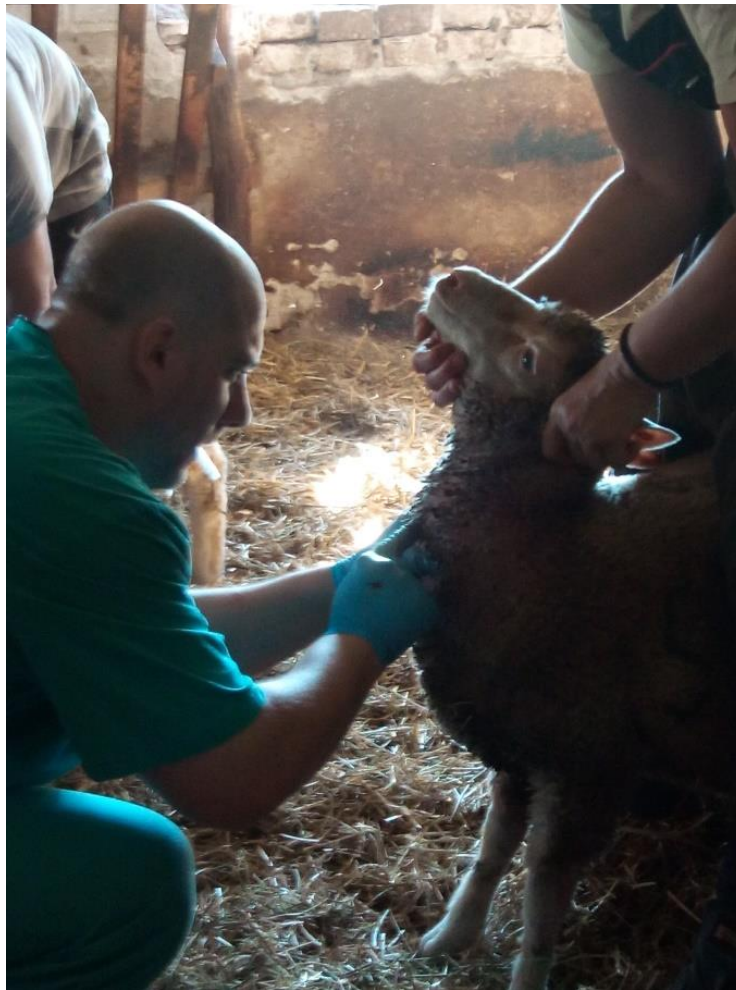
Na osnovu navedene formule, svarljivost je određena za sledeće parametre:

- suva materija,
- organska materija,
- sirovi proteini,
- sirove masti,
- sirova celuloza,
- NDF i ADF,
- BEM
- NFC

#### 4.2.4. Oglad 1 - metabolički profil krvi

Pod terminom metabolički profil krvi jagnjadi smatra se analiza različitih hemijskih supstanci i parametara prisutnih u krvi jagnjadi. Ova analiza pruža informacije o metaboličkom stanju i funkciji organizma, kao i o ravnoteži različitih nutrijenata i biomarkera (homeostazi). Metabolički profil krvi jagnjadi se često koristi kao dijagnostički alat za procenu zdravstvenog stanja, kao i za praćenje efikasnosti ishrane i/ili terapije. Variranje posmatranih parametara može ukazivati na prisustvo bolesti, nutritivne deficijencije ili na metaboličke poremećaje, odnosno može pružiti uvid u fiziološke procese i zdravlje organizma. Budući da su tanini supstance koje mogu uticati na promene metaboličkih parametara, pre svega u metabolizam proteina i masti, ali i na aktivnost enzima i elektrolita i drugih minerala u krvi, u okviru oglada 1 je sprovedena analiza metaboličkog profila jagnjadi u tovu.

Prvog i poslednjeg dana oglada, jagnjadima je vađena krv iz jugularne vene (*v. jugularis*) radi biohemijskih ispitivanja (Slika 4.8), u skladu sa Zakonom o dobrobiti životinja (Službeni glasnik Republike Srbije, broj 41/2009).



Slika 4.8: Uzorkovanje krvi

Uzorci krvi su uzimani u standardne vakutainer epruvete (BD Vacutainer® SST II Advance zapremine 3,5 ml; BD Vacutainer® K<sub>2</sub>E 3,6 mg zapremine 2,0 ml; BD Vacutainer® NaF 3,0 mg, Na<sub>2</sub>EDTA 6,0 mg, zapremine 2,0 ml), a biohemijski parametri koji su određivani su: koncentracija ukupnih proteina, albumina, globulina, uree, kreatinina, glukoze, ukupnog bilirubina, transaminaza (aspartat aminotransferaza – AST i gama-glutamil transferaza – GGT), kreatin kinaze - CK, holesterola, triglicerida, kalcijuma, fosfora i magnezijuma. Nakon uzorkovanja, krv je čuvana u hladnom lancu na temperaturi od 2° C do 8° C, a analize su rađene istog dana po uzimanju uzoraka. Metabolički profil krvi je rađen eksterno u akreditovanoj laboratoriji.

Analize su rađene na aparatu Olympus AU 400, a metode i referentne vrednosti su definisane na osnovu Baumgartner i Wittek (2017). Radi bolje preglednosti, metode za određivanje navedenih parametara su prikazane u tabeli 4.7.

**Tabela 4.7. Metode za određivanje parametara metaboličkog profila krvi jagnjadi**

<b>Parametar</b>	<b>Metoda</b>
Ukupni proteini	Biuretska
Albumini	Bromkrezol zeleno
Globulini	Kalkulaciona metoda
Ukupni bilirubin	Diazonijum jon (DPD)
Holesterol	Tečni holesterol (CHO-POD)
Glukoza	Heksokinaza - Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza (HK G6P-DH)
Urea	Ureaza/Glutamat dehidrogenaza (GLDH)
Kreatinin	Jaffe IDMS Traceable (Metoda A)
AST	Modifikovana metoda bez P-5-P
GGT	IFCC
CK	IFCC
Kalcijum	Arsenazo
Fosfor	UV - molibdat
Magnezijum	Ksilidin-plavo
Trigliceridi	Združena enzimaska reakcija

### 4.3. OGLED 2 – UTICAJ TANINA U USLOVIMA DEFICITA METABOLIČKOG PROTEINA

#### 4.3.1. Ogled 2 - plan ogleda i formiranje grupa

Ogled je, na osnovu stručnog mišljenja Etičke komisije o sprovođenju ogleda na životinjama, odobren od strane Uprave za veterinu, Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede. Broj rešenja 323-07-04346/2019-05.

Ogled je izveden na tri grupe jagnjadi MIS rase oba pola (odnos polova 1:1), sa po 10 jagnjadi po grupi (ukupno 30). Jagnjad su uvedena u ogled u starosti od 2 meseca ( $60 \pm 5$  dana), odnosno nakon odbijanja od majki i jasno su obeležena brojem na vuni koji je označavao vezu sa majkom, i identifikacionim brojevima koji su aplicirani u obe ušne školjke. Nakon odbijanja jagnjadi, izvršeno je merenje telesne mase i na osnovu tog parametra su formirane homogene grupe, sa po 10 jagnjadi (5 ženskih i 5 muških grla). U pogledu telesne mase, nije bilo statistički značajnih razlika ( $p > 0,05$ ) između grupa. Prosečna telesna masa na početku ogleda je bila 20,50 kg, što je prikazano u tabeli 4.8.

**Tabela 4.8. Ujednačenost grupa na početku ogleda 2**

Grupa*	TM grupe (prosek), kg	TM muških grla (prosek), kg	TM ženskih grla (prosek), kg	Maksimalna vrednost, kg	Minimalna vrednost, kg	SD	CV, %
<b>KON</b>	20,50	20,50	20,50	23,50	16,00	2,19	10,69
<b>10T</b>	20,50	20,50	20,50	25,00	16,00	2,39	11,65
<b>20T</b>	20,50	20,40	20,60	24,00	17,00	2,06	10,06

\*KON - kontrolna grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka

U toku ogleda, jagnjad su bila smeštena u objektu zatvorenog tipa sa dubokom prostirkom, a kao prostirka je korišćena pšenična slama. Nove količine prostirke su dodavane jednom nedeljno. Sve tri grupe jagnjadi (KON, 10T i 20T) su podeljene u posebne, jasno obeležene bokseve u kojima je držano 10 jagnjadi zajedno. Jasle i valovi su bili dovoljno dugački da omoguće istovremeni pristup hrani svim grlima, u celom periodu tova. Napajanje je vršeno iz automatskih metalnih pojilica, sa neograničenim pristupom vodi.

Pre početka ogleda, izvršen je adaptacioni period u trajanju od 6 dana, odnosno pri starosti životinja od 60. ( $\pm 5$  dana) do 65. ( $\pm 5$  dana) dana. Period prilagođavanja je izvršen tako što je nakon inicijalnog deljenja u grupe, jagnjadima postepeno uveden koncentrovani deo osnovnog obroka, uz njegovo dnevno povećanje od 120 g po grlu, kako bi 6. dana davana puna količina, predviđena ogledom. Što se kabastog dela obroka tiče, davano je livadsko i lucerkino seno u istoj količini koja je predviđena u eksperimentalnom delu ogleda (430 g livadskog sena i 270 g lucerkino sena po grlu). Nakon adaptacionog perioda, sproveden je hranidbeni deo ogleda u trajanju od 60 dana.

#### 4.3.2. Ogled 2 - sastav obroka i ishrana jagnjadi u ogledu

Obrok jagnjadi se sastojao iz kabastog i koncentrovanog dela, koji se razlikovao po udelu dodatih tanina. Na osnovu udela taninskog preparata u obroku formirane su tri grupe:

- KON - kontrola, bez dodatih tanina,
- 10T - prosečno 20,17 g preparata/kg SM obroka i
- 20T - prosečno 40,33 g preparata/kg SM obroka

Na osnovu ovako koncipiranih obroka, grla su dobijala dnevno do 61,70 g taninskog preparata (tabela 4.9).

Kabasti deo obroka je činilo lucerkino i livadsko seno, dobijeno sa obradivih površina Instituta za stočarstvo. Seno je pripremljeno košenjem drugog otkosa na početku faze cvetanja. Kao treća komponenta kabastog dela obroka korišćena je silaža cele biljke kukuruza, takođe dobijena sa obradivih površina i lagerovana u silo-trenčeve Instituta za stočarstvo. Smeša koncentrata je pravljena u pogonu za proizvodnju stočne hrane Instituta za stočarstvo. Vitaminsko-mineralni premiks je bio isti kao i u ogledu 1 (tabela 4.6.). Takođe, kao i u ogledu 1, kestenovi tanini su dodavani direktno kroz koncentrovani deo obroka. Sastav obroka i smeše, kao i hranljiva vrednost obroka su prikazani u tabeli 4.9. Obroci su formirani na osnovu CVB 2016 normativa (CVB, 2018), a potrebe su određene na osnovu telesne mase jagnjadi i pretpostavljenog prosečnog prirasta 250 - 275 grama (tabela 4.9.). Naime, obrok je sastavljen tako da zadovolji potrebe u MP za prirast od 250 g/dan, dok je NEmeat bilo više za oko 14% (13,50%, 14,20% i 14,10% u obroku 1, 2 i 3, redom), što odgovara prirastu od oko 275 g/dan. Na taj način, korišćena su tri obroka uz pretpostavku da će uticaj tanina dovesti do zadovoljenja potreba za prirast veći od 250 g/dan. Svaki obrok je davan po 20 dana jagnjadima, odnosno period korišćenja obroka 1 bio je od 1. do 20. dana ogleda (starost jagnjadi od  $66 \pm 5$  dana do  $85 \pm 5$  dana), obroka 2 od 21. do 40 dana (starost jagnjadi od  $86 \pm 5$  dana do  $105 \pm 5$  dana) i obroka 3 od 41. do 60. dana trajanja ogleda, odnosno pri starosti jagnjadi od  $106 \pm 5$  dana do  $125 \pm 5$  dana. Metabolički protein se, na osnovu pomenutih normativa, sastoji od količine nerazgradivog proteina svarljivog u tankim crevima, količini mikrobijalnog proteina buraga svarljivog u tankim crevima (Božičković et al., 2018), kao i od ukupnog endogenog SP izgubljenog u procesima varenja (Božičković et al., 2020). Metabolički protein koji se dobije sabiranjem nerazgradivog i mikrobijalnog se koriguje za količinu endogenog proteina (protein enzima i ćelija digestivnog trakta) izlučenog sa fecesom (Božičković et al., 2018).

Ishrana je organizovana grupno, a količina date hrane je određena na osnovu grupe koja najmanje konzumira. Pošto se radi o životinjama u porastu, kod kojih mogućnost konzumiranja suve materije raste, količina date hrane je prilagođavana na dnevnom nivou. Sve tri grupe su dobijale istu količinu sena. Konkretna količina sena koju su grla dobijala je određena tako da 10% sena preostane u jaslama kod grupe čije je konzumiranje najmanje. Silaža i koncentrovani deo obroka su određivani u odnosu na količinu datog sena, na taj način da je odnos kabastog i koncentrovanog dela bio nepromenjen u obroku. Cilj ovakvog načina ishrane je bio isključivanje boljeg konzumiranja suve materije, da bi se eventualno bolje napredovanje pojedinih grupa moglo pripisati isključivo boljem korišćenju proteina.

Raspored davanja hraniva je bio takav da je jagnjadima prvo davana dnevna količina koncentrovanog dela obroka u posebne posude (valove), zatim silaža (u obrocima 2 i 3), i na kraju seno. Silaža i seno su grlima davani u jaslje sa punim dnom, kako bi se sprečio rastur. Hrana je distribuirana jednom dnevno, u jutarnjim časovima, uvek u isto vreme (od 7:00).

Tabela 4.9. Sastav i hranljiva vrednost obroka u ogledu 2

OBROCI	OBROK 1			OBROK 2			OBROK 3		
Grupa*	KON	10T	20T	KON	10T	20T	KON	10T	20T
Livadsko seno, g/dan	470	470	470	750	750	750	960	960	960
Lucerkino seno, g/dan	230	230	230	/	/	/	/	/	/
Kukuruzna silaža, g/dan	/	/	/	100	100	100	320	320	320
Kukuruz, zrno, g/dan	330	330	330	300	300	300	170	170	170
Suncokretova sačma, g/dan	110	110	110	230	230	230	290	290	290
Pšenično stočno brašno, g/dan	150	150	150	150	150	150	70	70	70
So, g/dan	5,5	5,5	5,5	3	3	3	7,2	7,2	7,2
Monokalcijum fosfat, g/dan	2	2	2	22	22	22	16	16	16
Vitaminsko mineralni premiks, g/dan	15,7	15,7	15,7	19	19	19	14	14	14
Taninski preparat, g/dan	0	24	48,9	0	27,8	56,6	0	30,3	61,7
Ukupno, g/dan	1313,2	1337,2	1362,1	1574,0	1601,8	1630,6	1847,2	1877,5	1908,9
<b>Hemijski sastav obroka**, g/kg SM</b>									
Suva materija, g/kg obroka	888,74	890,23	889,92	859,55	862,08	860,73	796,48	798,63	801,35
Sirovi protein	149,96	144,88	148,91	138,21	137,74	136,4	135,29	136,52	131,42
Sirove masti	19,85	18,95	18,94	19,4	17,88	18,41	15,94	15,79	15,88
Sirova celuloza	169,3	171,13	174,89	194,46	195,39	182,93	237,22	238,13	232,48
Sirovi pepeo	99,1	102,24	98,45	99,69	100,91	99,03	96,52	97,36	97,02
NDF	421,8	414,87	413,16	478,13	476,43	456,52	548,36	550,21	538,78
ADF	265,12	264,55	271,4	305,93	302,46	290,79	359,57	358,1	350,63
BEM	561,78	562,8	558,81	548,22	548,14	563,21	515,03	512,2	523,21
NFC	332,38	341,65	343,38	286,5	288,86	310,86	228,19	224,45	240,73
Kalcijum	9,06	10,46	8,84	10,38	14,08	13,02	8,81	10,18	10,51
Fosfor	5,1	4,87	5,34	5,52	6,06	5,06	5,42	5,85	5,9
Pepeo nerastvorljiv u HCl	11,18	11,47	11,13	14,75	14,77	14,47	16,42	16,38	15,89
Šećeri	46,13	45,11	47,96	48,54	49,33	49,25	47,2	47,98	48,48
NDICP	23,1	22,59	22,83	21,94	21,81	21,22	24,3	24,33	23,83
ADICP	7,92	7,71	7,4	7,06	7,25	7,26	8,35	8,38	8,36
Ukupni polifenoli, g GAE/100 g SM	7,22	15,89	24,89	6,61	8,45	10,35	8,14	10,61	13,16
Flavonoidi, g CAE/100 g SM	3,58	7,66	11,9	3,97	5,07	6,22	4,63	6,03	7,49
Kondenzovani tanini, mg CAE/100 g SM	526,47	848,01	1181,62	642,47	821,08	1006,11	631,93	823,4	1021,83
<b>Hranljiva vrednost obroka***</b>									
NEmeat, MJ/dan	7,45	7,45	7,45	8,59	8,59	8,59	9,61	9,61	9,61
Metabolički protein, g/dan	91,26	91,26	91,26	95,70	95,70	95,70	100,08	100,08	100,08
bRP, g/dan	0,12	0,12	0,12	0,90	0,90	0,90	0,34	0,34	0,34
<b>Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu****</b>									
<b>Telesna masa, kg</b>	<b>25</b>			<b>30</b>			<b>35</b>		
Prirast, g/dan	<b>250</b>		<b>275</b>	<b>250</b>		<b>275</b>	<b>250</b>		<b>275</b>
Konsumiranje suve materije, kg/dan	0,60 - 1,10		0,60 - 1,10	0,80 - 1,30		0,80 - 1,30	1,00 - 1,50		1,00 - 1,50
bRP, g/dan	≥ 0,00		≥ 0,00	≥ 0,00		≥ 0,00	≥ 0,00		≥ 0,00
NEmeat, MJ/dan	6,56		7,18	7,52		8,21	8,42		9,22
Metabolički protein, g/dan	92		99,5	97		105	102		110,5

\*KON - kontrolna grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala prosečno 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala prosečno 40,33 g preparata/kg SM obroka.

\*\*NDF - vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu; ADF - vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu; BEM - bezazotne ekstraktivne materije; NFC - nevlaknasti ugljeni hidrati; NDICP - proteini vezani za NDF; ADICP - proteini vezani za ADF; Ukupni polifenoli g GAE/100 g SM – grama ekvivalenta galne kiseline u 100 grama suve materije; Flavonoidi izraženi u g CAE/100 g SM – grama i Kondenzovani tanini izraženi u mg CAE/100g SM - miligrama ekvivalenta katehina u 100 grama suve materije.

\*\*\*NEmeat - neto energija za porast; bRP - bilans razgradivih proteina.

\*\*\*\*Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu, pri željenim prosečnim dnevnim prirastima 250-275 g, u zavisnosti od telesne mase, na osnovu CVB 2016 (2018).

### 4.3.3. Oglad 2 - ispitivanje svarljivosti hranljivih materija

Uticao tanina na svarljivost hranljivih materija je utvrđen određivanjem prividne svarljivosti indirektnom metodom, upotrebom indikatora. Kao indikator pri određivanju koeficijenata svarljivosti je, kao i u ogledu 1, korišćen sadržaj pepela nerastvorljivog u hlorovodoničnoj kiselini u hrani i fecesu. Kolekcionni period je trajao 6 dana, a kolekcija fecesa je vršena u tri kolekcionna perioda:

- 1. od 14. do 19. dana oglada
- 2. od 29. do 34. dana oglada
- 3. od 44. do 49. dana oglada

Na taj način utvrđeni su koeficijenti svarljivosti za 1. 2. i 3. obrok. Za ispitivanje svarljivosti korišćeno je po šest životinja iz svake grupe, kojima su aplikovane fekalne vreće, izrađene od pamučnog platna. Tokom kolekcionnog perioda, svakog jutra su aplikovane čiste fekalne vreće, koje su pričvršćene adhezivnim sredstvom za vunu na zadnjem delu životinje pokrivajući analni otvor (Slika 4.9). Vreće su stojale aplikovane do sledećeg jutra, kada su menjane novim. Na taj način je kolekcija fecesa trajala 24 časa, a grla su tokom kolekcionnog perioda stalno nosila fekalne vreće. Svakog jutra u toku kolekcionnog perioda, od ukupne količine fecesa, oko 100 grama je uzimano iz fekalnih i skladišteno u plastične vreće koje su čuvane u frižideru, na temperaturi od 4° C. Na kraju kolekcionnog perioda, napravljen je homogenizovani zajednički uzorak fecesa za svako grlo u testu, koji je, posle određivanja sirovih proteina, pakovan u plastične vreće i skladišten u zamrzivaču na -20° C za dalje analize.

Određen je hemijski sastav fecesa Weende metodom (određivanje vlage, sirovog pepela, kalcijuma i fosfora, sirovog proteina Kjeldahl-ovom metodom, sirove masti i sirove celuloze), sadržaj vlakana po Van Soest-u (neutralna i kisela deterdžentska vlakna) i pepeo nerastvorljiv u hlorovodoničnoj kiselini.

Prividna svarljivost je utvrđena primenom iste formule i za iste parametre opisane u ogledu 1 (potpoglavlje 4.2.3.).



**Slika 4.9: Ilustracija aplikacije fekalne vreće i aplikovana fekalna vreća**



#### 4.4. UZORKOVANJE, HEMIJSKE ANALIZE I ODREĐIVANJE HRANLJIVE VREDNOSTI

U cilju analize hemijskog sastava hraniva, vršeno je uzorkovanje, na taj način da zbirni uzorak predstavlja prosečan sastav celokupne količine hraniva koje se kontroliše. Uzorak sena je uzet sa površine i iz sredine 25 bala. Zbirni uzorak je zatim usitnjen na dužinu isečka od približno 2 cm, a zatim je metodom četvrtanja sveden na prosečan uzorak mase 4 kg. Uzorci silaže su uzeti sa petnaest mesta iz silo-objekta (silo-trenča), i to ispod prvog nepromenjenog površinskog sloja, iz sredine, iznad dna i sa bočnih strana. Pojedinačni uzorci su sabrani, dobro izmešani, a zatim je od ukupne količine zbirnog uzorka metodom četvrtanja uzet prosečan uzorak mase 3 kg.

U ogledu 1, smeše koncentrata su pakovane u plastične džakove mase 30 kg koji su obeleženi oznakom K (kontrola), T1 (količina taninskog preparata 15 g/kg smeše, odnosno 13,5 g/dan) i T2 (količina taninskog preparata 30 g/kg smeše, odnosno 27 g/dan), dok su u ogledu 2, smeše koncentrata pakovane u plastične džakove iste mase, ali koji su obeleženi oznakom KON (kontrola), 10T (10 g tanina/kg SM obroka) i 20T (20 g tanina/kg SM obroka). Pored uzorkovanja gotovih smeša, rađeno je uzorkovanje i pojedinačnih komponenti koje ulaze u sastav smeša i to suncokretove sačme i pšeničnog stočnog brašna pakovanog u džakove, i kukuruza lagerovanog u skladištu. Uzorkovanje svake komponente i smeše je vršeno iz svake vreće, i to sa vrha, sredine i dna džaka, dok je kukuruz uzorkovan sa petnaest kontrolnih mesta, kako bi se uzeo reprezentativan uzorak sa vrha, sredine i dna gomile. Pojedinačni uzorci su sabrani, dobro izmešani, a zatim je od ukupne količine zbirnog uzorka metodom četvrtanja uzet prosečan uzorak mase 3 kg.

U hemijskoj laboratoriji Instituta za stočarstvo je određen hemijski sastav komponenti i obroka Weende metodom: određivanje vlage, sirovog pepela (SPe), sirovog proteina (SP), sirovih masti (SMa), kalcijuma (Ca), fosfora (P), natrijuma (Na), i sirove celuloze (SC). Pored ovih analiza, utvrđen je i sadržaj šećera, sadržaj vlakana po Van Soest-u (vlakna nerastvorljiva u neutralnom i kiselom deterdžentu - NDF i ADF), sadržaj proteina vezanih za vlakna nerastvorljiva u neutralnom (NDICP) i kiselom (ADICP) deterdžentu i pepeo nerastvorljiv u hlorovodoničnoj kiselini.

Pre samih analiza, uzorkovan biljni materijal je u laboratorijskim uslovima pripremljen za proces sušenja. Biljni materijal je osušen u tankom sloju na promajnom i tamnom mestu gde se temperatura kretala od 18° C do 22° C, a vlažnost vazduha od 55% do 65%. Proces sušenja je redovno kontrolisan, pri čemu su uklanjani oštećeni primerci i oni koji su promenili boju. Posle procesa sušenja u trajanju od 7 dana, suvi biljni materijal je usitnjen i spakovan u tamne staklene posude u kojima je čuvan do planiranih analiza.

Analiza SPe je obavljena spaljivanjem uzorka na 550 - 600 °C i merenjem pepela prema AOAC 942.05 (AOAC, 2000). Metodom po Kjeldahl-u (ISO, 2005), na aparatu Gerhardt Vapodest 50S su određeni SP. Sirove masti su određene metodom po Soxlet-u, korišćenjem aparata Gerhardt Soxtherm, prema AOAC 920.39 (AOAC, 2000).

Kalcijum (%) je određen atomskom apsorpcijom (AAC), P (%) spektrofotometrijskom metodom, na aparatu Spekol 1300, dok je Na (%) određen volumetrijski preko sadržaja hlorida, u skladu sa Pravilnikom o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane (Službeni list SFRJ, broj 15/87).

Sadržaj šećera određen je metodom po Luff-Schoorl-u, u skladu sa Commission of European Communities (1971).

Sirova celuloza, NDF i ADF su određeni na aparatu Fibertec System Foss 2010. Količina SC je određena sukcesivnom hidrolizom uzorka razblaženim rastvorom H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i NaOH (AOAC, 978.10), dok je ADF rađen prema AOAC 973.18 (AOAC, 2000), a NDF po metodi Van Soest et al. (1991), bez amilaze i bez korekcije vrednosti za pepeo koja ostaje u NDF.

Analize NDICP i ADICP su rađene Kjeldahl-ovom analizom iz NDF i ADF nakon određivanja ovih frakcija vlakana.

Sadržaj pepela nerastvorljivog u HCl je određen sagorevanjem organske materije, a zatim kuvanjem u 10% rastvoru hlorovodonične kiseline, po Pravilniku o metodama uzimanja uzoraka i

metodama fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane (Službeni list SFRJ, broj 15/87).

Pored ovih, računski su utvrđene i bezazotne ekstraktivne materije (BEM), nevlaknasti ugljeni hidrati (NFC), kao i organska materija (OM). Bezazotne ekstraktivne materije najvećim delom predstavljaju najsvarljiviju frakciju ugljenih hidrata koju u prvom redu čine skrob i šećeri (Đorđević et al., 2003). Ovaj parametar se određuje na osnovu formule:

$$\%BEM = 100 - (\%SP + \%SC + \%SMa + \%SPe)$$

Nevlaknasti ugljeni hidrati (NFC) su određeni na osnovu sledeće formule:

$$\%NFC = 100 - (\%SP + (\%NDF - \%NDICP) + \%SMa + \%SPe)$$

Organska materija se izračunava oduzimanjem količine pepela od 100% suve materije (SM), kako je i prikazano u formuli:

$$\%OM = 100 - \%SPe$$

Komponente koje su korišćene za izračunavanje BEM, NFC i OM izražene su kao % SM.

U obroku, to jest u svim hranivima, spektrofotometrijski je određena koncentracija ukupnih polifenola po Folin-Ciocalteu metodi (Singleton i Rossi, 1965), sadržaj flavonoida (Makkar, 2000) i sadržaj kondenzovanih tanina (Nakamura et al., 2003). Detaljnije o analizama je navedeno u potpoglavlju 4.1.

Kako bi se odredila hranljiva vrednost obroka, na osnovu hemijskih analiza za svako hranivo je izračunata hranljiva vrednost pomoću on-line kalkulatora na adresi <http://vvdb.cvbdiervoeding.nl/manage/tools/Vwcalc.aspx>, koji je sastavni deo holandskih normativa CVB 2016 (CVB, 2018) i to tako što se unose podaci analiza, i računski dobijaju vrednosti za NEmeat, MP i bRP koje se zatim koriste za preračunavanje hranljive vrednosti obroka, a u skladu sa uputstvima datim u Praktikum za ishranu preživara autora Božičković et al. (2018; 2020)

#### 4.5. KONZUMIRANJE HRANE, MERENJE TELESNE MASE, PRIRASTI I ISKORISTIVOST HRANE

Svakodnevno je merena količina date i nepojedene hrane po boksu u kom je bilo po dva grla (ogled 1), ili na nivou grupe u jednom boksu (ogled 2).

Promena telesne mase, kao i ukupni i prosečni dnevni prirast (PDP) svakog grla su kontrolisani u intervalima od 15 dana (ogled 1), ili 10 dana (ogled 2). Na taj način je za vreme korišćenja jednog obroka u ogledu 2 telesna masa merena dva puta. Telesna masa jagnjadi u oba ogleda je merena vagon za sitnu stoku.

Od parametara iskoristivosti hrane, određene su konverzija hrane po grlu, Klajberov odnos, efikasnost proteina i efikasnost energije. Konverzija hrane po grlu je određena na osnovu promena telesne mase i konzumiranja hrane i ona predstavlja količinu obroka koju je grlo konzumiralo za postizanje kilograma prirasta, gde su niže vrednosti poželjnije.

Klajberov odnos (KR) se dobija stavljanjem prosečnog dnevnog prirasta u odnos sa metaboličkom telesnom masom, i u suprotnosti od konverzije, kod KR su poželjnije više vrednosti (Kleiber, 1947).

$$KR \text{ (kg prirasta/ kg metaboličke mase)} = \frac{\text{Prosečan dnevni prirast (kg)}}{\text{Metabolička telesna masa} - TM^{0,75} \text{ (kg)}}$$

Dodatni pokazatelj iskoristivosti proteina predstavlja efikasnost proteina (EP) koja se izračunava deljenjem ukupnog prirasta (izraženog u gramima) sa ukupnom količinom datog SP (izraženog u gramima), kako je prikazano u formuli ispod. Na taj način se dobija vrednost prirasta po količini SP.

$$EP \text{ (g prirasta/g datog SP)} = \frac{\text{Ukupni prirast (g)}}{\text{Količina datog SP (g)}}$$

Pored ovog, kako bi se odredila iskoristivost energije u obroku i uticaj tanina na ovu osobinu, izračunat je parametar efikasnosti energije (EEN) koji prikazuje prirast po MJ NEmeat. Izračunava se stavljanjem u odnos ukupnog prirasta i količine date energije (izražene u MJ NEmeat/dan), kako je prikazano u formuli ispod, čime se dobija vrednost prirasta po MJ NEmeat.

$$EEN \text{ (g prirasta/ MJ NEmeat)} = \frac{\text{Ukupni prirast (g)}}{\text{Količina date energije (MJ NEmeat)}}$$

Navedeni parametri su izračunati za posmatrane periode (za svakih 15 dana u ogledu 1, odnosno na svakih 10 i 20 dana u ogledu 2), kao i za ceo period trajanja ogleda. U ogledu 1 ovi parametri su izračunati na osnovu prosečnog prirasta podgrupe, budući da je bilo po 2 jagnjeta u boksu.

#### 4.6. ISPITIVANJE PRINOSA I KVALITETA MESA

Po završetku ogleda, u tri (ogled 1), ili pet (ogled 2) dana zaredom, lišeno je života svih 30 jagnjadi po ogledu. Merenje završne telesne mase je kod svih grla obavljeno 60. dana, ali i neposredno pre klanja, u ogledu 1 od 61. do 63. dana, to jest od 61. do 65. dana u ogledu 2.

Lišavanje života je obavljeno iskrvarenjem, uz prethodno omamljivanje koje obezbeđuje trenutni gubitak svesti životinje, od strane stručnih lica u prisustvu veterinara, i to presecanjem vratne arterije i pripadajućih krvnih sudova, a u skladu sa Zakonom o dobrobiti životinja (Službeni glasnik Republike Srbije, broj 41/2009) i važećim Pravilnikom o uslovima i sredstvima za lišavanje životinja života, načinu postupanja sa životinjama neposredno pre klanja, načinu omamljivanja i iskrvarenja životinja, uslovima i načinu klanja životinja bez prethodnog omamljivanja, kao i programu obuke o dobrobiti životinja tokom klanja (Službeni glasnik Republike Srbije, broj 14/2010).

Nakon lišavanja života (klanja) usledila je primarna obrada, koja je izvršena na uobičajen način u eksperimentalnoj klanici Instituta za stočarstvo. Parametri koji su praćeni su: masa grla pre klanja, masa toplog trupa, masa jestivih i nejestivih pratećih proizvoda: burag sa mrežavcem, sirište,

listavac i tanka creva. Identifikacija trupova je izvršena pomoću brojeva koji su u toku klanja stavljani na trupove, čime je obezbeđena nedvosmislena identifikacija životinja. Zatim, nakon hlađenja u trajanju od 24 sata, pri temperaturi od 0° C do +4° C, ustanovljena je masa hladnih trupova.

U uzorcima *Musculus longissimus dorsi* (MLD) je rađen osnovni hemijski sastav: količina vode, količina masti, količina belančevina metodom po Kjeldahl-u, količina mineralnih materija (pepela). Takođe, iz uzoraka MLD ekstrahovana je mast (metoda po Folch et al., 1957) koja je korišćena za određivanje sastava masnih kiselina na gasnom hromatografu (aparatus Shimadzu – Kyoto, Japan).

#### 4.7. EKONOMSKA ODRŽIVOST

Procena ekonomske održivosti ima za cilj da utvrdi efektivnost upotrebe kestenovih tanina u obrocima jagnjadi u tovu. Sama ekonomska isplativost je izražena kroz nekoliko parametara, u skladu sa El-Zait et al. (2019), i obuhvata dnevne troškove ishrane, troškove ishrane na osnovu prirasta, neto profit ishrane i ekonomsku isplativost.

Dnevni troškovi ishrane (THd) se izračunavaju na osnovu tržišne cene obroka (TC), izraženo po kg suve materije i KSM, kako je prikazano u sledećoj formuli:

$$THd (RSD/grlo/dan) = TC(RSD/kg SM) \times KSM (kg)$$

Tržišna cena suve materije obroka je određena na osnovu tržišne cene hraniva, koja je prikazana u tabeli 4.10. Kao izvor informacija za tržišnu cenu hraniva korišćena je baza podataka Sistema tržišnih informacija poljoprivrede Srbije - STIPS (Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, 2022), kao i aktuelne ponude dobavljača u periodu od 14.11.2022. do 21.11.2022. godine.

**Tabela 4.10. Tržišna cena hraniva, izražena u dinarima (RSD)**

Hranivo	Tržišna cena (RSD/kg)
Lucerkino seno	20,00
Livadsko seno	13,00
Kukuruzna silaža, cela biljka	5,00
Kukuruz, zrno	30,00
Pšenične mekinje	31,00
Suncokretova sačma	37,00
Stočna so	30,00
Stočna kreda	9,30
Monokalcijum-fosfat	233,10
Taninski preparat	1330,00
Mineralno-vitaminski premiks	80,00

Troškovi ishrane na osnovu prirasta (THp) se izračunavaju na osnovu THd i prosečnih dnevnih prirasta (PDP), što je prikazano u sledećoj formuli:

$$THp \text{ (RSD/ kg prirasta)} = \frac{THd(RSD/grlo/dan)}{PDP(kg/dan)}$$

Neto profit (NP) dodavanja kestenovih tanina se, na osnovu Abo-Zeid et al. (2017), određuje stavljanjem u odnos cene za kg žive mere jagnjadi (CŽM), PDP i Thd, na osnovu sledeće formule:

$$NP \text{ (RSD/grlo/dan)} = [C\check{Z}M \text{ (RSD)} \times PDP \text{ (kg/dan)}] - THd \text{ (RSD/grlo/dan)},$$

gde je za CŽM uzeta vrednost od 380,00 RSD/kg, koja je formirana na osnovu izveštaja STIPS (Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, 2022) za period od 14.11.2022. do 21.11.2022. godine.

Ekonomska isplativost (EKI) predstavlja odnos PDP, CŽM, KSM i TC i izračunava se na osnovu formule:

$$EKI = \frac{[PDP \text{ (kg/dan)} \times C\check{Z}M \text{ (RSD)}]}{[TC \text{ (RSD/kg SM)} \times KSM \text{ (kg)}]}$$

Drugim rečima, to je odnos prihoda i troškova, te EKI = 1 predstavlja poslovanje bez prihoda. Vrednosti veće od 1 ukazuju na prihod (npr. vrednost EKI od 1,2 ukazuje na to da se na svaki uloženi dinar ostvari dobit od 0,2 dinara), vrednosti manje od 1 ukazuju na poslovanje sa gubicima (npr. vrednost EKI od 0,7 ukazuje da se na svaki uloženi dinar gubi 0,3 dinara).

#### 4.8. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Oba ogleda su postavljena kao jednofaktorijalni ogledi sa tri tretmana. Statistička analiza je odrađena u statističkom paketu Statistica version 7 (StatSoft USA, 2003). Osnovni statistički pokazatelji su obuhvatili aritmetičku sredinu ( $\bar{x}$ ), standardnu devijaciju proseka (SD) i koeficijent varijacije (CV). Analizom varijanse su testirane razlike između kontrolne grupe i tretmana.

Statistička značajnost razlika između srednjih vrednosti je utvrđena korišćenjem testa najmanjih značajnih razlika (Least significant difference test – LSD test).

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati istraživanja, kao i diskusija koja ih prati, prikazani su zajedno za oba ogleđa (ogled 1 i ogled 2), ali segmentno sortirani po tematskim celinama. Pre diferenciranja tematskih oblasti, navedene su specifičnosti taninskog preparata dobijenog iz pitomog kestena koji je korišćen u oba ogleđa. Zatim, prikazani su rezultati konzumiranja hrane, njene iskoristivosti, stepena napredovanja jagnjadi prikazanog na osnovu prosečnih dnevnih i ukupnih prirasta, zatim svarljivost hranljivih materija, metabolički profil krvi i kvalitet mesa. Pored navedenih, obrađena je i ekonomski analiza dodavanja preparata kestenovih tanina u obroke jagnjadi u tovu.

Kako je već navedeno, istraživanje uticaja kestenovih tanina na proizvodne parametre jagnjadi u tovu je sprovedeno kroz dva ogleđa, koji su se razlikovali na osnovu sastava obroka, kao i količine dodatih tanina. Pregledom literature je utvrđen široki spektar korišćenih tanina, pre svega u pogledu izvora i količine u obroku. Tako, sadržaj tanina u obroku se kretao od 10 g (Liu et al., 2011) do 52,8 g (Buccioni et al., 2017b) preparata/kg SM obroka. Budući da su se preparati razlikovali u izvoru, tehnologiji njihove proizvodnje, zatim u pogledu sadržaja taninskih jedinjenja, HT i CT, strukture obroka, starosti i vrste ispitivanih životinja, ali i drugih razlika, prilikom dizajniranja ogleđa 1 i ogleđa 2, korišćene su one količine tanina za koje se pretpostavilo da neće negativno uticati na zdravstveni status životinja.

U prvom ogledu je korišćen standardni farmski obrok za ishranu odlučene jagnjadi uz dodavanje kestenovih tanina u količini 0 g preparata/kg SM obroka, 9,46 g preparata/kg SM obroka i 18,87 g preparata/kg SM obroka za grupe K, T1 i T2, redom. Ogled je trajao 60 dana (bez adaptacionog perioda), odnosno starost jagnjadi je iznosila od  $67 \pm 3$  dana na početku do  $127 \pm 3$  dana na kraju ogleđa.

U drugom ogledu količina dodatih kestenovih tanina je iznosila 0 g preparata/kg SM obroka (KON), 20,17 g preparata/kg SM obroka (10T) i 40,33 g preparata/kg SM obroka (20T). Obroci su formulisani tako da zadovolje potrebe u MP za prirast od 250 g/dan, dok je NEmeat bilo više za oko 14%, što odgovara prirastu od oko 275 g/dan. Na taj način, korišćena su tri obroka uz pretpostavku da će uticaj tanina dovesti do zadovoljenja potreba za prirast veći od 250 g/dan. Svaki obrok je davan po 20 dana jagnjadima, odnosno period korišćenja obroka 1 bio je od 1. do 20. dana ogleđa (starost jagnjadi od  $66 \pm 5$  dana do  $85 \pm 5$  dana), obroka 2 od 21. do 40 dana (starost jagnjadi od  $86 \pm 5$  dana do  $105 \pm 5$  dana) i obroka 3 od 41. do 60. dana trajanja ogleđa, odnosno pri starosti jagnjadi od  $106 \pm 5$  dana do  $125 \pm 5$  dana.

Na početku ogleđa 1 i ogleđa 2, po jedno jagnje iz kontrolnih grupa je izlučeno iz daljeg posmatranja usled razloga nevezanih za postavke samih eksperimenata (povreda ekstremiteta).

## 5.1. SPECIFIČNOSTI KORIŠĆENOG TANINSKOG PREPARATA

Drvo pitomog kestena (*Castanea sativa* Mill.) je jedan od glavnih izvora komercijalno bitnih preparata koji su izvori HT (Rezar i Salobir, 2014), ali sadrže i CT (Comandini et al., 2012). Poređenjem detektovanih fenolnih jedinjenja u korišćenom preparatu (prikazanih u tabeli 4.3. u poglavlju Materijal i metode) sa literaturnim podacima, utvrđena je saglasnost, odnosno analiza je pokazala prisutnost sličnih jedinjenja kao i kod većeg broja autora (Comandini et al., 2012; Campo et al., 2016; Bargiachi et al., 2017; Romani et al., 2021). Prema literaturnim podacima, u korišćenom preparatu je HPLC metodom utvrđeno 11 jedinjenja (monomera) koja grade HT, uključujući: galnu kiselinu, elaginsku kiselinu, veskalagin, kastalagin, kastalin, roburin A-E, grandinin i druge (Rezar i Salobir, 2014). Kako navode pomenuti autori, ova jedinjenja su činila 36,3% preparata. Iako u analizama sprovedenim u okviru ove disertacije nisu utvrđeni roburin, pedunkulagin i O-galoil-kastalagin, navedeni podaci govore u prilog činjenici da se sadržaj polifenola korišćenog preparata kestenovih tanina sastoji uglavnom od HT. Ciucure et al. (2022) navode da galna kiselina ima antioksidativni i anti-inflamatorni potencijal, što može doprineti antimikrobijalnom i antioksidativnom svojstvu, kao i zaštiti gastrointestinalnog trakta, nervnog i kardiovaskularnog sistema. Zbog toga, kesten, kao i njegovi proizvodi i preparati, mogu da se svrstaju u grupu vrednih prirodnih izvora bioaktivnih jedinjenja.

U tabeli 5.1. dat je prikaz literaturno najčešće korišćenih taninskih preparata, kao i njihove najznačajnije karakteristike. Tako, može se primetiti da su najčešće korišćeni preparati kestenovih, kvebraho, mimozinih i tarinih tanina, zatim izvori poreklom iz gambiera, ali i smeše različitih izvora tanina, kao što su BYPRO (smeša kvebraho i kestenovih tanina 50:50 CT:HT), ili smeša kvebraho, kestenovih i tarinih tanina (85:15 CT:HT). Navedeni prikaz najčešće korišćenih taninskih preparata pokazuje veliki broj različitih izvora tanina, i načina njihove analize, te je komparaciju objavljenih rezultata moguće izvesti u izuzetno ograničenoj meri. Razlog tome pronalazi se posebno u činjenici da neki autori (Valenti et al., 2018; Rivera-Mendez et al., 2017; Mezzomo et al., 2016; Del Bianco et al., 2020) nisu naveli sadržaj tanina u preparatu, već su se pozivali jedino na njihov izvor. Pored toga, izvestan broj autora (Frutos et al., 2004b; Buccioni et al., 2017b; Krueger et al., 2010; Deaville et al., 2010; Ortiz et al., 2013; Barajas et al., 2014; Rojas-Roman et al., 2017; Al-Dobaib, 2009; Hervas et al., 2004; de S. Costa et al., 2020; Pimentel et al., 2020; Li et al., 2021) je prijavio vrednost navedenu na samoj proizvođačkoj deklaraciji proizvoda, što dodatno otežava komparativnu analizu.

Razlike postoje i kod određivanja CT i HT. Tako, za određivanje sadržaja CT kod kestenovih (Liu et al., 2011), odnosno mimozinih tanina (Griffiths et al., 2013) korišćena je butanol-HCl metoda, te su rezultati prikazani kroz procentualnu zastupljenost u preparatu, dok je u okviru ove disertacije korišćena vanilin metoda (Nakamura, 2003), a rezultati prikazani kao masa katehina u gramima u 100 g SM preparata. Fernandes et al. (2021) su HT dobili računski, oduzimanjem sadržaja CT od sadržaja ukupnih tanina.

Ukoliko se prate istraživanja u kojima je korišćen isti preparat kao i u ovoj disertaciji, poređenje se takođe može obaviti samo do određenog nivoa. Naime, brojni autori navode korišćenje preparata Farmatan<sup>®</sup>, ali bez navođenja njegovog hemijskog sastava i sadržaja tanina (Zaitsev et al., 2022; Ali et al., 2017; Pirman i Orešnik, 2016; Prevolnik et al., 2012; Jamroz et al., 2009; Sivka i Lavrenčić, 2007). S druge strane, određeni broj autora navodi samo procentualni udeo tanina u preparatu, bez daljeg objašnjenja. Ali, u ovim istraživanjima, na osnovu prijavljenog sadržaja tanina u preparatu, se diferenciraju dve grupe autora. Tako, prva grupa autora (EFSA, 2005; Salobir et al., 2005) iznosi podatak da taninski preparat prosečno sadrži 55% tanina, dok druga grupa (Krisper et al., 1992; Biagi et al., 2010; Frankič i Salobir, 2011, Bilić-Šobot et al., 2016) navode da je ova vrednost 75%. S druge strane, u samoj proizvođačkoj specifikaciji je navedeno da je proizvod dobijen vodenom ekstrakcijom i da se sastoji od  $73 \pm 2$  % kestenovog ekstrakta. Heterogenost objavljenih navoda predstavlja dodatni izazov prilikom poređenja rezultata.

**Tabela 5.1: Prikaz taninskih preparata najčešće korišćenih u literaturi**

<b>Autori</b>	<b>Izvor tanina*</b>	<b>Sadržaj u preparatu**</b>
Al-Dobaib (2009)	kvebraho	75% CT u SM preparata
Barajas et al. (2014)	BYPRO - 50:50 smeša CT (kvebraho) i HT (kesten) fenolnih polimera	minimum 70% tanina u preparatu
Buccioni et al. (2017b)	kesten; kvebraho	750 g TAE/kg SM; 456 g TAE kg/SM
Comandini et al. (2012)	kesten	ukupnih polifenola 23,9 - 56,1 g GAE/100 g uzorka
Davidović et al. (2019)	kesten	40% tanina u preparatu
de S. Costa (2020)	mimoza	700 g CT/kg preparata
Deaville et al. (2010)	kesten; mimoza	740 g tanina/kg SM; 740 g tanina/kg SM
Del Bianco et al. (2020)	mimoza; kesten; tara	nema podataka
Fernandes et al. (2021)	mimozino seno	67,1 g ukupnih tanina / kg SM
Frutos et al. (2004b)	kesten	750 g tanina/kg preparata
Griffiths et al. (2013)	mimoza	60,1% CT u preparatu
Hervas et al. (2004)	kvebraho	760 g CT/kg preparata
Krueger et al. (2010)	kesten; mimoza	800 g HT/kg SM; 700 g CT/kg SM
Li et al. (2021)	komina grožđa	56,50% CT u preparatu
Liu et al. (2011)	kesten	75,4% polifenola u preparatu
Liu et al. (2016)	kesten	ukupnih polifenola 751 g TAE/kg preparata
Mezzomo et al. (2016)	smeša kvebraho, kesten i tara (85 % CT: 15% HT)	85% CT : 15% HT
Ortiz et al. (2013)	BYPRO - 50:50 smeša CT (kvebraho) i HT (kesten) fenolnih polimera	minimum 70% tanina u preparatu
Pimentel et al. (2020)	mimoza	700 g CT/kg preparata
Priolo et al. (2005)	sula	34,3 g ukupnih tanina/ kg SM
Rivera-Mendez et al. (2017)	kvebraho; kesten; smeša kvebraho i kesten (50:50)	nema podataka
Rojas-Roman et al. (2017)	BYPRO - 50:50 smeša CT (kvebraho) i HT (kesten) fenolnih polimera	minimum 70% tanina u preparatu
Tayengwa et al. (2020)	komina grožđa	104,2 g GAE / kg SM
Valenti et al. (2018)	kesten; mimoza; tara; gambier	nema podataka

\*CT - kondenzovani tanini; HT - hidrolizabilni tanini;

\*\*g GAE - grama ekvivalenta galne kiseline; g TAE - grama ekvivalenta taninske kiseline; SM - suva materija;



Pored ovog preparata, u literaturi se mogu naći i informacije o korišćenju preparata kestenovih tanina istog proizvođača, ali drugog naziva (Tanimil SCC<sup>®</sup>). Tako, Davidović et al. (2019), kao i Jovetić u svojoj disertaciji (2020), navode da ovaj preparat sadrži 40% tanina, dok Prodanović et al. (2021) samo navode da je u istraživanju korišćen ovaj preparat, ali ne i njegov hemijski sastav i sadržaj tanina. Ukoliko se pod terminom „tanini“ u navedenim istraživanjima navodi podatak o ukupnim polifenolima, preparat korišćen u ovoj disertaciji je sličan po svom sastavu, budući da je utvrđeno da sadrži 361,40 g GAE/kg SM. Ipak, nedovoljno je informacija šta se podrazumeva pod terminom „tanini“, budući da pojedini autori ukupne polifenole posmatraju kao tanine, te komparacija može biti izvršena samo na osnovu pretpostavke da je došlo do terminološkog nesuglasja.

Ukoliko se posmatra sadržaj ukupnih polifenola, vrednosti iznete u ovoj disertaciji su u okviru intervalnih vrednosti prijavljenih kod Campo et al. (2016). Naime, oni su sprovedeli taninsku karakterizaciju kod različitih uzoraka biljaka kestena, i koristeći metodu po Folin-Ciocalteu ustanovili da se sadržaj ukupnih polifenola kretao od 0,67 g GAE/kg uzorka do 569,9 g GAE/kg uzorka. S druge strane, Mavri et al. (2022) su, koristeći isti preparat kao i u ovoj disertaciji (Farmatan<sup>®</sup>), Folin-Ciocalteu metodom utvrdili 436 g GAE/kg uzorka. Velika varijabilnost u prijavljenim rezultatima je, pored izvora, tehnologije proizvodnje i korišćenih metoda, posledica i velike raznolikosti korišćenih sirovina, pre svega u pogledu korišćenog biljnog materijala. Ukoliko se zna da na količinu tanina u kestenu može da utiče lokalitet sa kog se sirovina dobija, zatim starost korišćenih stabala, ali i tkiva iz kojih se tanini ekstrahuju (Krisper et al., 1992; Živković et al., 2009), varijabilnost u krajnjem proizvodu je sasvim logična. Takođe, raspored tanina nije ravnomeran u biljnom tkivu, jer nerastvorljivi fenoli su sastavni deo komponenata biljnog zida, dok su rastvorljivi smešteni u biljnim vakuolama, a istovremeno, spoljni biljni omotači sadrže više fenolnih jedinjenja nego unutrašnja tkiva (Živković et al., 2009).

## 5.2. UTICAJ TANINA NA KONZUMIRANJE

Uticao kestenovih tanina na konzumiranje je praćen preko količine konzumirane SM obroka u oba ogleda. Konzumiranje SM u ogledu 1 praćeno je svakodnevno, mereno je u okviru podgrupe (sa po dva jagnjeta), tako da je ukupno bilo 5 ponavljanja u svakoj grupi (K, T1 i T2), dok je u ogledu 2 ovaj parametar svakodnevno praćen na nivou grupe.

Prosečno dnevno konzumiranje SM obroka za ceo period ogleda je prikazano u grafikonu 5.1 (ogled 1) i grafikonu 5.2 (ogled 2), dok je količina SM obroka, kao i njeno konzumiranje po periodima prikazano u okviru tabele 5.2 odnosno tabele 5.3 za ogled 1 i 2, redom.

**Tabela 5.2: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na prosečno dnevno konzumiranje suve materije (SM) obroka**

Hranivo	Grupe*			Značajnost**
	K	T1	T2	
<b>Ponuđena količina suve materije dnevno</b>				
Koncentrat, kg	0,80	0,80	0,80	
Seno, kg	0,63	0,63	0,63	
Ukupno, kg	1,43	1,43	1,43	
<b>Prosečno dnevno konzumiranje suve materije tokom celog perioda, od 1. do 60. dana ogleda</b>				
Koncentrat, kg	0,69 ± 0,13	0,68 ± 0,13	0,70 ± 0,12	NZ
Seno, kg	0,51 <sup>A</sup> ± 0,12	0,45 <sup>B</sup> ± 0,15	0,50 <sup>A</sup> ± 0,12	p < 0,01
Ukupno, kg	1,20 <sup>A</sup> ± 0,22	1,13 <sup>B</sup> ± 0,25	1,20 <sup>A</sup> ± 0,21	p < 0,01
<b>Prosečno dnevno konzumiranje suve materije po periodima</b>				
<b>Od 1. do 15. dana ogleda</b>				
Koncentrat, kg	0,52 ± 0,09	0,52 ± 0,09	0,54 ± 0,08	NZ
Seno, kg	0,40 <sup>A</sup> ± 0,11	0,34 <sup>B</sup> ± 0,13	0,42 <sup>A</sup> ± 0,12	p < 0,01
Ukupno, kg	0,92 <sup>b</sup> ± 0,17	0,86 <sup>a,A</sup> ± 0,20	0,96 <sup>B</sup> ± 0,18	p < 0,05
<b>Od 16. do 30. dana ogleda</b>				
Koncentrat, kg	0,67 ± 0,05	0,65 ± 0,07	0,67 ± 0,04	NZ
Seno, kg	0,47 <sup>A</sup> ± 0,08	0,41 <sup>B</sup> ± 0,12	0,47 <sup>A</sup> ± 0,08	p < 0,01
Ukupno, kg	1,14 <sup>A</sup> ± 0,09	1,06 <sup>B</sup> ± 0,16	1,14 <sup>A</sup> ± 0,09	p < 0,01
<b>Od 31. do 45. dana ogleda</b>				
Koncentrat, kg	0,80 ± 0,02	0,79 ± 0,04	0,80 ± 0,02	NZ
Seno, kg	0,55 <sup>A</sup> ± 0,08	0,50 <sup>B</sup> ± 0,14	0,55 <sup>A</sup> ± 0,08	p < 0,01
Ukupno, kg	1,35 <sup>A</sup> ± 0,09	1,29 <sup>B</sup> ± 0,16	1,34 <sup>A</sup> ± 0,09	p < 0,01
<b>Od 46. do 60. dana ogleda</b>				
Koncentrat, kg	0,80 ± 0,01	0,79 ± 0,02	0,80 ± 0,01	NZ
Seno, kg	0,60 <sup>A</sup> ± 0,08	0,55 <sup>B</sup> ± 0,14	0,59 <sup>A</sup> ± 0,09	p < 0,01
Ukupno, kg	1,40 <sup>A</sup> ± 0,08	1,34 <sup>B</sup> ± 0,15	1,39 <sup>A</sup> ± 0,09	p < 0,01

\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka

\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>a,b</sup> α = 5%; <sup>A,B</sup> α = 1%); NZ - nema značajnosti

\*\*\*Period od 1. do 15. dana odgovara starosti grla od 67 do 82 dana (± 3 dana); period od 16. do 30. dana odgovara starosti grla od 83 do 97 dana (± 3 dana); period od 31. do 45. dana odgovara starosti grla od 98 do 113 dana (± 3 dana); period od 46. do 60. dana odgovara starosti grla od 114 do 129 dana.

**Tabela 5.3: Oglad 2 - Uticaj kestenovih tanina na prosečno dnevno konzumiranje suve materije (SM), po periodima**

Hranivo	Grupe*		
	KON	10T	20T
<b>Ponuđena količina SM dnevno za ceo period, od 1. do 60. dana</b>			
Koncentrat, kg (min-max)	0,45 (0,28 - 0,59)	0,46 (0,28 - 0,59)	0,48 (0,29 - 0,60)
Kabasto, kg (min-max)	0,58 (0,29 - 0,94)	0,57 (0,29 - 0,92)	0,56 (0,29 - 0,91)
Ukupno, kg (min-max)	1,04 (0,57 - 1,46)	1,04 (0,58 - 1,46)	1,04 (0,58 - 1,47)
<b>Prosečno dnevno konzumiranje SM za ceo period, od 1. do 60. dana</b>			
Koncentrat, kg	0,43	0,44	0,46
Kabasto, kg	0,54	0,55	0,54
Ukupno, kg	0,97	0,99	1,00
<b>Period korišćenja OBROKA 1 (od 1. do 20. dana ogleda)</b>			
<b>Ponuđena količina SM u periodu od 1. do 10. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg (min-max)	0,35 (0,28 - 0,50)	0,35 (0,28 - 0,51)	0,36 (0,29 - 0,52)
Seno, kg (min-max)	0,37 (0,30 - 0,53)	0,37 (0,29 - 0,52)	0,36 (0,29 - 0,51)
Ukupno, kg (min-max)	0,72 (0,58 - 1,03)	0,72 (0,58 - 1,03)	0,72 (0,58 - 1,03)
<b>Prosečna konzumirana količina SM u periodu od 1. do 10. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg	0,33	0,34	0,34
Seno, kg	0,35	0,35	0,36
Ukupno, kg	0,68	0,69	0,70
<b>Ponuđena količina SM u periodu od 11. do 20. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg (min-max)	0,46 (0,43 - 0,49)	0,47 (0,44 - 0,50)	0,48 (0,45 - 0,51)
Seno, kg (min-max)	0,49 (0,46 - 0,52)	0,48 (0,45 - 0,52)	0,47 (0,45 - 0,51)
Ukupno, kg (min-max)	0,95 (0,89 - 1,01)	0,95 (0,89 - 1,02)	0,95 (0,89 - 1,02)
<b>Prosečna konzumirana količina SM u periodu od 11. do 20. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg	0,43	0,44	0,45
Seno, kg	0,45	0,47	0,47
Ukupno, kg	0,88	0,91	0,92
<b>Period korišćenja OBROKA 2 (od 21. do 40. dana ogleda)</b>			
<b>Ponuđena količina SM u periodu od 21. do 30. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg (min-max)	0,51 (0,47 - 0,55)	0,52 (0,48 - 0,56)	0,53 (0,49 - 0,58)
Kabasto, kg (min-max)	0,53 (0,48 - 0,57)	0,51 (0,47 - 0,56)	0,50 (0,48 - 0,57)
Ukupno, kg (min-max)	1,04 (0,95 - 1,12)	1,04 (0,95 - 1,12)	1,04 (0,98 - 1,17)
<b>Prosečna konzumirana količina SM u periodu od 21. do 30. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg	0,49	0,5	0,51
Seno, kg	0,46	0,47	0,47
Silaža, kg	0,02	0,02	0,02
Ukupno, kg	0,97	0,99	1,00
<b>Ponuđena količina SM u periodu od 31. do 40. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg (min-max)	0,52 (0,48 - 0,58)	0,53 (0,49 - 0,59)	0,54 (0,50 - 0,60)
Kabasto, kg (min-max)	0,53 (0,49 - 0,59)	0,52 (0,48 - 0,58)	0,51 (0,48 - 0,57)
Ukupno, kg (min-max)	1,05 (0,97 - 1,17)	1,05 (0,97 - 1,17)	1,05 (0,98 - 1,17)
<b>Prosečna konzumirana količina SM u periodu od 31. do 40. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg	0,50	0,51	0,52
Seno, kg	0,47	0,47	0,47
Silaža, kg	0,02	0,02	0,02
Ukupno, kg	0,99	1,00	1,01
<b>Period korišćenja OBROKA 3 (od 41. do 60. dana ogleda)</b>			
<b>Ponuđena količina SM u periodu od 41. do 50. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg (min-max)	0,40 (0,37 - 0,45)	0,42 (0,38 - 0,47)	0,43 (0,39 - 0,48)
Kabasto, kg (min-max)	0,72 (0,66 - 0,81)	0,71 (0,65 - 0,79)	0,70 (0,63 - 0,78)
Ukupno, kg (min-max)	1,13 (1,03 - 1,26)	1,13 (1,03 - 1,26)	1,13 (1,03 - 1,27)
<b>Prosečna konzumirana količina SM u periodu od 41. do 50. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg	0,39	0,40	0,42
Seno, kg	0,57	0,58	0,58
Silaža, kg	0,07	0,07	0,07
Ukupno, kg	1,03	1,05	1,07
<b>Ponuđena količina SM u periodu od 51. do 60. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg (min-max)	0,48 (0,38 - 0,52)	0,49 (0,39 - 0,54)	0,51 (0,40 - 0,50)
Kabasto, kg (min-max)	0,85 (0,67 - 0,94)	0,84 (0,66 - 0,92)	0,82 (0,65 - 0,91)
Ukupno, kg (min-max)	1,33 (1,05 - 1,46)	1,33 (1,05 - 1,46)	1,33 (1,05 - 1,47)
<b>Prosečna konzumirana količina SM u periodu od 51. do 60. dana ogleda</b>			
Koncentrat, kg	0,46	0,47	0,49
Seno, kg	0,70	0,71	0,70
Silaža, kg	0,09	0,09	0,09
Ukupno, kg	1,25	1,27	1,28

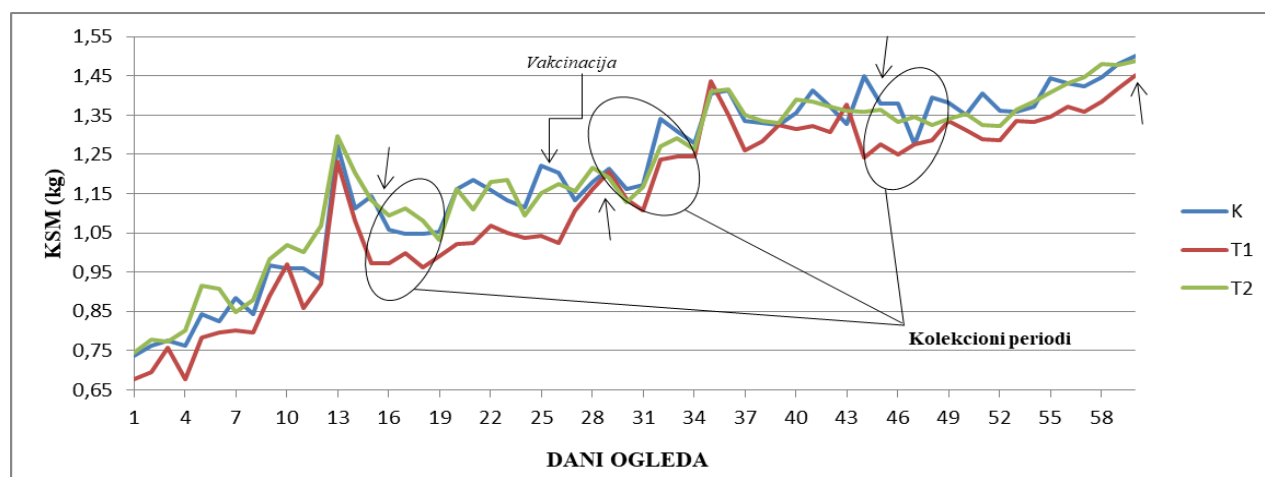
\*KON - grupa bez dodatnih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM dnevno.

Prosečno dnevno konzumiranje SM obroka za ceo ogled 1 je bilo identično za K i T2, uz blage, ali statistički neznačajne ( $p > 0,05$ ) razlike u konzumiranju koncentrata, i sena. Najmanje konzumiranje je bilo kod jagnjadi iz T1 grupe i ove razlike su statistički veoma značajne ( $p < 0,01$ ) poređenjem sa rezultatima K i T2 grupe. Ove razlike su prouzrokovane pre svega veoma značajnim razlikama u konzumiranju SM sena, dok poređenjem značajnosti razlika u konzumiranju SM koncentrovanog dela obroka nisu bile statistički značajne između sve tri grupe ( $p > 0,05$ ). Naime, u svim posmatranim periodima nisu postojale statistički značajne razlike ( $p > 0,05$ ) između grupa u količini konzumirane SM koncentrovanog dela obroka, dok je konzumiranje SM sena bilo značajno niže ( $p < 0,01$ ) kod T1 u odnosu na druge dve grupe. Ovo se može videti i na grafičkom prikazu dnevnog praćenja konzumiranja, odnosno na grafikonu 5.1. Posmatrajući KSM u celom ogledu 1, evidentno je da je ukupna KSM kod T1 grupe bila svakodnevno niža od ostale dve. Iako neočekivana, ova pojava može biti posledica takvog pozicioniranja bokseva da je dolazilo do nešto većeg uznemiravanja životinja u odnosu na druge dve grupe. Drugim rečima, grla, kao i jaslje, su bili najbliži delu objekta gde je aktivnost radnika bila učestalija nego u ostatku objekta.

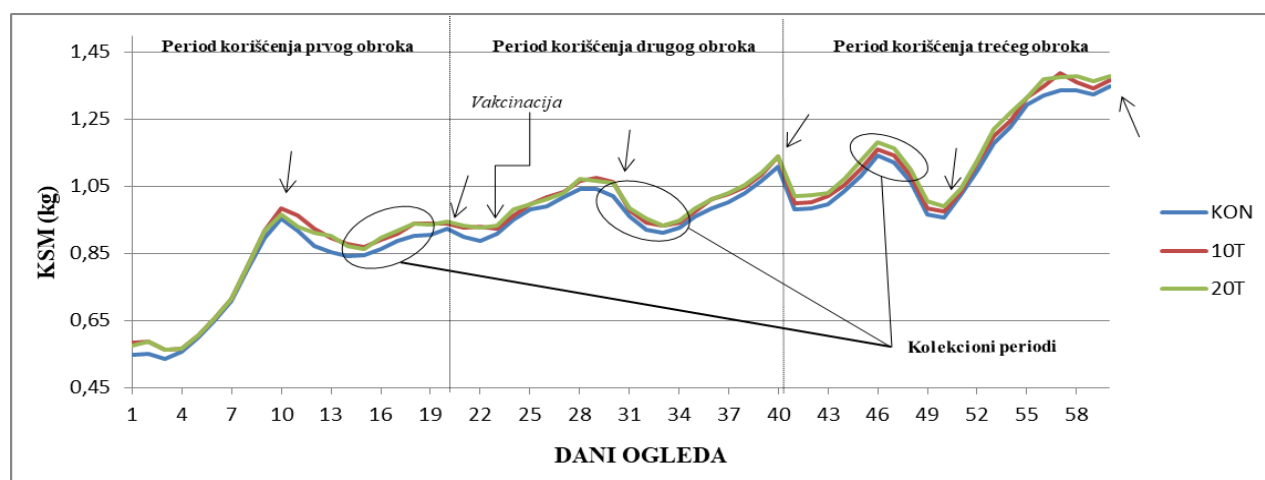
Ogled 2 je postavljen na taj način da konzumiranje kod sve tri grupe bude ujednačeno, a kako bi se to ostvarilo, količina date hrane je prilagođavana na dnevnom nivou, na osnovu grupe koja najslabije konzumira, tako da ostaci kabaste hrane u jaslama budu oko 10% kod te grupe. Dnevna korekcija količine datog obroka je podrazumevala i zadržavanje istog odnosa kabastog i koncentrovanog dela obroka. Naime, pošto su grla konzumirala gotovo sve količine datog koncentrata, njegova količina je određivana tako da odnos kabaste i koncentrovane hrane bude isti kao što je i predviđeno sastavljanjem obroka. Tokom celog ogleda, grupa koja je najslabije konzumirala je bila kontrolna grupa, te je na osnovu konzumiranja ove grupe prilagođavana dnevna količina date hrane. Na osnovu prikazanih rezultata, primetno je, da, iako razlike u konzumiranju SM ukupnog obroka (ili pojedinih komponenti obroka) postoje, one nisu velike i ne ukazuju na značajno odstupanje, što je i bio cilj. Ipak, usled grupnog načina držanja i ishrane, nije bilo ponavljanja, te nije bilo mogućnosti za sprovođenje statističke analize. Ove blage razlike među grupama su posledica ostataka kabastog dela obroka, odnosno sena. Kod konzumiranja sena je karakteristično da je svakodnevno bilo ostataka u sve tri grupe, odnosno jagnjad nisu konzumirala čitavu ponuđenu količinu. Ipak, najmanju količinu sena u toku ogleda je konzumirala KON grupa, a budući da ovo nije bio slučaj kod druge komponentne kabastog dela obroka, silaže, konzumiranje sena se odrazilo na ukupnu količinu KSM u toku celog ogleda, kako je prikazano u grafikonu 5.2.

Prema KSM deluje da uticaja na palatabilnost nije bilo ni u jednom od postavljenih ogleda, ali je evidentno da je konzumiranje bilo veće kod ogleda 1 u toku celog perioda trajanja ogleda. Iako je, posmatrajući po periodima, konzumiranje SM raslo, posmatranjem dnevnih razlika, primećuju se odstupanja. Na KSM mogu da utiču različiti faktori, od kojih su najvažniji starost i pol životinje, njihova telesna masa, potrebe za održanje i porast, kvalitet i palatabilnost obroka, način davanja obroka, zdravstveni status životinja, i klimatski uslovi koji obuhvataju dnevnu temperaturu, vlažnost vazduha i stopa ventilacije i strujanja vazduha u objektu, ali i uznemiravanje životinja. Tako, za razliku od ogleda 1 gde su sva grla bila muškog pola, u ogledu 2 je odnos polova bio 1:1 u grupama. Dok je u ogledu 1 korišćeno lucerkino seno u toku trajanja celog perioda ogleda, u ogledu 2 je u periodu korišćenja obroka 2 (od 21. do 40. dana) i obroka 3 (od 41. do 60. dana), kao jedna od dve kabaste komponentne obroka korišćeno livadsko seno, slabijeg kvaliteta, što je uticalo na konzumiranje celokupne količine SM. Sastav obroka je bio konstantan u ogledu 1, dok su u ogledu 2 obroci menjani na svakih 20 dana, ali je drastičniji pad u KSM primećen samo uvođenjem trećeg obroka. Budući da je ovaj obrok sadržao ista hraniva kao i prethodni, uz povećanje kukuruzne silaže istog kvaliteta, malo je verovatno da je to bio glavni faktor variranja u KSM. Verovatnije je dnevno variranje konzumiranja posledica promenljivosti parametara mikroklimе, ali i stresa. Na grafikonima 5.1 (ogled 1) i 5.2 (ogled 2) označeni su događaji koji su doprineli nešto većem uznemiravanju životinja u odnosu na ostale dane, a koji uključuju merenje TM (na grafikonu označeno strelicama), periode sakupljanja fecesa (zaokruženo), kao i vakcinaciju protiv bolesti plavog jezika. Iako su prilikom ovih događaja jagnjad, usled manipulacije, bila kratkoročno izložena uznemiravanju, ovi događaji su uticali na dnevno KSM. Upravo u ovim periodima je

primetnije nešto izraženije variranje u odnosu na prethodne dane. Kumulativni efekat ovih događaja, u kombinaciji sa drugim uticajima, doveo je u ogledu 2 do nižeg konzumiranja od pretpostavljenog, te je poređenjem sa teoretskim obrocima (tabela 4.9 u poglavlju *Materijal i metode istraživanja*), KSM bilo niže u sva tri perioda. Sam način sakupljanja fecesa je uticao značajnije na uznemiravanje jagnjadi nego u prethodnom ogledu. Iako je ono rađeno rano ujutro, pre davanja hrane, uticalo je na KSM, što je naročito izraženo u drugom (period ogleda od 29. do 34. dana) i trećem (period ogleda od 44. do 49. dana) kolekcionom periodu.



**Grafikon 5.1. Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na konzumiranje suve materije (kg SM/dan)**



**Grafikon 5.2. Ogled 2 - Uticaj kestenovih tanina na konzumiranje suve materije (kg SM/dan)**

Tanini imaju opor, adstringentan ukus, što, u zavisnosti od njihovog izvora, veličine, strukture (Mendez-Ortiz et al., 2018), načina pripreme preparata, količine u obroku i strukture samog obroka, može dovesti do smanjene palatabilnosti obroka i njegovog konzumiranja (Taghizadeh i Basharati, 2011). Iako po postavci različiti, u oba sprovedena ogleda je utvrđeno odsustvo uticaja kestenovih tanina na smanjenje ukusnosti obroka, odnosno dodavanje tanina nije uticalo na konzumiranje SM. Da su kestenovi tanini uticali na smanjenje ukusnosti i konzumiranje obroka, taninske grupe bi konzumirale manje količine koncentrovanog dela obroka. Rezultati iz oba ogleda ukazuju na to da kestenovi tanini nisu doprineli smanjenju palatabilnosti obroka, niti da su uticali na konzumiranje SM obroka. Rezultati su u saglasnosti sa Liu et al. (2011), koji su utvrdili da dodavanje preparata kestenovih tanina (preparat sa 75,4% ukupnih tanina) u količini 0, 1 i 3% SM obroka, nije uticalo na konzumiranje SM kod jagnjadi. Frutos et al. (2004b) takođe nisu ustanovili razlike u konzumiranju SM kod kontrolne (bez dodatih tanina) i taninske (obrok sadržao

20,8 g HT/kg SM obroka) grupe jagnjadi. Dodavanjem preparata kestenovih ili kvebraho tanina u količini od po 52,8 g preparata/kg SM obroka, nije utvrđen uticaj na smanjenje palatabilnosti u odnosu na kontrolni obrok, kao ni razlike u konzumiranju (Buccioni et al. 2017b). Ispitujući uticaj kestenovih tanina kod goveda, Krueger et al. (2010) su utvrdili da davanjem obroka koji su sadržali 0 g, 14,9 g preparata kestenovih tanina/kg SM obroka (preparat sadržao 800 g HT/kg SM) ili 14,9 g preparata mimozinih tanina/kg SM (preparat sadržao 700 g CT/kg SM) pri ishrani junadi u tovu, nije bilo razlika u količini konzumirane hrane. Kada je sadržaj BYPRO tanina (smeša kvebraho i kestenovih tanina u odnosu 50:50 sa minimum 70% tanina u preparatu) u obroku jagnjadi bio 0,3% SM, nisu utvrđene razlike u konzumiranju SM u odnosu na grupu koja nije dobijala tanine (Ortiz et al., 2013). Deaville et al. (2010) su ispitivali uticaj dodavanja kestenovih i mimozinih tanina u silaže engleskog ljulja kao jedinog hraniva u obroku na konzumiranje SM u ishrani odraslih ovaca. Oni su dodavali kestenove ili mimozine tanine (oba preparata sadrže 740 g tanina/kg SM) u količini 75 g preparata/kg SM silaže. Iako je konzumiranje silaže sa kestenovim taninima bilo nešto veće od kontrole, razlike nisu značajne. Ipak, ono je bilo značajno veće od silaže sa mimozinim taninima, što ukazuje da mimozini tanini utiču negativnije na palatabilnost kod ovaca, iako prema Krueger et al. (2010) to nije utvrđeno kod toвне junadi.

S druge strane, Valenti et al. (2018; 2020) su zaključili da dodavanje kestenovih tanina u količini 4% preparata u obroku jagnjadi utiče na smanjeno konzumiranje SM u odnosu na kontrolu koja nije dobijala tanine, kao i u odnosu na grupe koje su dobijale 4% preparata tanina iz drugih izvora (ekstrakt mimoze, tare i gambiera (*Uncaria gambir*)). Navedeni autori ukazuju na to da su kestenovi tanini verovatno svojim oporim ukusom uticali na smanjenje palatabilnosti celog obroka, što nije u saglasnosti sa rezultatima iznetim u ovoj disertaciji. Kao i u prethodno navedenom istraživanjima, i Valenti et al. (2021) su zaključili da je konzumiranje hrane bilo veće kod kontrolne grupe nego one koja je dobijala kestenove tanine (4% preparata u obroku). Navedeni autori su koristili TMR, u peletiranom obliku, sa sadržajem SP od oko 16%, sa dužinom trajanja ogleada od 75 dana. Iako je starost jagnjadi bila slična kao i u našem istraživanju, razlike u navedenim postavkama ogleada, kao i u količini tanina u preparatu i u obroku, mogu objasniti neusaglašenosti u rezultatima i zaključcima. Mezzomo et al. (2016) su ispitivali uticaj smeše tanina poreklom iz kvebraha (izvor CT), kestena i tare (izvor HT) na produktivne parametre junadi u tovu. Autori su ustanovili da je konzumiranje taninskih obroka bilo manje od kontrolnog, a da je najmanje konzumiranje bilo kod obroka sa najvećim sadržajem tanina u obroku. Takođe, Norris et al. (2020) su koristili TMR obroke u ishrani junadi, i dodavali kvebraho tanine (količina preparata 0%, 1,5% 3% i 4,5% SM obroka) i ustanovili da je konzumiranje značajno smanjeno jedino kod grupe koja je dobijala najviše tanina.

Nasuprot ovome, pojedini autori navode da je dodavanje tanina stimulisalo konzumiranje. Naime, dodavanjem BYPRO preparata u količini od 0%, 0,15%, 0,30% i 0,45% SM u obroku, ustanovljeno je da su tanini (0,30% i 0,45%) uticali na blago povećanje konzumiranja obroka jagnjadi (Barajas et al., 2014).

Kako bi se procenila obezbeđenost energijom i MP u obrocima, prikazan je takozvani nominalno konzumirani obrok, prikazan u tabeli 5.4 (ogled 1) i tabeli 5.5 (ogled 2). Termin „nominalno konzumirani obrok“ je uveden budući da je nepojedena hrana merena preko mase ostataka, i nije hemijski analizirana, uz pretpostavku da je njihova hranljiva vrednost ista kao i u obroku. Uglavnom se hemijski sastav ostataka razlikuje od hemijskog sastava konzumiranog obroka, te su prikazani rezultati okvirni. Hranljiva vrednost konzumiranog obroka je verovatno bila viša od hranljive vrednosti ostatka, usled selektivnog konzumiranja, odnosno biranja prilikom konzumiranja. Zato, može se pretpostaviti da su grla konzumirala nešto više NEmeat i MP od prikazanog. U tabeli 5.4. prikazane vrednosti za KSM, NEmeat i MP predstavljaju prosečne vrednosti za posmatrani period između dva sukcesivna merenja TM u ogledu 1, dok su u indeksu navedene minimalna i maksimalna vrednost. Tako na primer, vrednosti navedene u redu za 15. dan ogleada predstavljaju prosečno dnevno konzumiranje između 1. i 15. dana ogleada, za 30. dan ogleada predstavljaju prosečno dnevno konzumiranje između 16. i 30. dana ogleada, i tako redom.

Tabela 5.4: Nominalno konzumirani obrok u ogledu 1

Grupa	Dan ogleda	Starost grla, dana	TM, kg	Prirast, g/dan	Nominalno konzumirani obrok		
					KSM, kg	NEmeat, MJ	MP, g
K	15	82 ± 3	23,25	187,50	0,92 <sub>(0,61 - 1,30)</sub>	6,43 <sub>(3,96 - 8,68)</sub>	76,21 <sub>(48,52 - 105,20)</sub>
	30	97 ± 3	26,44	212,50	1,14 <sub>(0,89 - 1,34)</sub>	8,06 <sub>(6,34 - 9,21)</sub>	95,01 <sub>(74,60 - 110,16)</sub>
	45	112 ± 3	29,88	229,17	1,35 <sub>(1,10 - 1,52)</sub>	9,51 <sub>(7,99 - 10,37)</sub>	112,06 <sub>(92,55 - 124,08)</sub>
	60	127 ± 3	33,81	262,50	1,40 <sub>(1,07 - 1,54)</sub>	9,79 <sub>(8,16 - 10,46)</sub>	115,95 <sub>(92,67 - 125,37)</sub>
T1	15	82 ± 3	23,50	196,30	0,86 <sub>(0,49 - 1,31)</sub>	6,08 <sub>(3,36 - 8,66)</sub>	71,46 <sub>(4,13 - 105,29)</sub>
	30	97 ± 3	27,44	262,96	1,06 <sub>(0,60 - 1,32)</sub>	7,48 <sub>(4,15 - 9,00)</sub>	87,66 <sub>(49,37 - 107,55)</sub>
	45	112 ± 3	31,50	270,37	1,29 <sub>(0,80 - 1,52)</sub>	9,10 <sub>(5,95 - 10,27)</sub>	106,76 <sub>(67,93 - 122,96)</sub>
	60	127 ± 3	36,11	307,41	1,34 <sub>(0,85 - 1,53)</sub>	9,35 <sub>(6,63 - 10,33)</sub>	110,11 <sub>(73,89 - 123,92)</sub>
T2	15	82 ± 3	23,44	200,00	0,96 <sub>(0,63 - 1,35)</sub>	6,54 <sub>(4,57 - 8,74)</sub>	77,73 <sub>(52,40 - 106,69)</sub>
	30	97 ± 3	27,50	270,37	1,14 <sub>(0,89 - 1,33)</sub>	7,88 <sub>(6,49 - 8,94)</sub>	93,04 <sub>(74,64 - 106,91)</sub>
	45	112 ± 3	31,94	296,30	1,34 <sub>(1,06 - 1,50)</sub>	9,26 <sub>(7,61 - 10,10)</sub>	109,23 <sub>(88,00 - 120,92)</sub>
	60	127 ± 3	36,67	315,35	1,39 <sub>(1,18 - 1,58)</sub>	9,54 <sub>(8,47 - 10,46)</sub>	112,93 <sub>(97,84 - 126,05)</sub>
<b>Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu***</b>							
			<b>TM, kg</b>	<b>Prirast, g/dan</b>	<b>KSM, kg/dan</b>	<b>NEmeat, MJ/dan</b>	<b>MP, g/dan</b>
			20	250	0,5 - 0,9	5,59	87,00
				275		6,11	94,50
				300		6,62	102,00
				350		7,87	116,00
			25	250	0,6 - 1,1	6,56	92,00
				275		7,18	99,95
				300		7,80	107,00
				350		9,25	123,00
			30	250	0,8 - 1,3	7,52	97,00
				275		8,21	105,00
				300		8,90	113,00
				350		10,56	130,00
			35	250	1,0 - 1,5	8,42	102,00
				275		9,22	110,00
				300		10,01	119,00
				350		12,08	136,00

\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*TM - telesna masa; KSM - konzumirano suve materije; NEmeat - neto energija za porast; MP - metabolički protein.

\*\*\*Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu su određene na osnovu holandskih CVB 2016 (CVB, 2018) normativa.

\*\*\*\*Prirast je izračunat na osnovu dva sukcesivna merenja TM.

U tabeli 5.5. prikazane vrednosti za KSM, NEmeat i MP predstavljaju prosečne vrednosti za posmatrani period između dva sukcesivna merenja TM u ogledu 2, dok su u indeksu navedene minimalna i maksimalna vrednost. Tako na primer, vrednosti navedene u redu za 10. dan ogleada predstavljaju prosečno dnevno konzumiranje između 1. i 10. dana ogleada, za 20. dan ogleada predstavljaju prosečno dnevno konzumiranje između 11. i 20. dana ogleada, i tako redom. Prirast je izračunat na osnovu promena TM između dva sukcesivna merenja TM.

Tabela 5.5: Nominalno konzumirani obrok u ogledu 2

Grupa	Dan ogleda	Starost grla, dana	Muška grla		Ženska grla		Nominalno konzumirani obrok		
			TM, kg	Prirast, g/dan	TM, kg	Prirast, g/dan	KSM, kg	NEmeat, MJ	MP, g
KON	10	76 ± 5	23,90	170,00	24,20	170,00	0,68 <sub>(0,54 - 0,95)</sub>	4,38 <sub>(3,46 - 6,17)</sub>	52,46 <sub>(41,88 - 75,10)</sub>
	20	86 ± 5	26,00	210,00	26,13	192,50	0,88 <sub>(0,84 - 0,92)</sub>	5,70 <sub>(5,44 - 5,95)</sub>	69,13 <sub>(65,16 - 74,39)</sub>
	30	96 ± 5	27,80	180,00	27,87	175,00	0,97 <sub>(0,89 - 1,04)</sub>	6,25 <sub>(5,72 - 6,71)</sub>	69,08 <sub>(63,16 - 74,56)</sub>
	40	106 ± 5	29,80	200,00	29,75	187,50	0,99 <sub>(0,91 - 1,10)</sub>	6,34 <sub>(5,87 - 7,10)</sub>	70,08 <sub>(64,81 - 77,72)</sub>
	50	116 ± 5	31,50	170,00	31,00	125,00	1,03 <sub>(0,96 - 1,14)</sub>	6,87 <sub>(6,34 - 7,53)</sub>	58,24 <sub>(53,04 - 65,29)</sub>
	60	126 ± 5	33,70	220,00	32,95	195,00	1,25 <sub>(1,02 - 1,35)</sub>	8,26 <sub>(6,70 - 8,92)</sub>	68,69 <sub>(54,26 - 75,75)</sub>
10T	10	76 ± 5	23,20	220,00	25,60	230,00	0,69 <sub>(0,56 - 0,98)</sub>	4,39 <sub>(3,53 - 6,19)</sub>	52,22 <sub>(41,67 - 74,62)</sub>
	20	86 ± 5	25,80	260,00	27,40	180,00	0,91 <sub>(0,87 - 0,96)</sub>	5,74 <sub>(5,45 - 6,08)</sub>	68,73 <sub>(64,79 - 73,93)</sub>
	30	96 ± 5	27,90	210,00	29,30	190,00	0,99 <sub>(0,92 - 1,07)</sub>	6,26 <sub>(5,77 - 6,72)</sub>	68,57 <sub>(62,65 - 73,97)</sub>
	40	106 ± 5	30,30	240,00	31,50	220,00	1,00 <sub>(0,93 - 1,13)</sub>	6,32 <sub>(5,87 - 7,11)</sub>	69,52 <sub>(64,25 - 77,05)</sub>
	50	116 ± 5	32,00	170,00	33,20	170,00	1,05 <sub>(0,98 - 1,16)</sub>	6,84 <sub>(6,32 - 7,49)</sub>	58,01 <sub>(52,82 - 65,11)</sub>
	60	126 ± 5	34,20	220,00	35,40	220,00	1,27 <sub>(1,03 - 1,37)</sub>	8,22 <sub>(6,63 - 8,95)</sub>	68,53 <sub>(54,13 - 75,43)</sub>
20T	10	76 ± 5	24,30	220,00	24,80	230,00	0,70 <sub>(0,56 - 0,97)</sub>	4,29 <sub>(3,46 - 6,00)</sub>	51,96 <sub>(41,46 - 74,42)</sub>
	20	86 ± 5	26,70	240,00	27,00	220,00	0,92 <sub>(0,86 - 0,97)</sub>	5,62 <sub>(5,33 - 5,83)</sub>	68,48 <sub>(64,42 - 73,61)</sub>
	30	96 ± 5	29,30	260,00	29,00	200,00	1,00 <sub>(0,93 - 1,07)</sub>	6,15 <sub>(5,69 - 6,60)</sub>	68,00 <sub>(62,14 - 73,39)</sub>
	40	106 ± 5	31,50	220,00	31,30	230,00	1,01 <sub>(0,94 - 1,14)</sub>	6,23 <sub>(5,76 - 6,99)</sub>	68,97 <sub>(63,70 - 76,50)</sub>
	50	116 ± 5	33,40	190,00	33,40	210,00	1,07 <sub>(1,02 - 1,18)</sub>	6,79 <sub>(6,27 - 7,43)</sub>	57,77 <sub>(52,59 - 64,79)</sub>
	60	126 ± 5	35,90	250,00	35,70	230,00	1,28 <sub>(1,04 - 1,38)</sub>	8,11 <sub>(6,54 - 8,76)</sub>	68,27 <sub>(53,85 - 75,11)</sub>

## Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu

TM, kg	Prirast, g/dan	KSM, kg/dan	Muška grla		Ženska grla	
			NEmeat, MJ/dan	MP, g/dan	NEmeat, MJ/dan	MP, g/dan
20	200	0,5 - 0,9	4,69	73,00	5,16	69,35
	250		5,59	87,00	6,15	82,65
	275		6,11	94,50	6,72	89,78
	300		6,62	102,00	7,28	96,90
25	200	0,6 - 1,1	5,52	79,00	6,07	75,05
	250		6,56	92,00	7,22	87,40
	275		7,18	99,95	7,90	94,95
	300		7,80	107,00	8,58	101,65
30	200	0,8 - 1,3	6,35	83,00	6,99	78,85
	250		7,52	97,00	8,27	92,15
	275		8,21	105,00	9,03	99,75
	300		8,90	113,00	9,79	107,35
35	200	1,0 - 1,5	7,11	86,00	7,82	81,70
	250		8,42	102,00	9,26	96,90
	275		9,22	110,00	10,14	104,50
	300		10,01	119,00	11,01	113,05

\*KON - grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

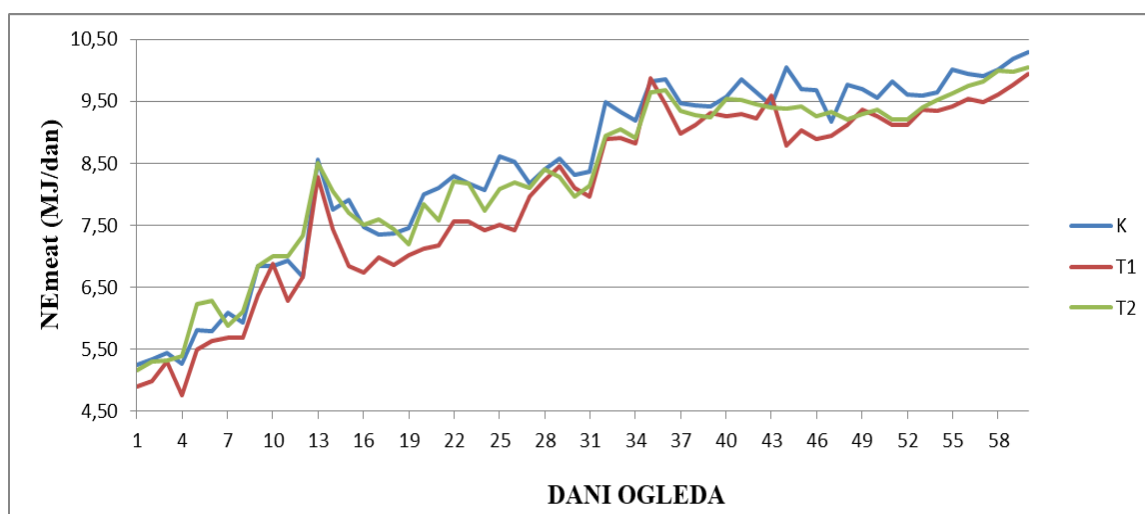
\*\*TM - telesna masa; KSM - konzumirano suve materije; NEmeat - neto energija za porast; MP - metabolički protein.

\*\*\*Ukupne dnevne potrebe jagnjadi u tovu su određene na osnovu holandskih CVB 2016 (CVB, 2018) normativa.

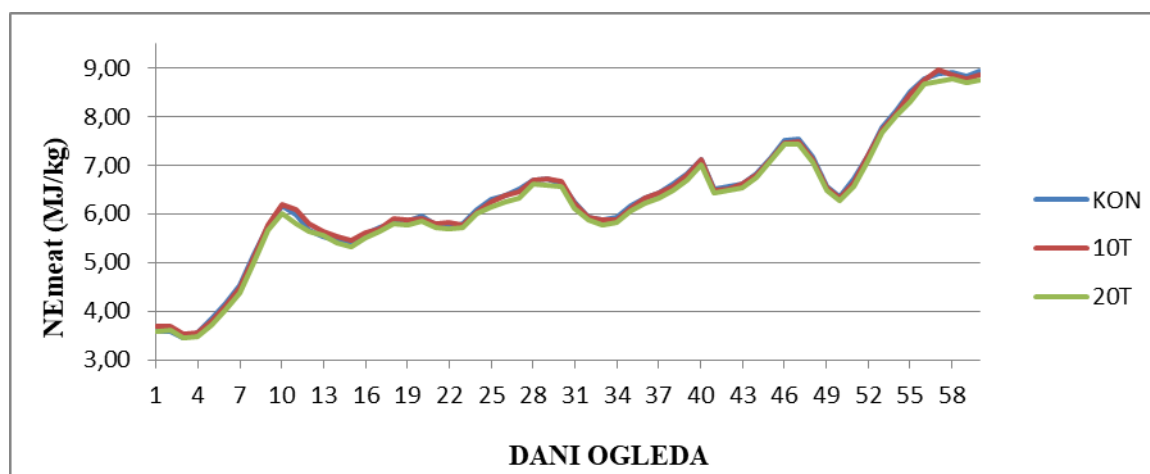
\*\*\*\*Prirast je izračunat na osnovu dva sukcesivna merenja TM.



Na grafikonima 5.3. i 5.4. je prikazano nominalno konzumiranje energije po periodima u ogledu 1 i ogledu 2, redom. Iako je u oba ogleda konzumiranje energije raslo, primećuje se da je ono u ogledu 2 bilo ujednačenije među grupama (što je i planirano postavkom ogleda), ali isto tako i da su jagnjad konzumirala niži nivo energije od jagnjadi u ogledu 1. Neusaglašenost u konzumiranju energije je svakako posledica u razlikama KSM, ali i različitog obroka, kao i razlike u polovima. Naime, u ogledu 1 je korišćen standardni farmerski obrok, od zalućenja do kraja tova, koji je obezbeđivao od 6,82 MJ/kg SM do 6,97 MJ/kg SM i ispitivana su samo muška grla, dok su u ogledu 2 obroci prilagođavani grupi koja najslabije konzumira, uz ujednačen odnos muškog i ženskog pola u grupi. Takođe, u ogledu 2 obroci su menjani na svakih 20 dana, usklađujući se sa porastom i potrebama životinja, te su obezbeđivali od 6,16 MJ/kg SM do 6,54 MJ/kg SM.



**Grafikon 5.3. Ogled 1 - Nominalno konzumiranje NEmeat (MJ/dan)**



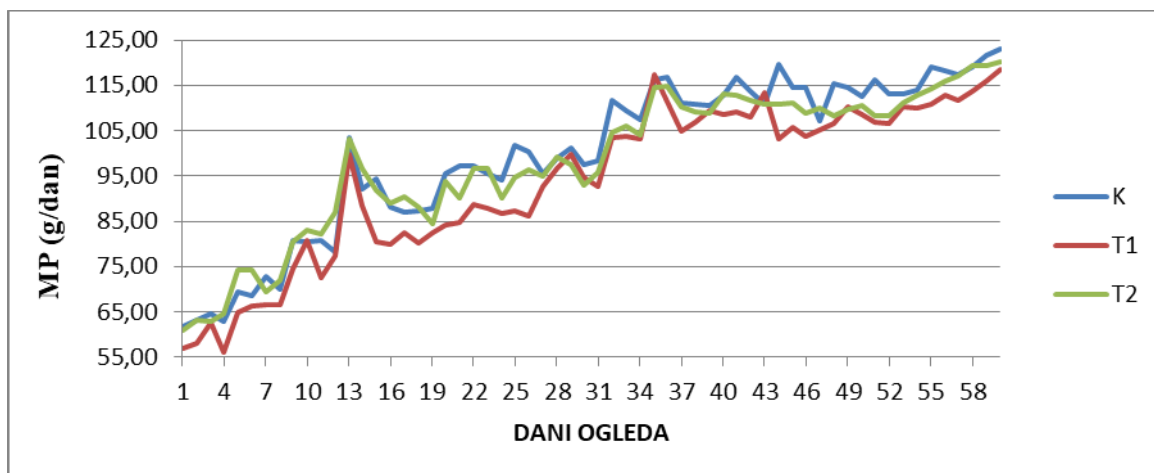
**Grafikon 5.4. Ogled 2 - Nominalno konzumiranje NEmeat (MJ/dan)**

Obezbeđenost energijom i MP u obrocima se razlikovala među oglecima, što je i razumljivo, budući da se radi o različitim postavkama oglada, gde je u ogledu 1 konzumiranje bilo gotovo po volji, dok je u ogledu 2 količina date hrane bila relativno ograničena, određene na osnovu grupe koja najslabije konzumira SM. U ogledu 1, nominalno konzumiranje energije je u celom periodu oglada bilo preko nivoa zadovoljenja potreba za priraste do 300 grama, koje su, na osnovu holandskih normativa (CVB, 2018) iznosile od 6,62 MJ/dan do 10,01 MJ/dan, zavisno od telesne mase, kako je prikazano u tabeli 5.4.

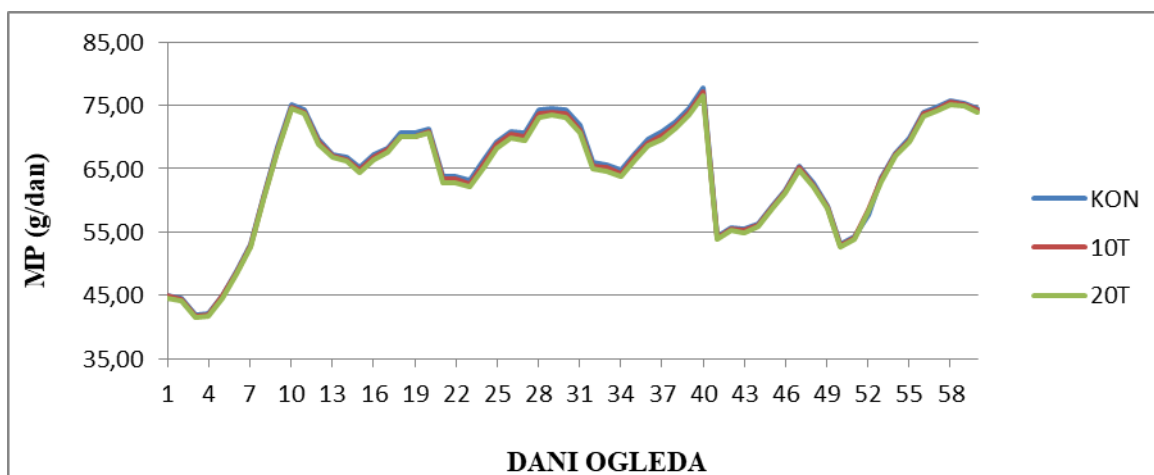
S druge strane, u ogledu 2, zadovoljenje potreba u energiji za definisane priraste, na osnovu dostignutih telesnih masa uglavnom bilo na suboptimalnom nivou. Usled nižeg KSM nego što je to normiranjem obroka predviđeno, jagnjad su nominalno konzumirala manje energije.

Ukoliko se posmatra nominalno konzumiranje MP, odnosno zadovoljenost potreba konzumiranjem u ogledu 1 (tabela 5.4 i grafikon 5.5) i ogledu 2 (tabela 5.5 i grafikon 5.6), takođe se primećuju određena odstupanja. Tako, u ogledu 1 su nominalnim konzumiranjem obroka zadovoljene potrebe u MP, dok je u poslednja dva perioda (od 31. do 45. dana oglada i od 46. do 60. dana oglada, redom) utvrđeno konzumiranje preko potreba kod kontrolne grupe. U ogledu 1 je zadovoljenje potreba u MP konzumiranjem bilo veće od samog početka u odnosu na ogled 2. Istovremeno, primećuje se veća homogenost u ovom parametru kod grupa iz oglada 2. Ovo je razumljivo, budući da su obroci u ogledu 2 koncipirani tako da budu ujednačeni. Standardni farmski obrok, korišćen u ogledu 1 je obezbeđivao prosečno 81,97 g MP/kg SM obroka, dok su u ogledu 2, obroci redom obezbeđivali 72,32 g MP/kg SM, 70,92 g MP/kg SM i 69,73 g MP/kg SM. S druge strane, ukoliko se analizira period od 41. do 50. dana u ogledu 2, primećuje se pad u MP na oko 58 g dnevno. Ovo je u saglasnosti sa smanjenim KSM u ovom periodu (grafikon 5.2), a budući da je obrok formulisan tako da bude deficitaran u MP, ova variranja su očiglednija nego u pogledu konzumiranja energije.

Uprkos tome što su ogled 1 i ogled 2 zasnovani na suštinski različitim postavkama i što je njihovu komparaciju moguće izvesti samo u određenoj meri, primetno je da je u ogledu 1 davana veća količina hrane nego što mogu da konzumiraju, dok je u ogledu 2 hranljiva vrednost konzumiranog obroka bila ispod potreba za ostvarivanje željenih prirasta. Drugim rečima, u ogledu 1 konzumiranje je bilo gotovo po volji, dok je u ogledu 2 svakodnevno korigovana količina date hrane na osnovu ostataka od prethodnog dana u grupi koja najmanje konzumira. U ogledu 2 dnevna količina obroka je određena prema preporukama (CVB, 2018), uz korekciju tako da sve tri grupe dobijaju istu količinu. Konkretna količina dnevnog obroka u ogledu 2 je određivana tako da grupa koja najmanje konzumira ima 10% više hrane nego što je konzumirala prethodni dan. To je uticalo na završnu telesnu masu, odnosno ukupne priraste, o čemu će detaljnije biti diskutovano u potpoglavlju 5.4. *Prosečni dnevni i ukupni prirasti*, a na ovom mestu važno je napomenuti da postoji izvesno odstupanje u konzumiranju između posmatranih oglada.



Grafikon 5.5. Ogled 1 - Nominalno konzumiranje MP (g/dan)



Grafikon 5.6. Ogled 2 - Nominalno konzumiranje MP (g/dan)

### 5.3. UTICAJ TANINA NA ISKORISTIVOST HRANE

Uticaj kestenovih tanina na iskoristivost hrane praćen je u intervalima od 15 dana u ogledu 1 i 10 dana u ogledu 2. Kao parametri iskoristivosti, praćena je konverzija, zatim Klajberov odnos i parametri efikasnosti proteina i energije u obroku.

#### 5.3.1. Konverzija hrane

Konverzija hrane je osnovno merilo iskorišćavanja hrane i ekonomičnosti proizvodnje i predstavlja utrošak hrane za jedinicu prirasta. Drugim rečima, ovaj parametar pruža informacije o tome koliko je hrane potrebno da bi se proizvela jedinica telesne mase. Zbog toga određivanje konverzije može da bude veoma bitna informacija u ovčarskoj, ali i stočarskoj proizvodnji uopšte, jer se njenim korišćenjem procenjuje efikasnost ishrane, na osnovu koje mogu da se identifikuju potencijalni problemi, a zatim i da se optimizuje ishrana. Takođe, pravilno praćenje konverzije hrane može doprineti održivoj proizvodnji, smanjenju troškova hrane i poboljšanju efikasnosti proizvodnje jagnječeg mesa. Zbog svega navedenog, u okviru ovog istraživanja konverzija je prikazana kao utrošak SM obroka (u kg) po kg prirasta, a uticaji kestenovih tanina na ovaj parametar su prikazani u tabeli 5.6 (ogled 1), odnosno u tabelama 5.7 i 5.8 (ogled 2). Usled veoma loših ostvarenih rezultata u ogledu 1 po jedno jagnje iz svake grupe je isključeno iz obračuna. Loše performanse kod navedenih grla nisu posledice negativnog uticaja tanina, jer su prisutne kako u taninskim, tako i u kontrolnoj grupi.

**Tabela 5.6: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na konverziju suve materije (kg SM /kg prirasta)**

Period*	Grupe/Tretmani**			Značajnost***
	K	T1	T2	
<b>Prosečna konverzija po periodima</b>				
<b>Od 1. do 15. dana</b>	5,57 ± 0,69	4,58 ± 0,52	4,83 ± 0,44	NZ
<b>Od 16. do 30. dana</b>	5,33 ± 0,65	4,11 ± 0,51	4,29 ± 0,40	NZ
<b>Od 31. do 45. dana</b>	5,80 <sup>A</sup> ± 0,40	4,78 <sup>B</sup> ± 0,28	4,51 <sup>B</sup> ± 0,19	p < 0,01
<b>Od 46. do 60. dana</b>	5,28 ± 0,79	4,25 ± 0,45	4,48 ± 0,40	NZ
<b>Prosečna konverzija tokom celog ogleda, od 1. do 60. dana ogleda</b>				
	5,28 <sup>a</sup> ± 0,35	4,34 <sup>b</sup> ± 0,19	4,46 <sup>b</sup> ± 0,25	p < 0,05

\*Period od 1. do 15. dana odgovara starosti grla od 67 do 82 dana (± 3 dana); period od 16. do 30. dana odgovara starosti grla od 83 do 97 dana (± 3 dana); period od 31. do 45. dana odgovara starosti grla od 98 do 113 dana (± 3 dana); period od 46. do 60. dana odgovara starosti grla od 114 do 129 dana.

\*\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>a,b</sup> α = 5%); NZ - nema značajnosti.

U ogledu 1 su konverzije SM obroka povoljnije kod taninskih u odnosu na kontrolnu grupu u svim posmatranim periodima, ali samo u periodu ogleda od 31. do 45. dana, što odgovara starosti grla od 98 ± 3 dana, do 113 ± 3 dana, je ustanovljeno da su ove razlike veoma značajne (p < 0,01). Ipak, ukoliko se posmatra kumulativni efekat, odnosno konverzije u celom ogledu, u periodu od 1. do 60. dana, primećuje se da su kod taninskih grupa konverzije bile statistički značajno manje (p < 0,05). Međusobnim poređenjem taninskih grupa statistička značajnost nije utvrđena.

U ogledu 2 (Tabela 5.7 i Tabela 5.8) je takođe primetna bolja konverzija kod jagnjadi iz grupa koje su dobijale kestenove tanine od onih iz kontrolne grupe, ali usled grupnog praćenja konzumiranja hrane, nije bilo ponavljanja, te nije bilo uslova za sprovođenje statističke analize. Iako je odnos polova u okviru jedne grupe bio jednak (1:1), treba napomenuti da su prikazane konverzije po polu uslovne, budući da je konzumiranje u ogledu 2 mereno grupno, te nema individualnih podataka o konzumiranju.

Dobijeni rezultati su podudarni sa Mezzomo et al. (2016), koji su, praćenjem uticaja tanina iz kvebraha, kestena i tare, utvrdili bolje konverzije u ishrani junadi. Naime, navedeni autori su, koristeći smeše tanina poreklom iz kvebraha, kestena i tare, u različitoj količini u obrocima junadi u tovu, zaključili da nije došlo do razlike u prirastima u odnosu na kontrolu, ali su tanini uticali na smanjeno konzumiranje suve materije, te je poboljšana konverzija. Takođe, tanini iz kestena (0,6% SM obroka), kvebraho (0,6% SM obroka) ili smeše kestena i kvebraha (odnos 1:1, 0,6% SM obroka) u obroku junadi u završnoj fazi tova doprineli su povoljnijim konverzijama u odnosu na kontrolu (Rivera-Mendez et al., 2017).

Ipak, u literaturi se mogu naći rezultati koji ne ukazuju na pozitivne uticaje tanina u obrocima preživara (Frutos et al., 2004b; Al-Dobaib, 2009; Liu et al., 2011; Ortiz et al., 2013; Barajas et al., 2014; Liu et al., 2016; Valenti et al., 2018; de S. Costa et al., 2020). Treba napomenuti da je, u literaturi, pored razlika u količini, vrsti i sastavu tanina, vrsti i starosti životinja, razlika bila i u drugim hemijskim parametrima, te se ove razlike ne mogu pripisati isključivo taninima. Stoga, literaturni navodi ukazuju da u zavisnosti od izvora (biljne vrste) i vrste tanina, mogu zavisi i specifični efekti dodatih tanina, i podudarni su sa Mueller-Harvey (2006), koji sugerišu da se količina tanina u obroku treba određivati po vrsti tanina, i da se generalizacija potencijalnih različitih efekata između CT i HT treba pažljivo razmatrati. Pored navedenih, bitan parametar je i vrsta i starost ispitivanih životinja. Tako na primer, koze pokazuju veću toleranciju na tanine od drugih vrsta domaćih preživara, budući da odrasle koze sadrže veću količinu proteina bogatih prolinima (PRP) u pljuvački od mladih grla (Lamy et al., 2011a). Ovakav sastav pljuvačke, utiče na delimičnu neutralizaciju tanina, budući da PRP poseduju potencijal za njihovo taloženje (Alonso-Diaz et al., 2012; Salem et al., 2013).

**Tabela 5.7: Ogled 2 - Uticaj kestenovih tanina na konverziju suve materije kod muških grla (kg SM/kg prirasta)**

Posmatrani period*	Grupe**		
	KON	10T	20T
Od 1. do 10. dana	4,00	3,17	3,16
Od 11. do 20. dana	4,20	3,52	3,80
Od 21. do 30. dana	5,41	4,76	3,85
Od 31. do 40. dana	4,94	4,20	4,61
Od 41. do 50. dana	6,94	6,19	5,64
Od 51. do 60. dana	5,68	5,78	5,14
<b>Prosečne konverzije u periodu korišćenja OBROKA 1</b>			
Od 1. do 20. dana	4,11	3,36	3,49
<b>Prosečne konverzije u periodu korišćenja OBROKA 2</b>			
Od 21. do 40. dana	5,30	4,46	4,20
<b>Prosečne konverzije u periodu korišćenja OBROKA 3</b>			
Od 41. do 60. dana	6,31	5,96	5,35
<b>Prosečna konverzija za ceo period ogleda</b>			
Od 1. do 60. dana	5,05	4,50	4,33

\*period od 1. do 10. dana odgovara starosti grla od 66 do 75 dana ( $\pm 5$  dana); period od 11. do 20. dana odgovara starosti grla od 76. do 85. dana ( $\pm 5$  dana); period od 21. do 30. dana odgovara starosti grla od 86 do 95 dana ( $\pm 5$  dana); period od 31. do 40. dana ogleda odgovara starosti grla od 96 do 105 dana ( $\pm 5$  dana); period od 41. do 51. dana ogleda odgovara starosti grla od 106 do 115 dana ( $\pm 5$  dana); period od 51. do 60. dana ogleda odgovara starosti grla od 116 do 125 dana ( $\pm 5$  dana).

\*\*KON - grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

**Tabela 5.8: Oglad 2 - Uticaj kestenovih tanina na konverziju suve materije kod ženskih grla (kg SM/kg prirasta)**

Posmatrani period*	Grupe**		
	KON	10T	20T
Od 1. do 10. dana	4,00	3,04	3,03
Od 11. do 20. dana	4,58	5,08	4,14
Od 21. do 30. dana	5,56	5,26	5,00
Od 31. do 40. dana	5,27	4,58	4,41
Od 41. do 50. dana	7,39	6,19	5,10
Od 51. do 60. dana	6,40	5,78	5,58
<b>Prosečne konverzije u periodu korišćenja OBROKA 1</b>			
Od 1. do 20. dana	4,31	3,93	3,57
<b>Prosečne konverzije u periodu korišćenja OBROKA 2</b>			
Od 21. do 40. dana	5,41	4,89	4,68
<b>Prosečne konverzije u periodu korišćenja OBROKA 3</b>			
Od 41. do 60. dana	6,90	5,96	5,35
<b>Prosečna konverzija za ceo period oglada</b>			
Od 1. do 60. dana	5,55	4,91	4,53

\*period od 1. do 10. dana odgovara starosti grla od 66 do 75 dana ( $\pm 5$  dana); period od 11. do 20. dana odgovara starosti grla od 76. do 85. dana ( $\pm 5$  dana); period od 21. do 30. dana odgovara starosti grla od 86 do 95 dana ( $\pm 5$  dana); period od 31. do 40. dana odgovara starosti grla od 96 do 105 dana ( $\pm 5$  dana); period od 41. do 50. dana odgovara starosti grla od 106 do 115 dana ( $\pm 5$  dana); period od 51. do 60. dana odgovara starosti grla od 116 do 125 dana ( $\pm 5$  dana).

\*\*KON - grupa bez dodatnih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

### 5.3.2. Klajberov odnos

Klajberov odnos, ili eksponent određivanja metaboličkog nivoa, je koncept kojim se opisuje odnos između nivoa metabolizma i veličine tela životinja (Kleiber, 1947). Za razliku od konverzije, koja predstavlja količinu hrane (ili hranljivih materija) koju je potrebno konzumirati za postizanje kilograma prirasta, KR je indirektni i dodatni pokazatelj efikasnosti ishrane, izračunat na osnovu odnosa prosečnog dnevnog prirasta za posmatrani period i metaboličke telesne mase na kraju posmatranog perioda. Iz toga proizilazi da su kod KR, za razliku od konverzije, povoljnije veće vrednosti. U tabeli 5.9 zbirno su iskazane prosečne vrednosti za ceo period oglada za posmatrane grupe, uključujući i značajnost njihovih razlika.

**Tabela 5.9: Uticaj kestenovih tanina na Klajberov odnos, izražen u kg prirasta po kg metaboličke mase ( $\pm$ SD)**

Oglad	Grupe*			Značajnost**
	K	T1	T2	
Oglad 1	0,0159 <sup>a</sup> $\pm$ 0,002	0,0175 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0,002	0,0181 <sup>b</sup> $\pm$ 0,001	p < 0,05
Oglad 2	<b>KON</b>	<b>10T</b>	<b>20T</b>	NZ
	<b>muška grla</b>	0,0137 $\pm$ 0,002	0,0155 $\pm$ 0,001	
<b>ženska grla</b>	0,0115 <sup>A</sup> $\pm$ 0,004	0,0137 <sup>A,B</sup> $\pm$ 0,001	0,0151 <sup>B</sup> $\pm$ 0,001	p < 0,01

\*Oglad 1: K - grupa bez dodatnih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka;; Oglad 2: KON - grupa bez dodatnih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>a,b</sup>  $\alpha = 5\%$  <sup>A,B</sup>  $\alpha = 1\%$ ); NZ - nema značajnosti.

Ukoliko se posmatraju prosečne vrednosti KR za ceo period ogleda, utvrđeno je da su taninske grupe postigle veće vrednosti KR od kontrolne. U oba ogleda je grupa koja je dobijala najviše tanina (T2 odnosno 20T za ogled 1 i ogled 2, redom), postigla najveće vrednosti. U ogledu 1, ove vrednosti su statistički značajno veće ( $p < 0,05$ ) od vrednosti kontrolnih grupa, dok su u ogledu 2 kod ženskih grla ove vrednosti veoma značajno ( $p < 0,01$ ) veće od onih iz kontrolne grupe. Takođe, poređenjem sa grupom T1, odnosno 10T nisu utvrđene značajnosti ( $p > 0,05$ ). Informacije o uticaju tanina na KR su veoma ograničene, budući da su tanini prvenstveno ispitivani u pogledu uticaja na svarljivost i konverzije hrane kod preživara. Treba napomenuti da je KR generalni princip koji opisuje ukupan odnos između nivoa metabolizma i veličine tela. Iako brojni faktori mogu uticati na stopu metabolizma, kao što su struktura i sastav obroka, aktivnost životinja, uticaji okoline i drugi, direktni uticaji tanina na KR nisu dovoljno izučeni.

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju ukazuju na to da veći sadržaj kestenovih tanina u obrocima jagnjadi u tovu može uticati na poboljšanje KR. Naime, iako je povećanje primetno u obe taninske grupe, u ogledu 1 samo grla sa najvećim sadržajem kestenovih tanina su značajno bolje koristila hranu od grla koja nisu dobijala dodatne tanine, dok je u ogledu 2 ovaj efekat primećen samo kod ženskih grla koja su dobijala najveću dozu tanina. Dodavanje kestenovih tanina je, uslovno rečeno, imalo pozitivan uticaj na iskorišćavanje hrane jagnjadi u tovu, što se manifestuje većim prirastima. Ovo može biti posledica povećanog dotoka tzv. „by pass“ proteina u tanka creva (Min et al., 2006), posledično i aminokiselina (Mancini et al., 2019), koje životinje direktno koriste za potrebe sopstvene produktivnosti. Veće vrednosti KR kod taninskih grupa ukazuju na to da kestenovi tanini imaju potencijal povećanja iskoristivosti hrane, budući da je vrednost ovog parametra rasla, samim tim i bila povoljnija, upravo sa porastom kestenovih tanina u obroku. Ipak, treba napomenuti da je količina dodatih tanina u obroku u T2 grupi iz ogleda 1 i 10T grupi iz ogleda 2 vrlo slična. Budući da je u prvom ogledu korišćenjem ove količine tanina došlo do značajno boljih vrednosti, a da je u drugom ogledu značajnost izostala, pouzdan generalni zaključak se ne može izvesti.

Stoga, iako rezultati ukazuju da tanini mogu potencijalno da utiču na poboljšanje iskoristivosti hrane i energije kod jagnjadi, neophodno je sprovesti dodatna istraživanja kako bi se bolje razumela njihova uloga na KR.

### 5.3.3. Efikasnost proteina i energije u obroku

Dodatni pokazatelj iskoristivosti proteina predstavlja i efikasnost proteina (EP) i energije (EEN) u obroku. Efikasnost proteina se izračunava stavljanjem u odnos ukupnog prirasta (u gramima) i ukupne date količine SP u obroku (u gramima) za ceo period ogleda. Slično, EEN se izračunava stavljanjem u odnos ukupnog prirasta (g) i ukupno date količine NE<sub>meat</sub> u obroku (MJ) za ceo period ogleda. U tabelama 5.10 (ogled 1) i 5.11 (ogled 2) prikazane su vrednosti EP i EEN za ceo period ogleda (od 1. do 60. dana).

**Tabela 5.10: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na efikasnost proteina i energije ( $\pm$ SD)**

Parametar	Grupa*			Značajnost**
	K	T1	T2	
Efikasnost proteina (g prirasta / g datog SP)	0,83 <sup>a</sup> $\pm$ 0,13	0,98 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,18	1,03 <sup>b</sup> $\pm$ 0,10	$p < 0,05$
Efikasnost energije (g prirasta / MJ NE <sub>meat</sub> )	23,26 <sup>a</sup> $\pm$ 1,60	26,88 <sup>ab</sup> $\pm$ 2,63	27,95 <sup>b</sup> $\pm$ 1,22	$p < 0,05$

\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>ab</sup>  $\alpha = 5\%$ )

**Tabela 5.11: Ogled 2 - Uticaj kestenovih tanina na efikasnost proteina i energije**

Parametar	Grupe*		
	KON	10T	20T
<b>Efikasnost proteina (g prirasta / g datog SP)</b>			
Muška grla	1,19	1,47	1,60
Ženska grla	1,07	1,43	1,53
<b>Efikasnost energije (g prirasta / MJ NEmeat)</b>			
Muška grla	26,58	33,15	34,79
Ženska grla	23,93	32,37	34,79

\*KON - grupa bez dodatih tamoma; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/ kg SM obroka.

Vrednosti EP i EEN za ceo period oba ogleda su veće kod taninskih nego kontrolne grupe, što ukazuje da su kestenovi tanini uticali na bolje korišćenje SP iz obroka. Ipak, statistička značajnost razlika je utvrđena jedino u ogledu 1, poređenjem K i T2 grupe ( $p < 0,05$ ), dok u ogledu 2, usled grupnog merenja konzumiranja, statistička analiza nije mogla da se obavi. Kako je prikazano, vrednosti EP i EEN su veće u ogledu 2 nego u ogledu 1, što je direktna posledica bolje izbalansiranosti obroka u ogledu 2. Naime, u prvom ogledu korišćen je standardni farmerski obrok, koji je u većem periodu tova bio iznad potreba životinja koje su hranjene, dok su u ogledu 2 obroci normirani tako da zadovolje potrebe u MP za prirast od 250 g/dan, dok je NEmeat bilo više za oko 14%, što ugrubo odgovara prirastu od 275 g/dan. Posledica ovog normiranja je manji utrošak hraniva i bolje korišćenje obroka, o čemu svedoče parametri EP i EEN.

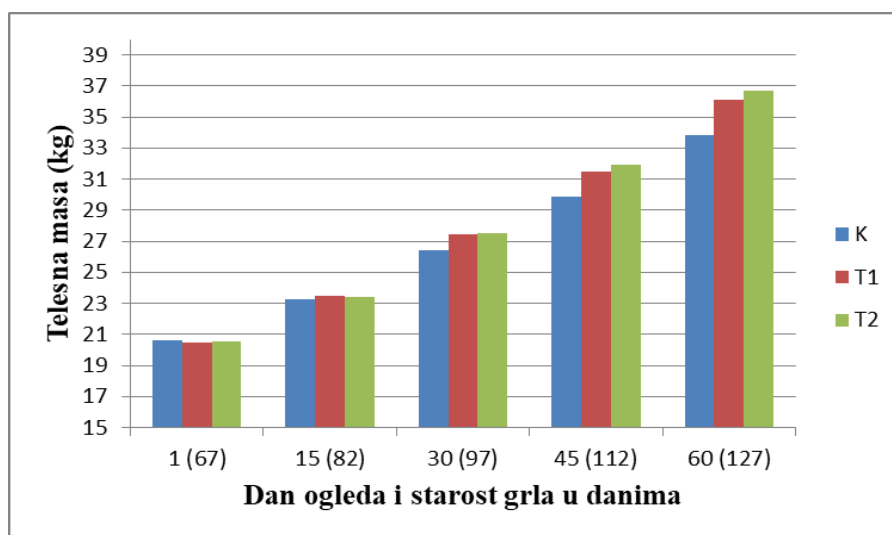
Navedeni rezultati, koji ukazuju da kestenovi tanini mogu uticati na EP su u saglasnosti sa Al-Dobaib (2009). Naime, navedeni autor je u samleveno lucerkino seno dodavao kvebraho tanine (0%, 1%, 2% i 3% kvebraho preparata u SM obroka) i ustanovio da su oni uticali na povećanje dotoka neamonijačnog azota u distalne partije digestivnog trakta, odnosno da dodavanje tanina utiče na bolje iskorišćavanje neamonijačnog azota. Dobijeni rezultati su saglasni i sa istraživanjem Mezzomo et al. (2016), koji su utvrdili 1,5 puta više RUP kod junadi koja je dobijala tanine.

Upotreba tanina se može dovesti u vezu sa poboljšanim korišćenjem proteina iz obroka (Theodoridou et al., 2011). Naime, dodavanjem tanina, usled stvaranja kompleksa, više proteina dolazi do tankih creva (Perez-Maldonado i Norton, 1996), usled smanjene proteolize (Fernandes et al., 2021), dok količina mikrobijalnog proteina ostaje nepromenjena. Posledično, životinjama je dostupna veća količina proteina koje koriste za podmirivanje sopstvenih potreba.



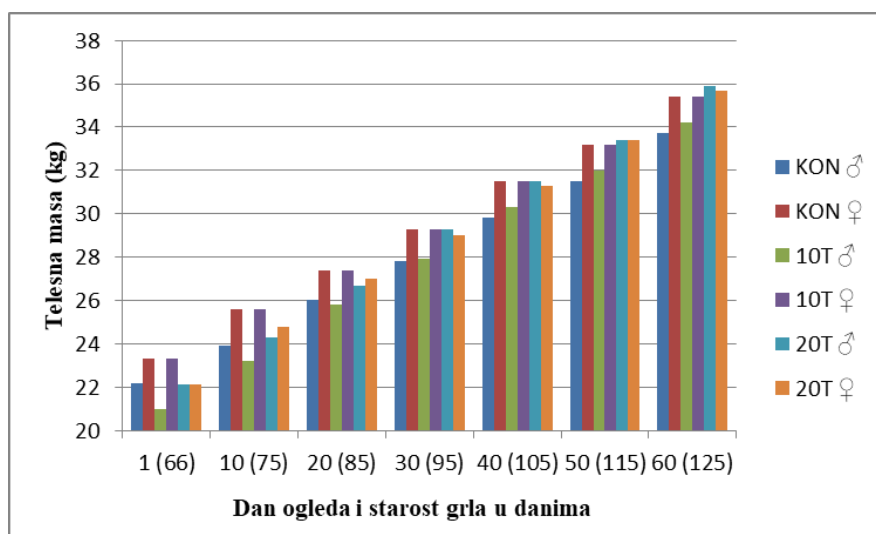
## 5.4. PROSEČNI DNEVNI I UKUPNI PRIRASTI

Prirast predstavlja jedan od ključnih parametara koji se koristi za praćenje rasta i razvoja životinja, njihovih performansi u tovu, ali indirektno može da ukazuje i na efikasnost ishrane. Kako bi se ispitaio uticaj kestenovih tanina na produktivnost jagnjadi, praćene su intervalne promene telesne mase u periodu trajanja ogleada (prikazane na grafikonu 5.7 za ogled 1 i grafikonu 5.8 za ogled 2, redom), na osnovu kojih su izračunati prosečni dnevni (PDP) i ukupni prirast (UP). Zbog veoma loših ostvarenih rezultata u ogledu 1 po jedno jagnje iz svake grupe je isključeno iz obračuna. Loše performanse kod navedenih grla nisu posledica negativnog uticaja tanina, budući da su prisutne i u kontrolnoj grupi.



**Grafikon 5.7: Ogled 1 - Promene telesna mase jagnjadi u toku trajanja ogleada, kg**

U ogledu 1 (grafikon 5.7) telesne mase jagnjadi na početku ogleada su bile ujednačene, dok su u ogledu 2 (grafikon 5.8) primećena određena odstupanja između grupa, naročito kada se razdvoje po polovima. Iako su grla bila približno iste starosti prilikom formiranja grupa u oba ogleada, zbog ograničenog izbora prilikom formiranja grupa na početku ogleada 2, a da bi se ispoštovalo da nema razlika u prosečnoj telesnoj masi između grupa, izabrana su grla koja su bila većih TM i neujednačenija po ovom parametru od onih iz ogleada 1.



**Grafikon 5.8: Ogled 2 - Promene telesne mase jagnjadi u toku trajanja ogleada, kg**

Prosečni dnevni prirasti u okviru perioda, i celog oglada, kao i ukupni prirast grupa su prikazani u tabeli 5.12 (ogled 1) i tabelama 5.13 i 5.14 (ogled 2).

Početak tova (što se u ovom slučaju poklapa sa početkom oglada) je bio najstresniji period za jagnjad, budući da su se drastično promenili uslovi držanja. Naime, u ogledu 1 jagnjad su odvojena od majki, a ujedno i iz zajedničkih grupnih bokseva smešteni u nove, sa samo još jednim jagnjetom. Novi uslovi smeštaja i grupisanja životinja su doprineli lošijem iskorišćavanju hrane, što se manifestuje i kroz lošije priraste. Ipak, iako nije bilo statističke značajnosti ( $p < 0,05$ ) između ostvarenih prirasta, deluje da su se životinje iz taninskih grupa bolje prilagodile novim uslovima. U ogledu 1, prosečni dnevni prirasti u svim posmatranim periodima su bili veći kod T2 grupe u odnosu na T1 i kontrolnu grupu, ali je značajnost razlika između T2 i K ( $p < 0,05$ ) utvrđena jedino u periodu od 31. do 45. dana, što je donekle u saglasnosti sa Molosse et al. (2021). Navedeni autori su utvrdili da, iako nije bilo statistički značajnih razlika u prvom periodu posmatranja između grupa (koji predstavlja period od 1. do 15. dana), u kasnijem periodu (16. - 30. dana), kao i posmatranjem celog oglada, utvrđeno je da su prosečni dnevni prirasti, ukupni prirasti i završne TM rasli sa povećanjem navedenog hraniva, odnosno sa povećanjem tanina u obroku. Ukoliko se posmatraju PDP za ceo period oglada (od 1. do 60. dana), kod taninskih grupa koje su dobijale najveću količinu kestenovih tanina je primećeno značajno bolje napredovanje od kontrolne ( $p < 0,05$ ). Naime, kako je prikazano u tabeli 5.12, u ogledu 1 grupa T2 je ostvarila najveće, a K grupa najmanje priraste, a kada se ove vrednosti posmatraju kao relativne, uočava se da je T1 grupa ostvarila za 16%, a T2 grupa za 21% veće prosečne dnevne priraste od K.

**Tabela 5.12: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na prosečni dnevni i ukupni prirast jagnjadi ( $\pm$  SD)**

Parametar*	Grupe**			Znač.***
	K	T1	T2	
TM na poč. oglada, kg	20,44 $\pm$ 1,40	20,56 $\pm$ 1,42	20,44 $\pm$ 0,98	NZ
TM na kraju oglada, kg	33,81 <sup>a</sup> $\pm$ 2,09	36,11 <sup>a,b</sup> $\pm$ 3,61	36,67 <sup>b</sup> $\pm$ 1,79	$p < 0,05$
PDP 1. - 15. dana, g	187,50 $\pm$ 56,17	196,30 $\pm$ 82,40	200,00 $\pm$ 40,82	NZ
PDP 16. - 30. dana, g	212,50 $\pm$ 53,27	262,96 $\pm$ 91,96	270,37 $\pm$ 69,61	NZ
PDP 31. - 45. dana, g	229,17 <sup>A</sup> $\pm$ 33,03	270,37 <sup>B</sup> $\pm$ 30,93	296,30 <sup>A</sup> $\pm$ 26,06	$p < 0,01$
PDP 46. - 60. dana, g	262,50 $\pm$ 72,24	307,41 $\pm$ 59,58	314,81 $\pm$ 53,00	NZ
PDP 1-60 dana, g	222,92 <sup>a</sup> $\pm$ 34,43	259,26 <sup>a,b</sup> $\pm$ 29,73	270,37 <sup>b</sup> $\pm$ 26,06	$p < 0,05$
UP, kg	13,37 <sup>a</sup> $\pm$ 2,07	15,55 <sup>a,b</sup> $\pm$ 1,98	16,22 <sup>b</sup> $\pm$ 1,56	$p < 0,05$

\*TM - telesna masa; PDP - prosečan dnevni prirast; UP - ukupni prirast; Period od 1. do 15. dana odgovara starosti grla od 67 do 82 dana ( $\pm$  3 dana); period od 16. do 30. dana odgovara starosti grla od 83 do 97 dana ( $\pm$  3 dana); period od 31. do 45. dana odgovara starosti grla od 98 do 113 dana ( $\pm$  3 dana); period od 46. do 60. dana odgovara starosti grla od 114 do 129 dana.

\*\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>a,b</sup>  $\alpha = 5\%$  <sup>A,B</sup>  $\alpha = 1\%$ ); NZ - nema značajnosti.

Slično, ako se posmatra ceo period ogleda 2, prikazan po polovima u tabelama 5.13 i 5.14, takođe se primećuje povećanje PDP sa povećanjem kestenovih tanina u obroku. Posmatrajući relativne vrednosti, uočava se da je povećanje prosečnih dnevnih prirasta muških grla kod 10T bilo za 15%, a kod 20T za 20% u odnosu na KON. Kod ženskih grla razlike između kontrole i grupe 20T je bilo još veće (30%), dok su grla iz grupe 10T ostvarila za oko 16% veće priraste. Ipak, poređenjem razlika između grupa, značajnost je ustanovljena jedino kod KON i 20T ( $p < 0,05$ ). Ukoliko se prikaže ukupno napredovanje jagnjadi u celom tovu, odnosno ukoliko se posmatraju ukupni prirasti, uočava se isti trend.

Kod ženskih grla, najveće priraste u gotovo svim posmatranim periodima su ostvarila grla iz 20T grupe, osim u prvom periodu (od 1. do 10. dana ogleda). Ostvareni dnevni prirasti po posmatranim desetodnevnom periodima su, ipak, vrlo heterogeni, uz velika odstupanja, što je posledica više faktora, te kod donošenja zaključaka postoje izvesna ograničenja. Grla su prvenstveno konzumirala manje SM od predviđene količine. Usled nižeg KSM, obezbeđivanje energijom i MP je bilo na suboptimalnom nivou, o čemu je bilo reči u potpoglavlju 5.2. *Uticaj tanina na konzumiranje*. Takođe, za razliku od ogleda 1, u ogledu 2 grla su držana grupno, uz podjednak odnos polova u grupi, što je neminovno dovelo do nadmetanja za hranidbeni prostor usled međusobne kompetencije i hijerarhijskih odnosa, iako je bilo dovoljno prostora na jaslama i valovima za sva grla, podjednako. Takođe, i neujednačenost u TM između grla unutar grupa je doprinela kompetenciji, budući da su krupnija jagnjad potiskivala slabiju. Ovi faktori su uticali na to da nisu sva grla podjednako konzumirala datu količinu hrane, što se odražava na ostvarene priraste. Iako povezanost između socijalne hijerarhije, međusobne kompetencije, nadmetanja za hranidbeni prostor i samo konzumiranje hrane nije do kraja objašnjeno, Rice et al. (2016a) navode da su prethodno pomenuti faktori dominantni u razlozima neujednačenosti produktivnih parametara jagnjadi u tovu, određenih preko ostvarenih prirasta. Iako su ponašanje jagnjadi, kao i njihove međusobne socijalne interakcije izvan obima ove disertacije, treba napomenuti da su oni prepoznati u svetu kao potencijalni problem, koji može uticati na smanjenje produktivnosti jagnjadi u tovu (Rice et al., 2016b). Jedan od rešenja ovog problema je postavljanje pregrada na jaslama i valove, kako bi svako grlo zauzimalo jednak prostor na hranidbenom mestu, bez mogućnosti ograničavanja ostalih.

Ukoliko se posmatraju periodi korišćenja pojedinačnih obroka, u periodu korišćenja prvog (od 1. do 20. dana ogleda), odnosno drugog (od 21. do 40. dana ogleda) obroka, utvrđeni su nešto veći prirasti kod taninskih grupa u odnosu na kontrolu, ali ipak bez statističke značajnosti. U periodu korišćenja trećeg obroka (od 41. do 60. dana), ženska grla iz 20T grupe su ostvarila značajno veće priraste ( $p < 0,05$ ) od životinja iz KON grupe, dok kod muških grla ova razlika nije bila značajna ( $p > 0,05$ ), usled velikog unutargrupnog variranja.

Kada se uporede nominalno konzumirani obroci (prikazani u tabeli 5.5.) i ostvareni prirasti, sa prirastima koji su pretpostavljeni na osnovu konzumiranja nominalnog obroka, preko sistema CVB 2016 (CVB, 2018), primećuje se delimična usaglašenost podataka. Naime, kod muških grla, u periodu korišćenja obroka 3 (od 41. do 60. dana) je na osnovu nominalno konzumiranog obroka očekivan prirast od 200 do 250 grama kod KON i 10T, grla su prosečno prirastala 195 g/dan. Slično, posmatranjem ostvarenih prirasta kod ženskih grla, takođe u periodu korišćenja trećeg obroka, 10T je ostvarila takođe prirast od 195 g/dan, dok je kontrolna grupa ostvarila samo 160 g/dan. Ovako slabi rezultati su direktna posledica konzumiranja manje količine hrane u periodu od 41. do 50. dana (tabela 5.3). Takođe, kako je već navedeno, postoji mogućnost da je, zbog grupnog držanja jagnjadi, nominalno konzumirani obrok drugačiji od onog koji su grla zaista konzumirala. Obroci u ogledu 2 su normirani na osnovu holandskih CVB 2016 (CVB, 2018) normativa tako da zadovolje potrebe u MP za prirast od 250 g/dan, dok je NEmeat bilo više za oko 14%, što ugrubo odgovara prirastu od 275 g/dan. Tako, pretpostavka korišćenja obroka je bila da će uticaj tanina dovesti do zadovoljenja potreba za prirast veći od 250 g/dan. Ukoliko se posmatraju rezultati u tabelama 5.13 i 5.14 uviđa se da je prosečan dnevni prirast uglavnom bio ispod očekivanih vrednosti kod sve tri grupe. Kako je već navedeno, ogled je dizajniran na taj način da se svakodnevno određuje količina hrane koja će se dati, na taj način što su sve tri grupe dobijale istu

količinu sena, koja je određena tako da 10% sena preostane u jaslama kod grupe čije je konzumiranje najmanje, uz poštovanje odnosa kabastog i koncentrovanog dela u obroku. Tako, najmanju količinu SM je konzumirala KON grupa, čime je posledično konzumiranje bilo na nižem nivou od planiranog. Praćenjem nominalno konzumiranog obroka, može se odrediti zadovoljenost potreba u energiji za ciljane priraste, dok je količina MP bila niža od potrebne, te je ovaj parametar bio ograničavajući faktor. Zbog relativno slabijeg iskorišćavanja hranljivih materija, kod ženskih grla u tovu, trebalo je obezbediti 10% više energije i 5% manje MP od vrednosti koje su definisane za muška grla.

U ogledu 1, standardni farmski obrok je ocenjen korišćenjem CVB 2016 normativa (CVB, 2018), a nominalno konzumiranje obroka, NEmeat i MP prikazani u tabeli 5.2. Na osnovu tih parametara, kao i TM jagnjadi, određeni su očekivani prirasti. Ostvareni prirasti kod K grupe su u svim periodima bili niži od očekivanih, dok su kod taninskih grupa jedino u poslednjem periodu ogleda (od 46. do 60. dana) bili na nivou očekivanih. Iako su grla u većem delu ogleda hranjena obrocima preko nivoa zadovoljenja potreba, grla iz grupe K nisu ostvarila očekivane priraste. Ovo može ukazivati na potrebu za optimalnijim normiranjem obroka. S druge strane, ako se uzme u obzir da su obroci u ogledu 2 normirani u skladu sa pomenutim normativima, ali da jagnjad takođe nisu ostvarila očekivanu produktivnost, stvara se potreba i za prilagođavanjem ovih normativa našim uslovima, a pre svega uticaju rase. Po navodima Božičković et al. (2020), ovi normativi su razvijeni za rase koje se gaje u Holandiji. Iako MIS rasa, korišćena u okviru ove disertacije, predstavlja rasu za polu-intenzivan sistem proizvodnje, pitanje kompatibilnosti sa rasama koje se gaje u Holandiji ostaje otvoreno.

**Tabela 5.13: Ogled 2 - Uticaj kestenovih tanina na prosečni dnevni i ukupni prirast muške jagnjadi ( $\pm$  SD)**

Parametar*	Grupe**			Znač.***
	KON	10T	20T	
TM na poč. ogleda, kg	22,20 $\pm$ 2,72	21,00 $\pm$ 2,15	22,10 $\pm$ 2,63	NZ
TM na kraju ogleda, kg	33,70 $\pm$ 2,91	34,20 $\pm$ 3,51	35,90 $\pm$ 3,11	NZ
PDP 1-10 dana, g	170,00 $\pm$ 57,01	220,00 $\pm$ 44,72	220,00 $\pm$ 57,01	NZ
PDP 11-20 dana, g	210,00 $\pm$ 65,19	260,00 $\pm$ 66,18	240,00 $\pm$ 41,83	NZ
PDP 21-30 dana, g	180,00 $\pm$ 57,01	210,00 $\pm$ 54,77	260,00 $\pm$ 49,44	NZ
PDP 31-40 dana, g	200,00 $\pm$ 35,36	240,00 $\pm$ 41,83	220,00 $\pm$ 39,55	NZ
PDP 41-50 dana, g	170,00 $\pm$ 75,83	170,00 $\pm$ 27,39	190,00 $\pm$ 54,77	NZ
PDP 51-60 dana, g	220,00 $\pm$ 25,50	220,00 $\pm$ 44,72	250,00 $\pm$ 50,00	NZ
PDP 1-20 dana, g	190,00 $\pm$ 22,36	240,00 $\pm$ 67,55	230,00 $\pm$ 41,08	NZ
PDP 21-40 dana, g	190,00 $\pm$ 37,91	225,00 $\pm$ 25,00	240,00 $\pm$ 38,26	NZ
PDP 41-60 dana, g	195,00 $\pm$ 36,74	195,00 $\pm$ 20,92	220,00 $\pm$ 51,23	NZ
PDP 1-60 dana, g	191,67 <sup>a</sup> $\pm$ 16,17	220,00 <sup>a,b</sup> $\pm$ 20,81	230,00 <sup>b</sup> $\pm$ 18,01	p < 0,05
UP, kg	11,50 <sup>b</sup> $\pm$ 0,70	13,20 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0,80	13,80 <sup>b</sup> $\pm$ 1,02	p < 0,05

\*TM - telesna masa; PDP - prosečni dnevni prirast; UP - ukupni prirast za ceo period ogleda. Period od 1. do 10. dana odgovara starosti grla od 66 do 75 dana ( $\pm$  5 dana); period od 11. do 20. dana odgovara starosti grla od 76. do 85. dana ( $\pm$  5 dana); period od 21. do 30. dana odgovara starosti grla od 86 do 95 dana ( $\pm$  5 dana); period od 31. do 40. dana ogleda odgovara starosti grla od 96 do 105 dana ( $\pm$  5 dana); period od 41. do 51. dana ogleda odgovara starosti grla od 106 do 115 dana ( $\pm$  5 dana); period od 51. do 60. dana ogleda odgovara starosti grla od 116 do 125 dana ( $\pm$  5 dana).

\*\*KON - grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/ kg SM obroka.

\*\*\*Znač. - značajnost; Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>a,b</sup>  $\alpha$  = 5%; <sup>A,B</sup>  $\alpha$  = 1%); NZ - nema značajnosti

**Tabela 5.14: Oglad 2 - Uticaj kestenovih tanina na prosečni dnevni i ukupni prirast ženske jagnjadi ( $\pm$  SD)**

Parametar*	Grupe**			Znač.***
	KON	10T	20T	
TM na poč. oglada, kg	22,50 $\pm$ 2,74	23,30 $\pm$ 3,49	22,50 $\pm$ 2,22	NZ
TM na kraju oglada, kg	32,95 $\pm$ 4,32	35,40 $\pm$ 6,80	35,70 $\pm$ 3,07	NZ
PDP 1-10 dana, g	170,00 $\pm$ 24,49	230,00 $\pm$ 75,83	230,00 $\pm$ 44,32	NZ
PDP 11-20 dana, g	192,50 $\pm$ 72,28	180,00 $\pm$ 57,01	220,00 $\pm$ 27,39	NZ
PDP 21-30 dana, g	175,00 $\pm$ 86,60	190,00 $\pm$ 55,72	200,00 $\pm$ 61,24	NZ
PDP 31-40 dana, g	187,50 $\pm$ 47,87	220,00 $\pm$ 44,72	230,00 $\pm$ 90,83	NZ
PDP 41-50 dana, g	125,00 <sup>a</sup> $\pm$ 64,55	170,00 <sup>a,b</sup> $\pm$ 27,39	210,00 <sup>b</sup> $\pm$ 41,83	p < 0,05
PDP 51-60 dana, g	195,00 $\pm$ 10,00	220,00 $\pm$ 44,72	230,00 $\pm$ 44,72	NZ
PDP 1-20 dana, g	181,25 $\pm$ 31,46	205,00 $\pm$ 57,01	225,00 $\pm$ 17,08	NZ
PDP 21-40 dana, g	181,25 $\pm$ 65,75	205,00 $\pm$ 87,32	215,00 $\pm$ 41,83	NZ
PDP 41-60 dana, g	160,00 <sup>a</sup> $\pm$ 36,29	195,00 <sup>a,b</sup> $\pm$ 32,60	220,00 <sup>b</sup> $\pm$ 27,39	p < 0,05
PDP 1-60 dana, g	174,17 <sup>a</sup> $\pm$ 34,87	201,67 <sup>a,b</sup> $\pm$ 25,47	220,00 <sup>b</sup> $\pm$ 11,18	p < 0,05
UP, kg	10,45 <sup>a</sup> $\pm$ 2,09	12,10 <sup>a,b</sup> $\pm$ 1,53	13,20 <sup>b</sup> $\pm$ 1,20	p < 0,05

\*TM - telesna masa; PDP - prosečni dnevni prirast; UP - ukupni prirast.

\*\*KON - grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka ; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/ kg SM obroka.

\*\*\*Znač. - značajnost; Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>ab</sup>  $\alpha$  = 5%; <sup>AB</sup>  $\alpha$  = 1%); NZ - nema značajnosti

\*\*\* period od 1. do 10. dana odgovara starosti grla od 66 do 75 dana ( $\pm$  5 dana); period od 11. do 20. dana odgovara starosti grla od 76. do 85. dana ( $\pm$  5 dana); period od 21. do 30. dana odgovara starosti grla od 86 do 95 dana ( $\pm$  5 dana); period od 31. do 40. dana odgovara starosti grla od 96 do 105 dana ( $\pm$  5 dana);; period od 41. do 51. dana odgovara starosti grla od 106 do 115 dana ( $\pm$  5 dana); period od 51. do 60. dana odgovara starosti grla od 116 do 125 dana ( $\pm$  5 dana).

Kako je već navedeno, ukoliko se posmatra ceo period oglada (od 1. do 60. dana), grupe iz oba oglada koje su dobijale najveće količine kestenovih tanina u obroku, ostvarile su značajno veće priraste (p < 0,05). Ovo ukazuje da kestenovi tanini utiču značajno na poboljšanje prirasta jagnjadi u tovu, što je u saglasnosti sa brojnim autorima (Ortiz et al., 2013; Barajas et al., 2014; Rivera-Mendez et al., 2017; Molosse et al., 2021). Tako, dodavanjem taninskog preparata koji je smeša kestenovih i kvebraho tanina (proizvod BYPRO sa 72% tanina) u količini od 0,3% SM obroka jagnjadi, ustanovljeni su veći prirasti nego kod kontrole za 18% (Ortiz et al., 2013). Korišćenjem istog preparata u količini od 0%, 0,15%, 0,30% i 0,45% SM u obroku, ustanovljeno je da su tanini uticali na poboljšanje prosečnih dnevnih prirasta jagnjadi (Barajas et al., 2014). Takođe, tanini iz kestena (0,6% SM), kvebraho (0,6% SM) ili smeše kestena i kvebraha (odnos 1:1, 0,6% SM) u obroku junadi u završnoj fazi tova doprineli su većim prirastima uz konzumiranje veće količine energije (Rivera-Mendez et al., 2017).

Kako je već napomenuto, količina dodatih tanina u obroku T2 grupe iz oglada 1 bila veoma slična količini kestenovih tanina u obroku 10T grupe iz oglada 2. Korišćenje ove količine tanina u ogledu 1 je dovelo do značajno boljih vrednosti, dok je u ogledu 2 značajnost izostala. Rezultati ukazuju da kestenovi tanini imaju potencijal povećanja produktivnosti kod životinja. Pored samih tanina, na ovaj parametar utiču i drugi faktori, koji obuhvataju sastav i količinu datog obroka, pol životinja, ali i uslove smeštaja životinja. Stoga, na osnovu dobijenih rezultata, generalni zaključak je teško izvesti. Dobijeni rezultati mogu ukazivati na to da kestenovi tanini poseduju mogućnost vezivanja sa proteinima iz hrane u komplekse koji su manje razgradivi u buragu (Niderkorn et al., 2011; Zhao et al., 2019), te posledično, mogu poboljšati dotok metaboličkog proteina u creva (Ali et al., 2017; Rivera-Mendez et al., 2017; Aboagye et al., 2018). Naime, dodavanjem malih ili umerenih količina tanina u obroke, može se promeniti mesto degradacije proteina, pri čemu se povećava dotok metaboličkih aminokiselina u tanka creva (Min et al., 2003). Mezzomo et al. (2011) su utvrdili da kod fistulisanih junadi hranjenih obrocima sa visokim udelom koncentrovanih hraniva i sadržajem kvebraho tanina (0,4% SM obroka), u odnosu na kontrolnu grupu kojoj nisu dodavani

tanini, sadržaj RUP je povećan, bez smanjenja količine mikrobijalnog proteina, pri čemu je došlo do povećanja sadržaja proteina dostupnih za apsorpciju u tankim crevima, i posledično, do povećanja sadržaja MP. Povećan sadržaj RUP usled dodavanja tanina može izmeniti sastav aminokiselina u okviru MP, pri čemu može poboljšati efikasnost njihovog korišćenja u obroku (Valaderes Filho et al., 2010). Ovi efekti su značajni kada postoje ograničenja u dotoku MP, a kada obrok zadovoljava ostale potrebe, kakav je u uslovima oglada 2. U slučaju savremene ishrane ovo se očekuje samo ukoliko se namenski tako sastave obroci sa ciljem uštede. S druge strane, u ogledu 1 su životinje iz taninskih grupa ostvarile veće priraste u odnosu na kontrolnu, iako su u većem periodu oglada hranjena obrocima iznad potreba. Stoga, rezultati ukazuju na to da kestenovi tanini mogu uticati ne samo na povećanje MP, već i na njegovo bolje korišćenje, čime se omogućava životinjama da dostignu željene priraste u uslovima kada je njegova količina smanjena, ali i kada su obroci normirani na suboptimalnom nivou. Stoga, efekti utvrđeni u okviru ove disertacije mogu imati implementaciju u praktičnim uslovima, jer zahvaljujući interakcijama tanina sa hranljivim materijama, a pre svega proteinima, kao i njihovom efektu na priraste jagnjadi, mogu se u njihovom toku koristiti obroci slabijeg kvaliteta. Ovakvi obroci su neretko i manje cene koštanja, budući da su proteini najskuplja hranljiva materija obroka, uz dobijanje relativno dobrih rezultata, odnosno zadovoljavajući prirasti kod jagnjadi. Ipak, treba napomenuti da uključenje kestenovih tanina u obrok može dovesti do poskupljenja obroka, usled uvođenja nove, za sada relativno skupe, komponente u obrok, o čemu će detaljnije biti reči u potpoglavlju 5.8. *Uticao tanina na ekonomsku održivost.*

## 5.5. SVARLJIVOST HRANLJIVIH MATERIJIA

Utjecaj dodavanja kestenovih tanina na iskoristivost hranljivih materija iz obroka je određen ispitivanjem indirektno svarljivosti, upotrebom indikatora, u tri različita perioda u oba ogleda. Kao indikator korišten je pepeo nerastvorljiv u HCl, budući da je prirodno prisutan, ne resorbuje se i ne utiče na varenje hranljivih sastojaka. Takođe, ovaj indikator, kao inertna materija, ne utiče ni na zdravlje niti na produktivnost životinja.

Efekat varenja (razlaganja i resorpcije) se ogleda u svarljivosti, koja predstavlja razliku između konzumiranih hranljivih materija i hranljivih materija u fecesu. Korišćenjem indikatora, kao i sadržaja hranljivih materija u hrani i fecesu, utvrđena je prividna svarljivost (PS) hranljivih materija, izražena procentualno, što je prikazano u tabeli 5.15 (ogled 1) i tabeli 5.16. Ovako određena svarljivost se naziva prividnom (eng. apparent digestibility), budući da se u fecesu pored nesvarenih hranljivih materija nalaze i materije endogenog porekla, kao što su sastojci digestivnih sokova i deskvamisanih ćelija epitela sluzokože digestivnih organa, što pri analizi fecesa dovodi do povećanja prisustva hranljivih materija u fecesu. Takođe, ograničenje predstavlja i to što analiziranjem hrane i fecesa ne postoji mogućnost određivanja koji udeo je razgrađen dejstvom enzimskog aparata same životinje, a koji delovanjem mikroflore buraga, pre svega buražnih bakterija.

**Tabela 5.15: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na prividnu svarljivost (PS) hranljivih materija, po periodima**

Koeficijent*	Period** / Grupe***								
	15-19. dan ogleda			30-34. dan ogleda			45-49. dan ogleda		
	K	T1	T2	K	T1	T2	K	T1	T2
PS SM, %	93,28	92,89	92,23	79,27	78,27	76,32	81,88	80,77	78,73
PS OM, %	78,02	76,18	74,17	82,03	79,99	78,49	85,11	84,27	81,75
PS SP, %	76,94	75,62	70,86	83,13	80,36	79,46	83,44	79,03	76,24
PS SMa, %	86,78	86,45	84,99	82,55	75,69	80,23	83,83	82,61	82,55
PS SC, %	64,49	60,44	58,70	64,79	67,18	60,89	72,45	73,47	65,16
PS NDF, %	67,70	62,73	60,34	68,19	65,73	60,32	74,30	72,31	66,28
PS ADF, %	62,10	58,19	56,92	60,57	59,09	52,76	65,90	64,67	57,36
PS BEM, %	87,16	85,63	84,98	95,14	93,14	93,45	89,98	89,49	88,75
PS NFC, %	93,31	92,66	92,73	93,40	91,90	90,82	95,29	95,93	95,93

\*PS - prividna svarljivost; SM - suva materija; OM - organska materija; SP - sirovi protein; SMa - sirove masti; SC - sirova celuloza; NDF - vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu; ADF - vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu; BEM - bezazotne ekstraktivne materije; NFC - nestrukturani ugljeni hidrati.

\*\*\*Period ogleda od 15. do 19. dana odgovara starosti grla od 81. do 85. dana ( $\pm 3$  dana); period ogleda od 30. do 34. dana odgovara starosti grla od 96. do 100. dana ( $\pm 3$  dana); period od 45. do 49. dana ogleda odgovara starosti grla od 111. do 115. dana ( $\pm 3$  dana).

\*\*K - grupa bez dodatnih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

Svarljivost obroka je posmatrana, pre svega, preko svarljivosti SM i OM. U ogledu 1, svarljivost SM i OM je nešto manja kod taninskih u odnosu na kontrolnu grupu. U ogledu 2, svarljivost suve i organske materije, iako niža kod taninskih grupa, se nije statistički značajno razlikovala između grupa u sva tri perioda ispitivanja ( $p > 0,05$ ), što ukazuje na to da kestenovi tanini nisu značajno uticali na smanjenu svarljivost obroka (tabela 5.16). Prikazani rezultati su u saglasnosti sa Wang et al. (1994) i Sliwinski et al. (2002). Naime, Wang et al. (1994) su ispitivali svarljivost žutog zvezdana i lucerke *in vitro*, dok su Sliwinski et al. (2002) dodavali kestenove tanine u obroke jagjadi u količini od 1 g i 2 g preparata po kg SM obroka i nisu utvrdili razlike u prividnoj svarljivosti OM poređenjem sa kontrolnom grupom koja nije dobijala tanine. U istraživanju Hervas et al. (2004) ispitivan je uticaj kvebraho tanina u dozi od 0, 35 g i 70 g preparata/kg obroka i takođe nije utvrđena razlika u svarljivosti SM. Takođe, Orlandi et al. (2020)

su ispitivali mimozine tanine (20 g preparata/kg SM koncentrata) i nisu ustanovili razlike u svarljivosti OM.

Zimmer i Cordesse (1996), su, s druge strane, utvrdili smanjenje svarljivosti SM i OM kod koza i ovaca hranjenih senom tretiranog kestenovim taninima (80 g preparata/kg SM koji sadrži 80% tanina). Ipak, ova količina preparata je veća nego u našem istraživanju, što ukazuje da povećan sadržaj kestenovih tanina može uticati negativno na svarljivost obroka. Deaville et al. (2010) su ispitivali uticaj mimozinih i kestenovih tanina dodatih u silažu na svarljivost kod ovaca. Utvrđeno je da je dodavanje tanina smanjilo *in vivo* prividnu svarljivost SM, OM u poređenju sa kontrolom, a međusobnim poređenjem taninskih grupa, kesten je imao bolje parametre svarljivosti SM i OM. Gerlach et al. (2018) su ispitivali uticaj mimozinih tanina (0 %, 1%, 3% i 5% preparata u SM obroka) na svarljivost kod ovaca i utvrdili da je svarljivost OM bila nepromenjena kod 1%, ali se drastično smanjila kod 3% i 5%. Avilla et al. (2015) su utvrdili da su mimozini tanini u količini 15 g preparata/kg SM obroka, uticali na smanjenu svarljivost OM.

**Tabela 5.16: Oglad 2 - Uticaj kestenovih tanina na prividnu svarljivost (PS), po periodima**

Parametar*	Grupe / Tretmani**			Značajnost***
	KON	10T	20T	
<b>Period oglada od 14. do 19. dana****</b>				
PS SM, %	84,02 ± 2,91	83,87 ± 2,45	80,69 ± 6,23	NZ
PS OM, %	85,23 ± 2,74	85,41 ± 2,08	82,09 ± 5,89	NZ
PS SP, %	78,44 <sup>a</sup> ± 4,15	78,42 <sup>a</sup> ± 4,45	69,04 <sup>b</sup> ± 11,05	p < 0,05
PS SMa, %	83,53 <sup>A</sup> ± 2,58	89,15 <sup>B</sup> ± 0,95	90,44 <sup>B</sup> ± 3,11	p < 0,01
PS SC, %	69,54 ± 5,70	71,27 ± 4,15	69,73 ± 10,74	NZ
PS NDF, %	79,35 ± 3,94	80,12 ± 2,68	76,31 ± 7,97	NZ
PS ADF, %	72,17 ± 10,00	75,39 ± 3,94	69,72 ± 9,95	NZ
PS BEM, %	94,28 <sup>a</sup> ± 1,18	93,42 <sup>a,b</sup> ± 0,86	92,03 <sup>b</sup> ± 2,31	p < 0,05
PS NFC, %	96,15 ± 0,93	95,21 ± 0,87	94,85 ± 1,68	NZ
<b>Period oglada od 29. do 34. dana****</b>				
PS SM, %	73,97 ± 2,08	68,78 ± 6,72	71,81 ± 7,62	NZ
PS OM, %	75,77 ± 1,76	72,42 ± 6,11	74,95 ± 6,65	NZ
PS SP, %	70,79 ± 1,53	65,72 ± 7,80	63,20 ± 10,57	NZ
PS SMa, %	82,49 <sup>A</sup> ± 2,91	81,53 <sup>A</sup> ± 5,00	89,66 <sup>B</sup> ± 4,75	p < 0,01
PS SC, %	67,18 ± 4,57	64,78 ± 2,97	60,89 ± 4,26	NZ
PS NDF, %	67,09 ± 2,88	65,77 ± 7,94	69,00 ± 8,98	NZ
PS ADF, %	61,00 ± 3,64	54,69 ± 10,18	60,05 ± 11,67	NZ
PS BEM, %	89,80 <sup>a</sup> ± 1,37	84,85 <sup>b</sup> ± 3,78	86,75 <sup>a,b</sup> ± 3,91	p < 0,05
PS NFC, %	92,54 <sup>A,a</sup> ± 1,36	86,46 <sup>B</sup> ± 2,73	88,39 <sup>b</sup> ± 3,04	p < 0,05
<b>Period oglada od 44. do 49. dana****</b>				
PS SM, %	75,72 ± 4,34	75,07 ± 3,91	72,86 ± 6,61	NZ
PS OM, %	79,09 ± 3,99	78,36 ± 3,18	76,21 ± 5,75	NZ
PS SP, %	68,37 ± 6,63	66,23 ± 6,74	59,36 ± 9,16	NZ
PS SMa, %	71,10 <sup>A</sup> ± 6,60	77,89 <sup>B</sup> ± 3,63	79,93 <sup>B</sup> ± 3,39	p < 0,01
PS SC, %	71,70 ± 5,28	69,71 ± 4,29	68,00 ± 8,74	NZ
PS NDF, %	79,09 ± 4,03	78,97 ± 3,09	76,94 ± 6,27	NZ
PS ADF, %	74,67 ± 4,24	73,52 ± 4,04	68,82 ± 7,17	NZ
PS BEM, %	88,23 ± 2,26	88,39 ± 1,89	87,01 ± 3,31	NZ
PS NFC, %	87,01 ± 2,71	85,31 ± 3,12	84,68 ± 3,21	NZ

\*PS - prividna svarljivost; SM - suva materija; OM - organska materija; SP - sirovi protein; SMa - sirove masti; SC - sirova celuloza; NDF - vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu; ADF - vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu; BEM - bezazotne ekstraktivne materije; NFC - nestrukturni ugljeni hidrati.

\*\*KON - kontrolna grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>ab</sup>  $\alpha = 5\%$ ; <sup>AB</sup>  $\alpha = 1\%$ ); NZ - nema značajnosti

\*\*\*\*Period oglada od 14. do 19. dana odgovara starosti grla od 79. do 84. dana ( $\pm 5$  dana); period oglada od 29. do 34. dana odgovara starosti grla od 94. do 99. dana ( $\pm 5$  dana); period od 44. do 49. dana odgovara starosti grla od 109. do 114. dana ( $\pm 5$  dana).



Prividna svarljivost SP je u sva tri posmatrana perioda u ogledu 2 bila niža kod taninskih grupa nego kontrolne, ali je značajnost utvrđena jedino kod 20T grupe i to samo u prvom periodu, dok je u ogledu 1 takođe primećen ovaj trend, ali usled grupnog određivanja svarljivosti, nije bilo ponavljanja, te statistička analiza nije mogla da se obavi. Ovi rezultati su u saglasnosti sa istraživanjem Wischer et al. (2014), gde je korišćeno 0, 43,5 i 83,4 g kestenovog preparata/kg obroka. U navedenom istraživanju je utvrđeno da kestenovi tanini mogu da utiču na značajno smanjenje svarljivosti SP. Poređenjem efekata tanina iz dva izvora, Deaville et al. (2010) su utvrdili da je gubitak azota preko fecesa niži kod kestenovih nego mimozinih tanina, što znači da su veće retencije azota primećene korišćenjem kestenovih tanina. Do sličnih rezultata su došli i Avilla et al. (2015), koji su utvrdili da su mimozini tanini u količini 15 g preparata/kg SM obroka, uticali na smanjenu svarljivost SP kod junadi. U istraživanju Hervas et al. (2004) ispitivan je uticaj kvebraho tanina u dozi od 0, 35 g i 70 g preparata/kg obroka. Svarljivost SP je značajno smanjena poređenjem sa kontrolom. Ipak, primećena je povećana ekskrecija azota što je, po mišljenju autora, najverovatnije posledica veće sekrecije endogenih proteina (iz pljuvačke, digestivnih enzima, mukoze ili mukoznih ćelija). Wang et al. (1994) su ispitivali *in vitro* svarljivost žutog zvezdana i lucerke i utvrdili da je svarljivost azota bila niža kod zvezdana, koji predstavlja leguminoznu biljnu vrstu bogatu taninima.

Smanjenje svarljivosti je direktna posledica povećanja SP u fecesu. Ovo je u saglasnosti sa Zhao et al. (2019). Takođe, ovo su utvrdili i Stienzen et al. (1995), koji su ispitivali promene u svarljivosti dodavanjem tanina iz sule i poništavanjem njihovih uticaja dodavanjem PEG. Navedeni autori su utvrdili da je svarljivost azota (i SM) poboljšana kod PEG grupe, uz istovremeno povećanje amonijaka u buragu, te je posledično sadržaj azota u fecesu bio veći kod taninske grupe. Veći sadržaj proteina u fecesu se može objasniti smanjenim iskorišćavanjem proteina (Burggraaf i Snow, 2011) ili povećanim dotokom azota u tanka creva (Perez-Maldonado i Norton, 1996), te zapravo njegovo povećanje u fecesu ne mora nužno da predstavlja negativnu pojavu i njegovu zaista smanjenu iskoristivost. Povećan sadržaj SP u fecesu može ukazivati da su životinje taninskih grupa usvojile veću količinu SP. U prilog ovome govori činjenica da su, posmatrajući ceo period trajanja ogleda (od 1. do 60. dana), životinje koje su dobijale najveću količinu tanina u obroke ostvarile najveće priraste, o čemu je bilo reči u prethodnom potpoglavlju 5.4. *Prosečni dnevni i ukupni prirasti.*

S druge strane, Sliwinski et al. (2002) su dodavali kestenove tanine u obroke jagnjadi (količina od 1 g i 2 g preparata/ kg SM obroka) i nisu utvrdili razlike u prividnoj svarljivosti SP. Takođe, Orlandi et al. (2020) su ispitivali mimozine tanine (20 g preparata/kg SM koncentrata) i nisu ustanovili razlike u svarljivosti SP, odnosno azotnih jedinjenja, poređenjem sa kontrolom. Konzumiranje prevelikih količina azotnih jedinjenja razgradivih u buragu utiče na povećanje gubitaka azota preko urina, što može imati negativan uticaj na okolinu, smanjenje korišćenja azota iz hrane i može ograničiti dotok mikrobijalnog proteina i performanse kod visokoproduktivnih preživara (Avila et al., 2015).

Varenje hrane bogate azotom je, dakle, kod preživara relativno neefikasno i može da dođe do velikih gubitaka preko ekskrecije urina sa negativnim uticajem ne samo na produktivnost, već i na okolinu (Niderkorn et al., 2012). Glavni efekat dodavanja tanina u ishranu preživara je u pogledu smanjenja razgradnje proteina, koja se u buragu smanjuje ili usporava zbog stvaranja kompleksa sa taninima i, posledično, dolazi do povećanja dotoka aminokiselina u tanka creva, uz prethodnu disocijaciju ovih kompleksa u sirištu i duodenumu (Mueller-Harvey, 2006; Niderkon et al, 2012; Naumann et al., 2017; de S. Costa et al., 2020). Tako na primer, Griffiths et al. (2013) su, prilikom oralnog davanja 185 g/dan preparata mimozinih tanina (sadržaj CT 601 g/kg) ustanovili smanjenje gubitaka azota preko urina bez uticaja na proizvodnju mleka kod krava koje su pasle ljulj. Funkcija tanina nije do kraja objašnjena, ali se pretpostavlja da tanini, pored stvaranja kompleksa sa proteinima, smanjuju sposobnost endogenih enzima da razdvoje proteine na peptide i aminokiseline i da sprečavaju njihovu apsorpciju (Gerlach et al. 2018).

Na osnovu prikazanih rezultata da su kestenovi tanini, najverovatnije uticali na povećanje MP, dok su, s druge strane izgleda smanjili prividnu svarljivost SP. Naizgled, to su oprečni

zaključci. Međutim, putevi razgradnje, kao i forma u kojoj se azot nalazi u fecesu nisu ispitivani. Kao posledica razgradnje u buragu nastaje amonijak, koji se usvaja i izlučuje putem krvi preko urina u vidu uree i drugih azotnih jedinjenja. Zbog toga, ukoliko postoji velika razgradnja SP u buragu, prividna svarljivost će biti visoka, ali će biti praćena povećanjem uree u krvi ili u urinu. Međutim, očekivano je da su tanini smanjili obim razgradnje u buragu, čime je znatno povećana količina proteina koja dospeva u tanka creva, a time i količina proteina koji završava u fecesu.

Ukoliko se posmatra PS SMA, ona je bila veća kod taninskih grupa (prvenstveno 20T grupe) nego kod kontrole. Ovi efekti su slični onima objavljenim u istraživanju Wischer et al. (2014), gde su ovi efekti primećeni samo kod grupa hranjenih najvećim količinama kestenovih tanina. Kod Mezzomo et al. (2016) svarljivost SMA je takođe bila značajno veća kod grupe sa najvećim udelom tanina. Ovo poboljšanje svarljivosti masti je najverovatnije posledica promena u sastavu masnih kiselina usled promena u buražnoj biohidrogenaciji uticajem tanina. Naime, tanini su bioaktivne materije, i kao takve mogu da modifikuju procese fermentacije i biohidrogenacije, što dalje može dovesti do promena u metabolizmu masnih kiselina (Sarnataro i Spanghero, 2020). Tako, dodavanjem HT u obroke ovaca, Carreno et al. (2015) i Majewska et al. (2022) su utvrdili povećanje polinezasićenih masnih kiselina (PUFA), pre svega linolne i  $\alpha$ -linolenske kiseline u buražnoj tečnosti, a posledično ove promene mogu da utiču na povećanje svarljivost masti u donjim partijama digestivnog trakta (Patra i Saxena, 2011).

Iako je svarljivost vlakana opadala sa povećanjem količine kestenovih tanina u obrocima, razlike nisu bile značajne ( $p > 0,05$ ). Navedeni rezultati su u saglasnosti sa Wischer et al. (2014) i Sliwinski et al. (2002), koji su utvrdili da kestenovi tanini ne utiču na svarljivost SC, NDF i ADF, budući da poređenjem sa kontrolnom grupom nisu ustanovljene statistički značajne razlike. Takođe, u istraživanju Hervas et al. (2004), gde je ispitivan uticaj kvebraho tanina (sadržaj 0, 35 g i 70 g preparata/kg obroka), nije utvrđena razlika u svarljivosti NDF i ADF.

Nasuprot, Zimmer i Cordesse (1996) dodavanjem kestenovih tanina kod koza su primetili smanjenje svarljivosti NDF i ADF poređenjem sa kontrolom. Dodavanje kestenovih i mimozinih tanina je smanjilo *in vivo* prividnu svarljivost NDF u poređenju sa kontrolom, dok je poređenjem taninskih grupa, kesten je imao bolje parametre svarljivosti NDF u istraživanju Deaville et al. (2010). Ispitivanjem različitih nivoa mimozinih tanina (0, 20 g, 40 g, 60 g preparata/ kg SM obroka) na svarljivost kod ovaca, de S. Costa et al. (2020) su utvrdili da je svarljivost NDF opadala linearno sa porastom tanina. Barry et al. (1984) su utvrdili da je prividna svarljivost celuloze i hemiceluloze niža kod jagnjadi hranjenih obrocima sa visokim udelom tanina u žutom zvezdanu, nego onih sa niskim udelom. Tanini mogu da izazovu redukciju (čak i inhibiciju) mikrobijalne degradacije ćelijskog zida u buragu. Inhibicija može biti usled direktnih efekata na mikroorganizme i njihove enzime, ili stvaranjem kompleksa sa komponentama ćelijskog zida (Sliwinski et al. 2002; Deaville et al., 2010), čime se smanjuje razgradnja vlakana i njihova svarljivost. Kako de S. Costa et al. (2020) navode, redukcija svarljivosti NDF može biti posledica smanjenja populacije celulolitičkih bakterija, jer metabolizam gram pozitivnih bakterija može biti oslabljen delovanjem tanina usled inhibicije osnovnih procesa mikrobijalnih ćelija, kao što su oksidativna fosforilacija i različiti procesi transporta. Nedoslednost u rezultatima i zaključcima koji ih prate, navedenim u literaturi, se donekle mogu pripisati različitim izvorima tanina, koji se veoma razlikuju u svojoj sposobnosti da vežu ugljene hidrate, ali i da utiču na mikrofloru buraga. Stoga, neophodno je obaviti više istraživanja, koji će detaljnije ispitivati uticaj tanina na svarljivost vlakana.

Svarljivost BEM je u prva dva posmatrana perioda, kao i NFC u drugom periodu, bila značajno veća kod kontrole ( $p < 0,05$ ). S druge strane, u trećem posmatranom periodu razlike nisu bile značajne ( $p > 0,05$ ). Ovo se pre svega objašnjava time da tanini mogu uticati na inhibiranje aktivnosti određenih mikrobijalnih enzima koji učestvuju u razgradnji nestrukturanih ugljenih hidrata, što može uticati na njihovu smanjenju svarljivost. Tanini mogu inhibirati aktivnost amilaze (Horigome et al., 1988), enzima koji je odgovoran za razgradnju skroba, a ova inhibicija može smanjiti razgradnju skroba u jednostavnije šećere (amilozu i amilopektin) u buragu, što doprinosi njegovoj smanjenoj svarljivosti. Tanini takođe mogu uticati na aktivnost enzima koji utiču na metabolizam šećera, te potencijalno mogu redukovati njihovu svarljivost.

## 5.6. METABOLIČKI PROFIL KRVI

Uticaj kestenovih tanina na promene u organizmu jagnjadi ispraćen je i određivanjem metaboličkog profila na početku i kraju oglada, kako je i prikazano u tabeli 5.17, a biohemijski parametri koji su posmatrani su: koncentracija ukupnih proteina, albumina, globulina, uree, kreatinina, glukoze, bilirubina, AST, GGT, CK, holesterola, triglicerida, kalcijuma, fosfora i magnezijuma.

Poređenjem parametara metaboličkog profila na početku oglada između grupa, utvrđeno je da određene razlike postoje, ali da nisu statistički značajne ( $p > 0,05$ ). Pre početka oglada, sva jagnjad su gajena na sličan način. Naime, ona su držana grupno, u velikim grupama, sa dodatkom koncentrovane smeše istog sastava i lucerkinog sena, uz ograničenje vremena koje provode sa majkama. Kombinacijom više parametara, koji su bili povišeni u odnosu na referentne vrednosti, potvrđeno je da je prilikom formiranja grupa došlo do pojave stresa, kao i da je obezbeđenost vode jagnjadi bilo na suboptimalnom nivou, pre svega zbog nedovoljne adaptiranosti na upotrebu pojilica. Referentne vrednosti su definisane na osnovu Baumgartner i Wittek (2017), a rezultati metaboličkog profila krvi na početku oglada prikazuju određena odstupanja od njih za određene parametre.

Navedeni rezultati metaboličkog profila krvi na kraju oglada pružaju dublji uvid u potencijalne efekte primene kestenovih tanina u ishrani jagnjadi. Uobičajena praksa u istraživanju uticaja dodatka ishrani jeste analiza promena u metaboličkom profilu krvi, jer ona može otkriti eventualne promene u funkciji organa, metabolizmu hranjivih materija i opštem zdravstvenom stanju životinja. Uočeno je da su odstupanja od referentnih vrednosti u metaboličkom profilu prisutna, ali upoređivanje parametara metaboličkog profila između različitih grupa jagnjadi tokom eksperimenta nije pokazalo statistički značajne razlike ( $p > 0,05$ ). Ova činjenica naglašava da nema osnova za tvrdnje da su kestenovi tanini u količini od 9,46 g preparata/kg SM obroka, odnosno 18,87 g preparata/kg SM obroka (T1 i T2) imali negativan uticaj na zdravstveno stanje jagnjadi ili njihovu dobrobit.

Ovakvi rezultati podržavaju polaznu hipotezu istraživanja, a to je da korišćenje kestenovih tanina ne narušava dobrobit jagnjadi. Važno je napomenuti da slični zaključci dolaze i od strane drugih istraživača (Buccioni et al. 2017b; Frutos et al., 2004b; Zimmer i Cordesse, 1996; de S. Costa et al., 2020; Min et al., 2019), što dodatno jača utemeljenost zaključaka. Ova konzistentnost u rezultatima iz različitih izvora dodatno jača validnost ovog istraživanja. Ovi nalazi doprinose boljem razumevanju mehanizama dejstva kestenovih tanina u organizmu jagnjadi i otvaraju vrata za dalja istraživanja. Moguće je da bi detaljnija analiza tkiva i organa, kao i praćenje dugoročnih efekata ishrane kestenovim taninima, mogla pružiti dodatne informacije o njihovim efektima na zdravlje i dobrobit jagnjadi.

U zaključku, ovaj ogled naglašava potencijalnu korist primene kestenovih tanina u ishrani jagnjadi, s obzirom na to da se nije primetilo narušavanje zdravlja niti dobrobiti životinja. Ipak, dalja istraživanja su potrebna kako bi se dublje razumeli mehanizmi dejstva tanina poreklom iz kestena i kako bi se osigurala njihova optimalna primena u ishrani domaćih životinja.

Tabela 5.17 : Metabolički profil krvi jagnjadi ( $\pm$  SD)

Par.* Grupa**	Prot. g/l	Alb. g/l	Glob. g/l	Urea mmol/l	Kreat. $\mu$ mol/l	Gluk. mmol/l	Bilir. $\mu$ mol/l	AST IU/l	GGT IU/l	CK mmol/l	Hol. mmol/l	Trig. mmol/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l
<b>Ref. vred.***</b>	59,00 - 78,00	27,00 - 37,00	32,00 - 50	3,70 - 9,30	75,80 - 174,30	2,40 - 4,5	0,70 - 8,60	49,00- 123,30	19,60- 44,10	7,70- 101,00	1,10 - 2,30	0,20 - 0,30	2,30 - 2,90	1,30 - 2,40	0,80 - 1,10
<b>Početak ogleđa, starost grla 68 dana (<math>\pm</math> 3 dana)</b>															
<b>K</b>	58,13 $\pm$ 3,12	31,54 $\pm$ 0,97	26,59 $\pm$ 2,84	10,88 $\pm$ 1,41	77,72 $\pm$ 5,53	4,18 $\pm$ 0,86	1,87 $\pm$ 0,59	110,4 $\pm$ 19,4	59,56 $\pm$ 23,21	900,75 $\pm$ 275,53	1,30 $\pm$ 0,24	0,27 $\pm$ 0,08	2,48 $\pm$ 0,12	2,78 $\pm$ 0,5	1,14 $\pm$ 0,11
<b>T1</b>	58,05 $\pm$ 2,38	32,07 $\pm$ 1,28	25,98 $\pm$ 2,96	10,01 $\pm$ 1,97	74,70 $\pm$ 7,46	3,96 $\pm$ 0,45	1,97 $\pm$ 1,15	139,23 $\pm$ 48,32	60,11 $\pm$ 19,52	892,3 $\pm$ 288,23	1,51 $\pm$ 0,39	0,34 $\pm$ 0,08	2,46 $\pm$ 0,24	3,00 $\pm$ 0,38	1,14 $\pm$ 0,14
<b>T2</b>	57,59 $\pm$ 5,07	32,88 $\pm$ 3,02	24,71 $\pm$ 2,95	10,37 $\pm$ 1,34	74,06 $\pm$ 8,61	4,21 $\pm$ 0,27	1,87 $\pm$ 0,87	108,26 $\pm$ 12,33	61,41 $\pm$ 21,74	466,87 $\pm$ 203,84	1,43 $\pm$ 0,47	0,30 $\pm$ 0,14	2,54 $\pm$ 0,20	3,22 $\pm$ 0,55	1,19 $\pm$ 0,11
<b>Kraj ogleđa, starost grla 118 dana (<math>\pm</math> 3 dana)</b>															
<b>K</b>	62,61 $\pm$ 1,99	30,54 $\pm$ 1,99	32,07 $\pm$ 2,50	7,64 $\pm$ 0,61	69,09 $\pm$ 5,48	4,68 $\pm$ 1,18	2,54 $\pm$ 0,27	126,89 $\pm$ 38,37	64,13 $\pm$ 7,68	460,39 $\pm$ 282,44	1,25 $\pm$ 0,35	0,29 $\pm$ 0,12	2,48 $\pm$ 0,09	2,88 $\pm$ 0,39	0,96 $\pm$ 0,07
<b>T1</b>	62,33 $\pm$ 2,79	31,74 $\pm$ 1,09	30,59 $\pm$ 2,65	6,92 $\pm$ 1,06	66,06 $\pm$ 7,03	4,19 $\pm$ 0,85	2,52 $\pm$ 0,64	162,80 $\pm$ 88,10	72,12 $\pm$ 10,64	308,67 $\pm$ 139,19	1,34 $\pm$ 0,14	0,28 $\pm$ 0,09	2,58 $\pm$ 0,08	2,98 $\pm$ 0,33	0,95 $\pm$ 0,07
<b>T2</b>	62,68 $\pm$ 3,44	31,67 $\pm$ 1,35	31,01 $\pm$ 2,46	7,41 $\pm$ 0,81	65,41 $\pm$ 4,23	4,06 $\pm$ 0,35	2,49 $\pm$ 0,32	140,06 $\pm$ 18,96	67,80 $\pm$ 11,03	381,51 $\pm$ 255,69	1,34 $\pm$ 0,23	0,34 $\pm$ 0,13	2,56 $\pm$ 0,14	2,96 $\pm$ 0,30	1,00 $\pm$ 0,07

\*Par. - parametar; Prot. – ukupni proteini; Alb. – albumin; Glob. – globulini; Kreat. – kreatinin; Gluk. – glukoza; Bilir. – bilirubini; AST – aspartat aminotransferaza; GGT – gama-glutamil transferaza; CK – kreatin kinaza; Hol. – holesterol; Trig. – trigliceridi; Ca – kalcijum; P – fosfati; Mg - magnezijum

\*\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*Ref. vred. - Referentne vrednosti.

## 5.7. PRINOS I KVALITET MESA

Po završetku hranidbenog dela, zaklana su sva jagnjad iz oba ogleda. Klanje je otpočelo pet dana nakon završetka hranidbenog dela ogleda i u ogledu 1 je izvršeno u tri, dok je u ogledu 2 izvršeno u pet uzastopnih dana.

Uticao kestenovih tanina na odabrane klanične parametre i iznutrice jagnjadi, prikazan je u tabelama 5.18 (ogled 1) i 5.19 (ogled 2). Telesna masa životinja pred klanje, kao ni mase hladnog trupa nisu značajno ( $p > 0,05$ ) varirale između grupa u oba ogleda. Izneti rezultati su u saglasnosti sa Liu et al. (2016), koji nisu utvrdili značajne razlike u masi pred klanje, kao ni u masama toplog trupa između kontrolnih i taninskih grupa. Slično, Frutos et al. (2004b) nisu ustanovili razlike u masi hladnog trupa između jagnjadi koja su dobijala kestenove tanine (20,8 g preparata po kg SM obroka) i kontrole u intenzivnom tovu. Ispitivanjem BYPRO preparata u ishrani jagnjadi u količini od 0, 2, 4 i 6 g preparata/kg SM, takođe nisu utvrđene značajne razlike u klaničnim parametrima (Rojas-Roman et al., 2017).

Uticaji tanina iz obroka na unutrašnje organe ovaca nisu dovoljno istraženi, te su informacije oskudne. Poređenjem mase unutrašnjih organa se može donekle utvrditi uticaj tanina. Masa punih organa za varenje, kao i masa njihovog sadržaja, u ogledu 1 se povećavala sa količinom tanina u obroku, dok ovaj trend nije primećen u ogledu 2. Naime, iako se sadržaj organa za varenje i u ovom ogledu povećavao sa udelom kestenovih tanina u obroku, razlike nisu bile statistički značajne ( $p > 0,05$ ). Poredeći razlike, značajnost je utvrđena samo između K i T2 ( $p < 0,05$ ), a isti trend je primetan i kod mase njihovog sadržaja. S druge strane, poredeći masu praznih organa za varenje, značajnost razlika je utvrđena jedino u ogledu 2. kod ženskih grla ( $p < 0,05$ ). Ovo ukazuje da je zapravo razlika kod muških grla u oba ogleda bila u količini sadržaja unutar organa za varenje, čime se posledično povećavala i ukupna masa punih organa. Do sličnih zaključaka su došli i Krueger et al. (2010) koji su utvrdili da je najveća količina sadržaja utvrđena kod junadi koja su dobijala kestenove tanine. Usled reagovanja sa proteinima, vlaknima i drugim molekulima, ali i usled smanjenja mikrobijalne aktivnosti, može doći do taloženja ovih kompleksa i sporijeg protoka kroz burag, čime se povećava njena masa.

**Tabela 5.18: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na izabrane klanične parametre i iznutrice jagnjadi u odnosu na masu pred klanje ( $\pm$  SD)**

Parametar*	Grupa**			Značajnost***
	K	T1	T2	
Masa pred klanje, kg	35,06 $\pm$ 2,80	35,30 $\pm$ 3,55	36,65 $\pm$ 2,38	NZ
Masa hladnog trupa, kg	17,95 $\pm$ 1,71	18,63 $\pm$ 2,44	19,21 $\pm$ 1,24	NZ
Organi za varenje, puni, %	26,48 $\pm$ 3,28	26,59 $\pm$ 2,37	27,33 $\pm$ 1,12	NZ
Organi za varenje, prazni, %	8,97 $\pm$ 0,71	8,55 $\pm$ 0,62	8,50 $\pm$ 0,57	NZ
Sadržaj organa za varenje, %	17,51 $\pm$ 2,8	18,03 $\pm$ 2,06	18,83 $\pm$ 1,32	NZ
Burag i mrežavac, %	2,17 $\pm$ 0,2	2,17 $\pm$ 0,22	2,16 $\pm$ 0,28	NZ
Listavac, %	0,28 <sup>A</sup> $\pm$ 0,04	0,24 <sup>B</sup> $\pm$ 0,03	0,26 <sup>A,B</sup> $\pm$ 0,02	$p < 0,01$
Sirište, %	0,42 $\pm$ 0,06	0,41 $\pm$ 0,05	0,42 $\pm$ 0,07	NZ
Tanka creva, %	2,69 <sup>a</sup> $\pm$ 0,45	2,40 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0,36	2,31 <sup>b</sup> $\pm$ 0,26	$p < 0,05$

\*% - vrednost iskazana kroz procentualni udeo u odnosu na masu pred klanje

\*\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>a,b</sup>  $\alpha = 5\%$ ; <sup>A,B</sup>  $\alpha = 1\%$ ); NZ - nema značajnosti

Poredeći pojedinačno organe, zajedničke razlike između grupa u oba ogleda su utvrđene jedino u zastupljenosti tankih creva kod muških grla. Usled mogućnosti tanina da stvaraju komplekse sa proteinima i drugim organskim jedinjenjima, kao i da utiču na mikrofloru, može doći do promene procesa fermentacije i smanjene degradacije proteina u buragu, ali i u postburažnim partijama. Takođe, tanini mogu uticati na promene u strukturi i funkciji sluznice creva, pre svega u morfologiji resica, što može uticati na smanjenu veličinu i masu tankih creva (Hervas et al., 2003b).

**Tabela 5.19: Ogled 2 - Uticaj kestenovih tanina na izabrane klanične parametre i iznutrice jagnjadi u odnosu na masu pred klanje ( $\pm$  SD)**

Parametar*	Grupa**			Značajnost***
	KON	10T	20T	
<b>MUŠKI POL</b>				
Masa pred klanje, kg	35,10 $\pm$ 3,44	34,80 $\pm$ 2,71	36,00 $\pm$ 3,14	NZ
Masa hladnog trupa, kg	18,88 $\pm$ 1,64	18,99 $\pm$ 1,80	19,81 $\pm$ 1,78	NZ
Organi za varenje, puni, %	25,04 $\pm$ 1,96	23,55 $\pm$ 1,15	24,34 $\pm$ 1,44	NZ
Organi za varenje, prazni, %	7,88 $\pm$ 0,36	7,36 $\pm$ 0,92	7,51 $\pm$ 0,42	NZ
Sadržaj organa za varenje, %	17,16 $\pm$ 2,02	16,19 $\pm$ 0,73	16,83 $\pm$ 1,73	NZ
Burag i mrežavac, %	1,95 $\pm$ 0,17	2,03 $\pm$ 0,19	2,07 $\pm$ 0,06	NZ
Listavac, %	0,26 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,04	0,29 $\pm$ 0,03	NZ
Sirište, %	0,39 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,05	NZ
Tanka creva, %	2,76 <sup>a</sup> $\pm$ 0,17	2,36 <sup>b</sup> $\pm$ 0,36	2,44 <sup>b</sup> $\pm$ 0,18	p < 0,05
<b>ŽENSKI POL</b>				
Masa pred klanje, kg	33,25 $\pm$ 4,86	36,00 $\pm$ 7,36	36,40 $\pm$ 3,01	NZ
Masa hladnog trupa, kg	17,83 $\pm$ 2,21	19,57 $\pm$ 1,82	19,85 $\pm$ 1,44	NZ
Organi za varenje, puni, %	23,67 $\pm$ 1,99	22,94 $\pm$ 4,98	23,91 $\pm$ 2,58	NZ
Organi za varenje, prazni, %	8,42 <sup>a</sup> $\pm$ 0,60	6,64 <sup>b</sup> $\pm$ 1,09	6,52 <sup>b</sup> $\pm$ 1,28	p < 0,05
Sadržaj organa za varenje, %	15,25 $\pm$ 2,05	16,30 $\pm$ 5,66	17,39 $\pm$ 3,59	NZ
Burag i mrežavac, %	2,03 $\pm$ 0,19	1,98 $\pm$ 0,17	1,96 $\pm$ 0,15	NZ
Listavac, %	0,30 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,07	NZ
Sirište, %	0,46 <sup>a,A</sup> $\pm$ 0,02	0,38 <sup>b</sup> $\pm$ 0,06	0,35 <sup>B</sup> $\pm$ 0,05	p < 0,05
Tanka creva, %	2,48 $\pm$ 0,29	2,18 $\pm$ 0,45	2,00 $\pm$ 0,24	NZ

\*% - vrednost iskazana kroz procentualni udeo u odnosu na masu pred klanje

\*\*KON - grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, <sup>a,b</sup>  $\alpha$  = 5%; <sup>A,B</sup>  $\alpha$  = 1%); NZ - nema značajnosti

Uticaj kestenovih tanina na prosečni hemijski sastav jagnječeg mesa, koji podrazumeva udeo vode, masti, pepela i proteina u mesu je prikazan u tabeli 5.20 (ogled 1), odnosno tabeli 5.21 (ogled 2). Hemijski sastav nije značajno varirao među grupama istog pola u oba ogleda (p > 0,05). Do sličnih zaključaka su došli i Frutos et al. (2004b) i Rojas-Roman et al. (2017). Pored ovih, i ispitivanjem uticaja dodatih tanina iz sena mimoze nisu utvrđene statistički značajne razlike u hemijskom sastavu mesa jagnjadi (Fernandes et al., 2021). Takođe, ispitivanjem efekata tanina iz komine grožđa na promene hemijskog sastava trupa junadi nisu utvrđene statistički značajne razlike (Tayengwa et al., 2020).

**Tabela 5.20: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na prosečni hemijski sastav i tehnološke osobine jagnječeg mesa ( $\pm$ SD)**

Parametar	Grupa*			Značajnost**
	K	T1	T2	
<b>Hemijski sastav mesa</b>				
Voda, %	76,62 $\pm$ 1,21	76,41 $\pm$ 0,47	76,61 $\pm$ 0,90	NZ
Mast, %	1,60 $\pm$ 0,42	1,79 $\pm$ 0,51	1,61 $\pm$ 0,23	NZ
Pepeo, %	1,05 $\pm$ 0,03	1,05 $\pm$ 0,03	1,05 $\pm$ 0,06	NZ
Proteini, %	20,73 $\pm$ 0,88	20,75 $\pm$ 0,40	20,73 $\pm$ 1,17	NZ

\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test,  $\alpha = 5\%$ ); NZ - nema značajnosti

**Tabela 5.21: Ogled 2 - Uticaj kestenovih tanina na prosečni hemijski sastav i tehnološke osobine jagnječeg mesa ( $\pm$ SD)**

Parametar	Grupa*			Značajnost**
	KON	10T	20T	
<b>Muška grla</b>				
Voda, %	77,55 $\pm$ 0,17	76,61 $\pm$ 1,00	76,56 $\pm$ 0,77	NZ
Mast, %	1,22 $\pm$ 0,10	1,62 $\pm$ 0,63	1,70 $\pm$ 0,55	NZ
Pepeo, %	1,03 $\pm$ 0,02	1,04 $\pm$ 0,03	1,04 $\pm$ 0,02	NZ
Proteini, %	20,51 $\pm$ 0,28	20,52 $\pm$ 0,46	21,18 $\pm$ 0,77	NZ
<b>Ženska grla</b>				
Voda, %	76,42 $\pm$ 0,24	76,75 $\pm$ 0,63	76,32 $\pm$ 0,64	NZ
Mast, %	1,26 $\pm$ 0,24	1,56 $\pm$ 0,58	1,69 $\pm$ 0,52	NZ
Pepeo, %	1,04 $\pm$ 0,01	1,08 $\pm$ 0,04	1,02 $\pm$ 0,04	NZ
Proteini, %	20,99 $\pm$ 0,33	20,40 $\pm$ 0,47	20,48 $\pm$ 0,38	NZ

\*KON - grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

\*\*Proseci sa različitim slovom u istom redu se statistički značajno razlikuju (LSD-test, a,b  $\alpha = 5\%$ ); NZ - nema značajnosti

Jagnjeće meso, u pogledu sadržaja proteina, masti i vitamina predstavlja značajnu namirnicu u ljudskoj ishrani, na čiji sadržaj masti i masnokiselinski profil utiče mnogo faktora, kao što su genotip, starost, pol i način gajenja, ali najdominantniji faktor je ishrana (Ružić-Muslić et al., 2020; Vasta et al., 2010b), budući da u velikoj meri reflektuju masnokiselinski sastav obroka. Međutim, pored samog sadržaja u obroku, usled buražne fermentacije može doći do promena u sintezi masnih kiselina koje utiču na kvalitet mesa. Tanini se u literaturi navode kao potencijalni modifikatori buražne biohidrogenizacije, te je njihov uticaj na ove osobine ispitivan i u okviru ovog istraživanja.

**Tabela 5.22: Ogled 1 - Efekat dodavanja kestenovih tanina na zbirni sadržaj masnih kiselina ( $\pm$ SD)**

Parametar*	Grupa**			Značajnost***
	K	T1	T2	
SFA <sup>1</sup>	48,18 $\pm$ 8,06	50,62 $\pm$ 4,55	47,79 $\pm$ 3,67	NZ
MUFA <sup>2</sup>	39,14 $\pm$ 5,23	36,28 $\pm$ 2,06	39,78 $\pm$ 2,54	NZ
PUFA <sup>3</sup>	12,68 $\pm$ 3,54	13,10 $\pm$ 3,91	12,43 $\pm$ 3,58	NZ
n-3 <sup>4</sup>	0,92 $\pm$ 0,45	1,17 $\pm$ 0,72	0,74 $\pm$ 0,53	NZ
n-6 <sup>5</sup>	11,77 $\pm$ 3,28	11,92 $\pm$ 3,29	11,56 $\pm$ 3,82	NZ

\*Sadržaj masnih kiselina prikazan kao % udeo u ukupnim masnim kiselinama

\*K - grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 9,46 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*NZ - nema značajnosti

<sup>1</sup>SFA - Zasićene masne kiseline; <sup>2</sup>MUFA - Mononezasićene masne kiseline; <sup>3</sup>PUFA - Polinezasićene masne kiseline; <sup>4</sup>n-3 - Omega-3 masne kiseline; <sup>5</sup>n-6 - Omega-šest masne kiseline; <sup>n</sup>n-3/n-6 - odnos Omega-3 i Omega-6 masnih kiselina.

**Tabela 5.23: Ogljed 2 - Efekat dodavanja kestenovih tanina na zbirni sadržaj masnih kiselina**

Parametar*	Grupe**			Značajnost***
	KON	10T	20T	
<b>Muška grla</b>				
SFA <sup>1</sup>	48,66 ± 5,75	52,39 ± 6,58	49,16 ± 0,95	NZ
MUFA <sup>2</sup>	38,95 ± 6,03	36,03 ± 3,63	38,59 ± 1,78	NZ
PUFA <sup>3</sup>	13,34 ± 3,29	11,58 ± 5,56	12,25 ± 2,65	NZ
n-3 <sup>4</sup>	1,15 ± 0,06	1,81 ± 1,35	0,75 ± 0,39	NZ
n-6 <sup>5</sup>	12,18 ± 3,28	9,70 ± 3,20	11,40 ± 2,51	NZ
<b>Ženska grla</b>				
SFA <sup>1</sup>	56,21 ± 6,09	50,40 ± 3,66	55,26 ± 4,35	NZ
MUFA <sup>2</sup>	34,27 ± 5,71	37,54 ± 2,93	34,91 ± 5,73	NZ
PUFA <sup>3</sup>	8,57 ± 0,40	12,06 ± 3,27	9,82 ± 1,38	NZ
n-3 <sup>4</sup>	0,80 ± 0,13	1,86 ± 1,44	1,36 ± 0,73	NZ
n-6 <sup>5</sup>	7,78 ± 0,33	9,76 ± 1,20	8,46 ± 1,02	NZ

\*Sadržaj masnih kiselina prikazan kao % udeo u ukupnim masnim kiselinama

\*\*KON - grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

\*\*\*NZ - nema značajnosti

<sup>1</sup>SFA - Zasićene masne kiseline; <sup>2</sup>MUFA - Mononezasićene masne kiseline; <sup>3</sup>PUFA - Polinezasićene masne kiseline; <sup>4</sup>n-3 - Omega-tri masne kiseline; <sup>5</sup>n-6 - Omega-šest masne kiseline; <sup>6</sup>n-3/n-6 - odnos Omega-3 i Omega-6 masnih kiselina

U tabelama 5.22 i 5.23 je prikazan efekat dodavanja kestenovih tanina u obroke jagnjadi na masnokiselinski profil mesa, odnosno na zbirni sadržaj masnih kiselina. U pogledu ukupnog sadržaja SFA, MUFA i PUFA, vrednosti u oba ogleđa ne variraju značajno među grupama ( $p > 0,05$ ). Navedeni rezultati ukazuju da dodavanje kestenovih tanina nije uticalo na promenu masnokiselinskog sastava mesa jagnjadi, što je u saglasnosti sa Valenti et al. (2018). U literaturi, ipak, postoje suprotne informacije o sposobnosti tanina da utiču na promene masnokiselinskog profila mesa.

Na efekat tanina mogu uticati inherentni faktori vezani za osnovni obrok, kao što su odnos kabastog i koncentrovanog dela, kao i nivo i sastav masti u obroku (Jeronimo et al., 2016). Tako recimo, po tvrdnji istih autora, dodavanjem ulja u obroke na bazi koncentrata može da se poboljšaju efekti tanina na buražnu biohidrogenizaciju nezasićenih masnih kiselina, zbog većeg prisustva supstrata. Činjenica da u našem istraživanju (kao i u istraživanju Valenti et al., 2018) nisu dodavana ulja, može doprineti objašnjenju nepostojanja efekata tanina na promene u masnokiselinskom profilu mesa. Pored ovoga, jedan od razloga pojave kontradiktornih rezultata i zaključaka u vezi sa uticajem tanina na ove osobine može da bude izvor, ali i količina, odnosno sadržaj tanina u obroku.

Tako, Buccioni et al. (2017b) su utvrdili da kvebraho tanini ispoljavaju jače efekte od kestenovih na promenu masnokiselinskog profila. Takođe, koristeći kvebraho tanine utvrđene su promene u masnokiselinskom profilu kod Vasta et al. (2009c; 2010b), dok su Gravador et al. (2015) do sličnih zaključaka došli korišćenjem tanina iz rogača.

Literaturnim pregledom uviđa se da tanini mogu imati različit uticaj na masnokiselinski profil mesa, i da pored samog izvora tanina na promene ovog parametra mogu uticati i razni drugi faktori. Ipak, efekti nisu utvrđeni u okviru ove disertacije, te su dodatna istraživanja neophodna da bi se detaljnije ispitalo kako tanini iz obroka utiču na buražnu biohidrogenizaciju, u zavisnosti od baznog obroka, izvora, količine u obroku, kao i vrste i starosti životinja koje ih konzumiraju.



## 5.8. UTICAJ TANINA NA EKONOMSKU ODRŽIVOST

Pored produktivnih, istraživanje je obuhvatilo i parametre ekonomske održivosti, što je i prikazano u tabeli 5.24 (ogled 1) i tabeli 5.25 (ogled 2). Troškovi rada mašina, radnika, veterinarskog nadzora, držanja, nege, napajanja i režijskih troškova su bili zajednički za sve tri grupe u oba ogleda, posmatrani su kao fiksni troškovi i nisu uključeni u analizu. Zbog toga je, za obračun ekonomske održivosti, korišćena pre svega tržišna cena obroka, dobijena na osnovu cena pojedinačnih komponenti, prosečnih prirasta životinja i cene žive mere jagnjadi. Pored ovoga, u ogledu 2 je obračun obavljen i na osnovu pola.

Kako je navedeno u poglavlju 5.4, taninske grupe su ostvarile veće priraste od kontrole, što je u saglasnosti sa brojnim autorima (Ortiz et al., 2013; Barajas et al., 2014; Rivera-Mendez et al., 2017; Molosse et al., 2021). Međutim, samo kada se cena koštanja obroka stavi u odnos sa ostvarenim prirastima i uporedi sa cenom žive vage, može se govoriti o ekonomskoj rentabilnosti upotrebe tanina.

**Tabela 5.24: Ogled 1 - Uticaj kestenovih tanina na ekonomsku održivost proizvodnje**

Parametar*	Grupa**		
	K	T1	T2
TCo (RSD/kg)	42,70	60,23	77,75
TC (RSD/kg SM)	48,08	67,59	87,09
THd (RSD/grlo/dan)	57,63	76,48	104,84
THp (RSD/kg prirasta)	258,50	294,98	387,76
NP (RSD/grlo/dan)	27,08	22,04	-2,10
EKI	1,47	1,29	0,98

\*TCo - tržišna cena obroka po kg; TC - tržišna cena suve materije obroka, po kg; THd - dnevni troškovi ishrane; THp - troškovi ishrane na osnovu prirasta; NP - neto profit; EKI - ekonomska isplativost.

\*\*K - kontrolna grupa bez dodatih tanina; T1 - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; T2 - grupa koja je dobijala 18,87 g preparata/kg SM obroka.

Na osnovu prikazanih rezultata, evidentno je da tržišna cena nativnog i SM obroka raste dodavanjem kestenovih tanina. Stavljanjem u relativan odnos, utvrđeno je da je u ogledu 1 obrok T1 skuplji za više od 40%, a T2 za više od 80% u odnosu na K. U ogledu 2 ove razlike su još drastičnije, budući da su taninski obroci bili od 2 do 3,4 puta skuplji u odnosu na kontrolne. Ovo je direktna posledica visoke tržišne cene preparata kestenovih tanina, koja je iznosila 1330,00 dinara za kilogram (tabela 4.10 iz materijala i metoda). Samim tim, i troškovi ishrane po danu (THd) su uvećani za taninske grupe u odnosu na kontrolu.

Ukoliko se troškovi hrane izraze kroz ostvarene prosečne dnevne priraste, situacija je nešto drugačija. Naime, u oba ogleda troškovi ishrane na osnovu prirasta (THp) su veći kod taninskih nego kontrolnih grupa. Tako, u ogledu 1 kod T1 skoro za 15% (14,11%), a kod T2 za čak 50% veći u odnosu na kontrolu. Situacija je još nepovoljnija u ogledu 2, te je, prosečno za oba pola, kod 10T vrednost THp bila prosečno 1,8 puta veća, a kod čak 20T 2,5 puta veća u odnosu na vrednost THp kod kontrolne grupe.

Obračun za neto profit (NP) proizvodnje podrazumeva, pored cene žive mere (CŽM) i prosečne dnevne priraste, ali i dnevne troškove ishrane (THd), te se očekuje da će povećanje prirasta doprineti povećanju ove vrednosti. Iako su taninske grupe ostvarile veće priraste, samo povećanje u ostvarenim prirastima kod taninskih grupa nije bilo dovoljno da se prevaziđu visoki THd i ostvare bolji NP kod taninskih u odnosu na kontrolnu grupu. Zbog toga, vrednosti NP su ipak bile najveće kod kontrolnih grupa, dok je kod taninskih grupa ova vrednost bila i negativna. Tako, u ogledu 1 je neto profit (NP) bio negativan kod T2 grupe, dok je u ogledu 2 negativna vrednost

utvrđena kod obe taninske grupe u obroku 3. Posledično, i vrednosti EKI su bile najveće kod kontrolnih grupa.

**Tabela 5.25: Oglad 2 - Uticaj kestenovih tanina na ekonomsku održivost proizvodnje**

Parametar*	OBROCI / GRUPE**								
	OBROK 1			OBROK 2			OBROK 3		
	KON	10T	20T	KON	10T	20T	KON	10T	20T
TCo (RSD/kg)	32,45	64,40	97,52	34,09	71,08	95,79	33,66	74,11	115,80
TC (RSD/kg SM)	36,93	72,50	109,37	39,46	80,64	108,13	41,06	86,08	132,50
THd (RSD/grlo/dan)	28,83	58,48	87,90	38,69	80,95	108,89	46,82	100,01	156,00
<b>Muška grla</b>									
THp (RSD/kg prirasta)	151,73	243,65	382,15	203,65	359,79	453,70	240,11	512,90	709,10
NP (RSD/grlo/dan)	43,37	32,72	-0,50	33,51	4,55	-17,69	27,28	-25,91	-72,40
EKI	2,50	1,56	0,99	1,87	1,06	0,84	1,58	0,74	0,54
<b>Ženska grla</b>									
THp (RSD/kg prirasta)	159,01	285,25	358,76	213,48	394,90	506,45	292,63	512,90	709,10
NP (RSD/grlo/dan)	40,06	19,42	5,20	30,18	-3,05	-27,19	13,98	-25,91	-72,40
EKI	2,39	1,33	1,06	1,78	0,96	0,75	1,30	0,74	0,54

\*TCo - tržišna cena obroka po kg; TC - tržišna cena suve materije obroka, po kg; THd - dnevni troškovi ishrane; THp - troškovi ishrane na osnovu prirasta; NP - neto profit; EKI - ekonomska isplativost.

\*\* KON - kontrolna grupa bez dodatih tanina; 10T - grupa koja je dobijala 20,17 g preparata/kg SM obroka; 20T - grupa koja je dobijala 40,33 g preparata/kg SM obroka.

Kako navode Priolo i Vasta (2007), troškovi ishrane predstavljaju veliki problem u postizanju ekonomskog balansa u farmskom držanju sitnih preživara. Rezultati analize u okviru ove disertacije prikazuju da, sa navedenim paritetom cena, dodavanje preparata kestenovih tanina opterećuje ekonomsku održivost proizvodnje. Velike razlike u tržišnim cenama između grupa, unutar obroka, su pre svega uslovljene visokom tržišnom cenom preparata kestenovog tanina korišćenog u ogledu, kao i niskom cenom žive vage. Ovi rezultati su donekle očekivani, budući da je dodavanjem preparata kestenovih tanina u kontrolni obrok povećao njegovu cenu. Ukoliko se posmatraju prirasti, dodavanje kestenovih tanina je dovelo do njihovog povećanja. Ipak, ove razlike nisu dovoljne da se prevaziđe početna velika razlika cena između grupa. Ovome doprinosi i relativno niska tržišna cena žive mere jagnjadi. Drugim rečima, sa uslovima kakvi su trenutno u stočarskoj (i ovčarskoj) proizvodnji i paritetom cena koji podrazumeva visoku cenu hraniva sa jedne, i nisku cenu žive mere jagnjadi, sa druge strane, dodavanje kestenovih tanina može opteretiti proizvodnju u malim sistemima. Ovi rezultati su u saglasnosti sa Mancini et al. (2019), koji su ispitivali uticaj smeše kvebraho i kestenovih tanina u ishrani kunića. Iako je istraživanje navedenih autora bilo usmereno na drugu vrstu životinja, i sadržaj preparata bio drugačiji nego u našem istraživanju (0,3% i 0,6% obroka, redom), dodavanje taninskog preparata je takođe povećalo cenu obroka koja nije mogla do kraja da se prevaziđe poboljšanim produktivnim parametrima.

Dodavanje kestenovih tanina u obroke inicijalno deluje kao skup, ekonomski neefikasan predlog. Ipak, u uslovima jeftinije proizvodnje hrane i povećanja tržišne cene žive mere jagnjadi, moguće je opravdati njihovo korišćenje. Stoga, postoji mogućnost korišćenja kestenovih tanina u proizvodnji jagnječeg mesa, naročito na velikim farmama, budući da potencijal za njegovu upotrebu pravilnim upravljanjem procesima proizvodnje može biti iskorišćen.

## 6. ZAKLJUČAK

Tanini su veoma zastupljeni u prirodi, najviše u biljnom svetu. Oni pripadaju velikoj grupaciji raznovrsnih jedinjenja raznorodnog biološkog porekla, usled čega mogu da dovedu do različitih uticaja na preživare. Najčešće korišćeni izvori tanina iz drvenastih biljaka su kesten, hrast i kvebraho, dok je u literaturi prijavljeno i korišćenje mimoze, tare, vinove loze, žutog zvezdana, barskog zlatana, esparzete, cikoriije, opni kikirikija i drugih izvora. Usled mnoštva različitih izvora, kao i različitih proizvoda, ali i načina njihove analize, međusobna komparacija tanina iz različitih izvora, kao i njihovih uticaja se može izvesti samo u određenoj meri. Naime, zahvaljujući svojoj rasprostranjenosti, nalaze se u različitim oblicima preparata i proizvoda, te je njihova upotreba raznolika, usled čega uticaji koje ispoljavaju na produktivne ili zdravstvene parametre životinja su veoma heterogeni, a neretko i oprečni.

Stoga je glavni cilj ove doktorske disertacije bio istraživanje upotrebe kestenovih tanina u obrocima tovne jagnjadi, zarad ispitivanja efekata na parametre fiziološkog stanja i produktivnosti. Istraživanje je obavljeno kroz dva ogleda koja su se međusobno razlikovala u sastavu i izbalansiranosti obroka, kao i količini korišćenih tanina. U ogledu 1 je korišćen standardni farmški obrok za ishranu odlučene jagnjadi, dok su u ogledu 2 obroci formulisani tako da zadovolje potrebe u metaboličkom proteinu (MP) za prirast od 250 g/dan, dok je energije (NEmeat) bilo više za oko 14%, što odgovara prirastu od 275 g/dan. U ogledu 2 korišćena su tri obroka tokom čitavog eksperimentalnog perioda, u zavisnosti od telesne mase koju su jagnjad ostvarivala, uz pretpostavku da će uticaj tanina dovesti do zadovoljenja potreba za prirast veći od 250 g/dan. U ogledu 1 korišćen je jedan obrok tokom celog eksperimentalnog perioda. Kao izvor tanina korišćen je preparat kestenovih tanina, komercijalnog naziva Farmatan<sup>®</sup>, čija je količina u ogledu 1 iznosila 0 g, 9,46 g i 18,87 g preparata/kg SM obroka (tretmani su redom označeni kao K, T1 i T2). U ogledu 2 njegova količina je iznosila 0 g/kg SM, 20,17 g preparata/kg SM i 40,33 g preparata/kg SM (tretmani su redom označeni kao KON, 10T i 20T). Oba ogleda su trajala 60 dana (ne računajući adaptacioni period), tokom kojih je dnevno praćeno konzumiranje SM.

Konzumiranje SM u ogledu 1 je bilo identično kod K i T2 (1,20 kg SM/dan) i veće od T1 (1,13 kg SM/dan), što se pre svega objašnjava slabijim konzumiranjem kabaste komponente obroka kod ove grupe (sena), dok su u ogledu 2, usled postavke ogleda, ove vrednosti bile homogenije i iznosile prosečno 0,97 kg SM, 0,99 kg SM i 1,00 kg SM dnevno za KON, 10T i 20T, redom. Iako bi se možda očekivalo da će zbog adstringentnog ukusa tanina doći do smanjenja konzumiranja, kestenovi tanini u ispitivanim količinama nisu uticali na ovu pojavu. Niže konzumiranje je stoga posledica drugih faktora, kao što su kvalitet i promene obroka, mikroklima, uznemiravanje, ali i hijerarhijski odnosi unutar grupe. Poređenje ova dva ogleda moguće je sprovesti samo do određene mere. Ipak, primećuje se da je u ogledu 1 konzumiranje bilo veće u toku čitavog perioda trajanja ogleda nego u ogledu 2. Isto tako, u ogledu 1 je konzumiranje bilo veće od procenjenog, i gotovo organizovano bez ograničenja, dok je u ogledu 2 količina date hrane određivana svakodnevno, na osnovu grupe koja je najslabije konzumirala prethodnog dana.

Intervalno su praćene promene telesne mase jagnjadi, radi određivanja prirasta, ali i parametara iskoristivosti hrane (Klajberov odnos - KR, efikasnost proteina - EP i efikasnost energije - EEN). U oba ogleda, najveće vrednosti KR, EP i EEN su ostvarila muška grla koja su dobijala najviše kestenovih tanina u obroku, odnosno T2 i 20T u ogledu 1 i ogledu 2, redom, što ukazuje na pozitivan efekat tanina. Budući da je konzumiranje bilo veoma slično, bez statistički značajnih razlika, bolja iskoristivost hrane je uslovljena većim prirastima.

Tako, u oba ogleda najveće prosečne dnevne i ukupne priraste su ostvarila muška grla koja su dobijala najviše tanina u obroku (T2 grupa 270,37 g/dan i 16,22 kg; 20T grupa 230,00 g/dan i 13,80 kg), uz značajnu razliku poređenjem sa kontrolnim grupama. Slaganje rezultata iz oba ogleda ukazuje na to da kestenovi tanini u obroku utiču na povećane priraste kod jagnjadi u tovu, najverovatnije kroz stvaranje kompleksa sa proteinima, čime se menja mesto njihove razgradnje, i koriste na optimalniji način.

Određivanje prividne svarljivosti u oba ogleda je utvrđeno indirektnom metodom korišćenjem pepela nerastvorljivog u hlorovodoničnoj kiselini kao indikatora. U oba ogleda su rađene tri kolekcije fecesa, čiji su kolekcionni periodi trajali 5 (ogled 1), odnosno 6 (ogled 2) dana. Kolekcionni periodi su u ogledu 1 sprovedeni u periodu od 15. do 19. dana (pri starosti grla od 81 do  $85 \pm 3$  dana), zatim od 30. do 34. dana ogleda (pri starosti grla od 96 do  $100 \pm 3$  dana), i u periodu od 45. do 49. dana ogleda (pri starosti grla od 111 do  $115 \pm 3$  dana). U ogledu 2, kolekcionni periodi su sprovedeni u periodu od 14. do 19. dana ogleda (pri starosti grla od 79 do  $84 \pm 5$  dana), zatim u periodu od 29. do 34. dana ogleda (pri starosti grla od 94 do  $99 \pm 5$  dana) i u periodu od 44. do 49. dana ogleda (pri starosti grla od 109 do  $114 \pm 5$  dana). Primetno je da je u ogledu 2 svarljivost suve i organske materije bila bez statističkih značajnosti između grupa, iako nominalno nešto veća kod kontrolne nego taninskih grupa. Svarljivost sirovog proteina je bila niža kod 20T nego KON i 10T grupe. Sličan trend je primećen i u ogledu 2. Kod sirovog proteina treba biti oprezan prilikom tumačenja rezultata, budući da ovaj parametar može ukazivati ne na smanjenu svarljivost, već na njegov povećani dotok u distalne partije digestivnog trakta. Usled povećanog dotoka ovog parametra dolazi i do povećanja njegovog sadržaja u fecesu, što nužno ne znači njegovu lošiju iskoristivost. Potvrda ovoga se nalazi i u rezultatima prirasta, gde su jagnjad iz taninskih grupa ostvarila veće priraste od onih iz kontrolne. Takođe, u ogledu 2 je svarljivost sirovih masti rasla sa porastom tanina u obroku, što ukazuje da tanini donekle utiču na procese fermentacije u buragu, što nije bio slučaj sa ogledom 1.

Analize krvi nisu ukazale na negativan uticaj kestenovih tanina na osnovne parametre krvi.

Po završetku hranidbenog dela ogleda, sva jagnjad su žrtvovana kako bi se ispitale klanične osobine, hemijski sastav i masnokiselinski profil mesa. Uticaj kestenovih tanina nije ispoljen ni na promene hemijskog sastava mesa ni na promene njegovog masnokiselinskog profila ( $p > 0,05$ ). Ispitivanjem masnokiselinskog profila mesa takođe nije utvrđena značajnost razlika, te kestenovi tanini nisu ispoljili uticaj na ove parametre.

Dodatno, ispitan je i uticaj kestenovih tanina na ekonomsku održivost proizvodnje jagnjadi u tovu, odnosno analiza ekonomske održivosti korišćenja preparata kestenovih tanina. Rezultati ove analize su ukazali na to da je ekonomska isplativost opadala sa dodavanjem tanina u obroke, što je, pored visoke cene preparata, posledica i nepovoljnog pariteta cena hraniva i žive mere jagnjadi. Ako se ima na umu da je usled korišćenja tanina poboljšana konverzija hrane i došlo do većih prirasta, samim tim i do bolje iskoristivosti hrane, uticaj kestenovih tanina nije zanemarljiv. Ipak, može se zaključiti da bi korišćenje kestenovih tanina u komercijalnim sistemima tova jagnjadi za sada bilo opravdano samo u uslovima jeftinije proizvodnje hrane, uz istovremeno povećanje tržišne cene žive mere jagnjadi.

Kestenovi tanini kao aditivi u obrocima jagnjadi u tovu mogu doprineti poboljšanju produktivnosti životinja, bez štetnih posledica. Naime, u oba ogleda kestenovi tanini nisu negativno uticali na konzumiranje hrane, a njihovim uključenjem u obrok nisu ispoljeni štetni sekundarni efekti na fiziološke i metaboličke procese u organizmu životinja. Upravo suprotno, njihovim korišćenjem postigla se bolja iskoristivost hrane, došlo je do postizanja većih prirasta, što može biti rezultat boljeg korišćenja proteina. S druge strane, kestenovi tanini nisu uticali na hemijski sastav i masnokiselinski profil mesa. Analiza ekonomske održivosti je ukazala da dodavanje kestenovih tanina u obrok može dovesti do opterećenja proizvodnje u finansijskom smislu. Pod uslovom povoljnijeg pariteta cena, odnosno smanjenjem troškova ishrane, uz istovremeno povećanje tržišne cene jagnjadi, upotreba kestenovih tanina može biti opravdana. Upotreba kestenovih tanina može pre svega biti opravdana na velikim, dobro organizovanim farmama, budući da se optimizacija i smanjenje troškova proizvodnje može prvenstveno postići u takvim proizvodnim sistemima.

## 7. LITERATURA

1. Abia, R., Fry, S.C. (2001): Degradation and metabolism of  $^{14}\text{C}$ -labelled proanthocyanidins from carob (*Ceratonia siliqua*) pods in the gastrointestinal tract of the rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 81:1156-1165.
2. Aboagye, I.A., Oba, M., Castillo, A.R., Koenig, K.M., Iwassa, A.D., Beauchemin, K.A. (2018): Effects of hydrolyzable tannin with or without condensed tannin on methane emissions, nitrogen use, and performance of beef cattle fed a high-forage diet. *Journal of Animal Science* 96:5276-5286.
3. Abo-Zeid, H.M., El-Zaiat, H.M., Morsy, A.S., Attia, M.F.A., Abaza, M.A., Sallam, S.M.A. (2017): Effect of replacing dietary corn grains with increasing levels of sugar beet pulp on rumen fermentation constituents and performance of growing Egyptian buffalo calves. *Animal Feed Science Technology* 234:128-138.
4. Adamczyk, B., Salminen, J-P., Smolander, A., Kitunen, V. (2012): Precipitation of proteins by tannins: effects of concentration, protein/tannin ratio and pH. *Food science and technology* 47:875-878.
5. Adamczyk, B., Simon, J.K.A. (2017): Tannins and their complex interaction with different organic nitrogen compounds and enzymes: Old paradigms versus recent advances. *Chemistry Open* 6:610 – 614.
6. Aerts, R.J., Barry, T.N., McNabb, W.C. (1999): Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 75:1-12.
7. Afsana, K., Shiga, K., Ishizuka, S., Hara, H. (2004): Reducing effects of ingesting tannic acid on the absorption of iron, but not of zinc, copper and manganese by rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 68:584-592.
8. Aguerre, M.J., Capozzolo, M.C., Lencioni, P., Cabral, C., Wattiaux, M.A. (2016): Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 99:1-11.
9. Al-Dobaib, N.S. (2009): Effect of different levels of quebracho tannin on nitrogen utilization and growth performance of Najdi sheep fed alfalfa (*Medicago sativa*) hay as a sole diet. *Animal Science Journal* 80:532-541.
10. Ali, M., Mehboob, H.A., Mirza, M.A., Raza, H., Osredkar, H. (2017): Effect of hydrolysable tannin supplementation on production performance of dairy crossbred cows. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 27:1088-1093.
11. Alonso-Amelot, M.E. (2011): Contrasting roles of tannins in nutrition: Recent evidence from animal models. In: Petridis, G.K. (Ed.), *Tannins: Types, Food Containing and Nutrition*. Nova Science, Inc., New York, pp. 1-82.
12. Alonso-Amelot, M.E., Oliveros-Bestidas, A., Calcagno-Pisarelli, M.P. (2007): Phenolics and condensed tannins of high altitude *Pteridium arachnoideum* in relation to sunlight exposure, elevation and rain regime. *Biochemical systematics & ecology* 35:1-10.
13. Alonso-Diaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., CapetilloLeal, C.M. (2012): Amino acid profile of the protein from whole saliva of goats and sheep and its interaction with tannic acid and tannins extracted from the fodder of tropical plants. *Small Ruminant Research* 103:69-74.
14. Alonso-Diaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H. (2010): Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe? *Small Ruminant Research* 89:164-173.
15. Amarowicz, R., Janiak, M. (2019): Hydrolysable tannins. In: Melton, L., Shahidi, F., Varelis, P. (Eds.), *Encyclopedia of Food Chemistry*, Elsevier, pp. 337–343.
16. Ammar, H., Bodas, R., González, J.S., Salem, A.Z.M., Giráldez, F.J., Andrés, S., López, S. (2013): Effects of pre-incubation in sheep and goat saliva on in vitro rumen digestion of tanniferous browse foliage. *The Journal of Agricultural Science* 151:898-906.

17. Ammar, H., Lopez, S., Salem, A.Z.M., Bodas, R., Gonzalez, J.S. (2010): Effect of saliva from sheep that have ingested quebracho tannins on the *in vitro* rumen fermentation activity to digest tannin-containing shrubs. *Animal Feed Science and Technology* 163:77-83.
18. Anderson, R.C., Vodovnik, M., Min, B.R., Pinchak, W.E., Krueger, N.A., Harvey, R.B., Nisbet, D.J. (2012): Bactericidal effect of hydrolysable and condensed tannin extracts on *Campylobacter jejuni* in vitro. *Folia Microbiologica* 57:253-258.
19. AOAC (2000): Official Methods of Analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA
20. Archimede, H., Eugène, M., Marie-Magdeleine, C., Boval, M., Martin, C., Morgavi, D.P., Lecomte, P., Doreau, M. (2011): Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. *Animal Feed Science and Technology* 166:59-64.
21. Attia, M.F.A., Nour El-Din, A.N.M., El-Zarkouny, S.Z., El-Zait, H.M., Zeitoun, M.M., Sallam, S.M.A. (2016): Impact of Quebracho Tannins Supplementation on Productive and Reproductive Efficiency of Dairy Cows. *Open Journal of Animal Science* 6:269-288.
22. Atwood, S.B., Provenza, F.D., Wiedmeier, R.D., Banner, R.E. (2001): Changes in preferences of gestating heifers fed utreated or ammoniated straw in different flavors. *Journal of Animal Science* 79:3027-3033.
23. Aufrere J., Dudilieu M., Poncet, C. (2008): *In vivo* and *in situ* measurements of the digestive characteristics of sainfoin in comparison with lucerne fed to sheep as fresh forages at two growth stages and as hay. *Animal* 2:1331–1339.
24. Avila, S.C., Kozloski, G.V., Orlandi, T., Mezzomo, M.P., Stefanello, S. (2015): Impact of a tannin extract on digestibility, ruminal fermentation and duodenal flow of amino acids in steers fed maize silage and concentrate containing soybean or canola meal as protein source. *Journal of Agricultural Science* 153:943-953.
25. Barajas, R., Bonilla, E.B., Flores, L.R., Lomeli, J.J., Romo, J.A. (2014): Influence of additional tannins extract level on feedlot performance of finishing hair lambs. In Shanks, R.D., Lewis, G.S. (Eds.), *Proceedings of the ADSA-ASAS-CSAS Joint annual meeting, Kansas City, Missouri*, pp. 920-921.
26. Baraza, E., Villalba, J.J., Provenza, F.D. (2005): Nutritional context influences preferences of lambs for foods with plant secondary metabolites. *Applied Animal Behaviour Science* 92:293-305.
27. Barbehenn, R.V., Constabel, C.P. (2011): Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry* 72:1551-1565.
28. Barbir T., Vulić A., Pleadin J. (2014): Masti i masne kiseline u hrani životinjskog podrijetla. *Vetrinarska stanica*, 45:97–110.
29. Bargiacchi, E., Miele, S., Romani, A., Campo, M. (2013): Biostimulant activity of hydrolyzable tannins from sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Acta Horticulturae* 1009:111-116.
30. Barreira, J.C.M., Ferreira, I.C.F.R., Oliveira, M.B.P.P., Pereira, J.A. (2008): Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chemistry* 107:1106-1113.
31. Barry T.N., McNabb W.C. (1999): The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants – review. *British Journal of Nutrition* 81:263–272.
32. Barry T.N., Parkinson T.J., Ramirez-Rastrepo C.A., McWilliam E.L., Lopez-Villalobos N. (2004): Can mating ewes on condensed tannin-containing forages be used to reduce lamb mortality between birth and weaning. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, Palmerston North, New Zealand*, pp. 30-33.
33. Barry, T.N., McNeill, D.M., McNabb W.C. (2001): Plant secondary compounds: Their impact on nutritive value and upon animal production. In: Gomide, J.A., Mattos, W.R.S., DaSilva, S.C. (Eds.), *Proceedings of the XIX International Grassland Congress. Sao Paulo, Brasil*, pp. 445-452.
34. Barry, T.N. (1984): The role of condensed tannins in the digestion of fresh *Lotus pedunculatus* by sheep. *Canadian Journal of Animal Science* 64:181-182.

35. Barry, T.N. (1985): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus corniculatus* for sheep. 3. Rates of body and wool growth. *British Journal of Nutrition* 54:211-217.
36. Barry, T.N. (2011): Forage secondary compounds: past, present and future. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 314-321.
37. Barry, T.N., Allsop, T.F., Redekops, C. (1986a): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 5. Effect on the endocrine system and on adipose tissue metabolism. *British Journal of Nutrition* 56:607-614.
38. Barry, T.N., Duncan, S.J. (1984): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 1. Voluntary intake. *British Journal of Nutrition* 51:485-491.
39. Barry, T.N., Manley, T.R. (1984): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. *British Journal of Nutrition* 51:493-504.
40. Barry, T.N., Manley, T.R. (1986): Interrelationships between the concentrations of total condensed tannin, free condensed tannin and lignin in *Lotus sp.* and other possible consequences in ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 37:248-254.
41. Barry, T.N., Manley, T.R., Duncan, S.J. (1986b): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. *British Journal of Nutrition* 55:123-137.
42. Barry, T.N., McNabb, W.C., Kemp, P.D., Waghorn, G.C., Min, B.R., Luque, A. (1999): The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon reproductive efficiency and wool production in sheep during late summer and autumn. In: Charlton, J.F.L. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. Hawkes Bay, New Zealand, pp. 51-55.
43. Baumgartner, W., Wittek, T. (2017): *Klinische Propädeutik der Haus - und Heimtiere*, 9. aktualisierte und erweiterte Auflage. Enke, Stuttgart, Germany.
44. Beauchamp, G.K., Mennella, J.A. (2009): Early flavor learning and its impact on later feeding behaviour. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 48:S25-S30.
45. Beauchemin, K.A., Kreuzer, M., O'Mara, F., McAllister, T.A. (2008): Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48:21-27.
46. Beltran-Heredia, J., Beltran-Heredia, E. (2016): Adsorbent biopolymers from tannin extracts for water treatment. In: Cobs, C.A. (Ed.), *Tannins: Biochemistry, Food Sources and Nutritional Properties*. Nova Science, Inc., New York, pp. 1-28.
47. Beniwal, V., Kumar, R., Kumari, A., Chhokar, V. (2012): Microbial production of tannase. In: Nagpal, R., Kumar, A., Singh, R. (Eds.): *Microbes in the service of mankind*. JBC Press. New Delhi, pp. 463-488.
48. Bermingham, E.N., Hutchinson, K.J., Revell, D.K., Brookes, I.M., McNabb, W.C. (2001): The effect of condensed tannins in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and sulla (*Hedysarum coronarium*) on the digestion of amino acids in sheep, In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 116-119.
49. Besharati, M., Maggiolino, A., Palangi, V., Kaya, A., Jabbar, M., Eseceli, H., De Palo, P., Lorenzo, J.M. (2022): Tannin in Ruminant Nutrition: Review. *Molecules* 27:8273.
50. Besharati, M., Taghizadeh, A. (2009): Evaluation of dried grape by-product as a tanniniferous tropical feedstuff. *Animal Feed Science and Technology* 152:198-203.
51. Bessa, R.J.B., Alves, S.P., Jerónimo, E., Alfaia, C.M., Prates, J.A.M., SantosSilva, J. (2007): Effect of lipid supplements on ruminal biohydrogenation intermediates and muscle fatty acids in lambs. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109:868-878.
52. Bessa, R.J.B., Alves, S.P., Santos-Silva, J. (2015): Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109:868-878.

53. Biagi, G., Cipollini, I., Paulicks, B.R., Roth, F.X. (2010): Effect of tannins on growth performance and intestinal ecosystem in weaned piglets. *Archives of Animal Nutrition* 64:121-135.
54. Bilić-Šobot, D., Kubale, V., Škrlep, M., Čandek-Potokar, M., Prevolnik Povše, M., Fazarinc, G., Škorjanc, D. (2016): Effect of hydrolysable tannins on intestinal morphology, proliferation and apoptosis in entire male pigs. *Archives of Animal Nutrition* 70:378-388.
55. Biondi, L., Randazzo, C.L., Russo, N., Pino, A., Natalello, A., Van Hoorde, K., Caggia, C. (2019): Dietary supplementation of tannin-extracts to lambs: effects on meat fatty acids composition and stability and on microbial characteristics. *Foods* 8:1-13.
56. Bonelli, F., Turini, L., Sarri, G., Serra, A., Buccioni, A., Mele, M. (2018): Oral administration of chestnut tannins to reduce the duration of neonatal calf diarrhea. *BMC Veterinary Research* 14:227.
57. Božičković, A., Grubić, G., Stojanović, B. (2018): Praktikum za ishranu preživara. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
58. Božičković, A., Grubić, G., Stojanović, B. (2020): Praktikum za ishranu preživara (drugo delimično izmenjeno izdanje). Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
59. Braga, N., Rodrigues, F., Oliveira, M.B.P.P. (2014): *Castanea sativa* by-products: A review on added value and sustainable application. *Natural Product Research* 1:1-18.
60. Breer, H., Eberle, J., Frick, C., Haid, D., Widmayer, P. (2012): Gastrointestinal chemosensation: chemosensory cells in the alimentary tract. *Histochemistry and Cell Biology* 138:13-24.
61. Brogna, D.M.R., Tansawat, R., Cornforth, D., Ward, R., Bella, M., Luciano, G., Priolo, A., Villalba, J. (2014): The quality of meat from sheep treated with tannin- and saponin-based remedies as a natural strategy for parasite control. *Meat Science* 96:744-749.
62. Buccioni, A., Minieri, S., Rapaccini, S., Antongiovanni, M., Mele, M. (2011): Effect of chestnut and quebracho tannins on fatty acid profile in rumen liquid- and solid-associated bacteria: an in vitro study. *Animal* 5:1521-1530.
63. Buccioni, A., Pallara, G., Pastorelli, R., Bellini, L., Cappucci, A., Manelli, F., Minieri, S., Roscini, V., Rapaccini, S., Mele, M., Giovanetti, L., Viti, C., Pauselli, M. (2017a): Effect of dietary chestnut or quebracho tannin supplementation on microbial community and fatty acid profile in the rumen of dairy ewes. *Biomed Research International* 1-12.
64. Buccioni, A., Pauselli, M., Minieri, S., Roscini, V., Manelli, F., Rapaccini, S. (2017b): Chestnut or quebracho tannins in grazing ewes supplemented with soybean oil: effects on animal performances, blood parameters and fatty acid composition of plasma and milk lipids. *Small Ruminant Research* 153:23-30.
65. Buccioni, A., Pauselli, M., Viti, C., Minieri, S., Pallara, G., Roscini, V., Rapaccini, S., Trabalza Murinucci, M., Lupi, P., Conte, G., Mele, M. (2015a): Milk fatty acid composition, rumen microbial population, and animal performance in response to diets rich in linoleic acid supplementation with chestnut or quebracho tannins in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 98:1145-1156.
66. Buccioni, A., Serra, A., Minieri, S., Mannelli, F., Cappucci, A., Benvenuti, D., Rapaccini, S., Conte, G., Mele, M. (2015b): Milk production, composition and milky fatty acid profile from grazing sheep fed diets supplemented with chestnut tannin extract and extruded linseed. *Small Ruminant Research* 130:200-207.
67. Burggraaf, V.T., Snow, V.O. (2011): Effects of condensed tannins on nitrogen dynamics in grazed temperate agricultural systems. In: Petridis, G.K. (Ed.), *Tannins, Types, Food Containing, and Nutrition*. Nova Science, Inc., New York, pp. 317-326.
68. Burke, J.L., Waghorn, G.C., Brookes, I.M., Chaves, A.V., Attwood, G.T. (2006): *In vitro* production of volatile fatty acids from forages. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 50-54.
69. Campo, M., Pinelli, P., Romani, A. (2016): Hydrolyzable tannins from sweet chestnut fractions obtained by a sustainable and eco-friendly industrial process. *Natural Product Communications* 11:409-415.



70. Cannas, A. (2018): Tannins: Fascinating but sometimes dangerous molecules. Cornell College of Agriculture and Life Sciences.  
<https://poisonousplants.ansci.cornell.edu/toxicagents/tannin.html>.
71. Carlson, D.M. (1988): Proline-rich proteins and glycoproteins: expression of salivary gland multigene families. *Biochimie* 70:1689-1695.
72. Carrasco, J.M.D., Cabral, C., Redondo, L.M., Pin Viso, N.D., Colombatto, D., Farber, M.D., Miyakawa, M.E.F. (2017): Impact of chestnut and quebracho tannins on rumen microbiota of bovines. *BioMed Research International* 3:1-11.
73. Carreno, D., Hervas, G., Toral, P.G., Belenguer, A., Frutos, P. (2015): Ability of different types and doses of tannins extract to modulate in vitro ruminal biohydrogenation in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 202:42-51.
74. Carron, T.R., Morris, P., Evans, T.R., Robbins, M.P. (1992): Condensed tannin levels in different tissues and different developmental stages of transformed and non-transformed *Lotus corniculatus*. *Lotus Newsletter* 23:49-52.
75. ChaichiSemsari M., MaheriSis, N., Sadaghian, M., Eshratkiah, B., Hassanpour S. (2011). Effects of administration of industrial tannins on nutrient excretion parameters during naturally acquired mixed nematode infections in Moghani sheep. *Journal of American Science* 7245-7252.
76. Cheled-Shoval, S.L., Behrens, M., Meyerhof, W., Niv, M.Y., Uni, Z. (2014): Perinatal administration of a bitter tastant influences gene expression in chicken palate and duodenum. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 62:12512-12520.
77. Chiquete, J., Cheng, K-J., Rode, L.M., Milligan, L.P. (1989): Effect of tannin content in two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) on feed digestability and rumen fluid composition in sheep. *Canadian Journal of Animal Science* 69:1031-1039.
78. Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, C.I., Huang, Y.W., Lin, Y. (1998): Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38:421-464.
79. Cieslak, A., Szumacher-Strabel, M., Stochmal, A., Oleszek, W. (2013): Plant components with specific activities against rumen methanogens. *Animal* 7:253-265.
80. Cirkovic Velickovic, T.D., Stanic-Vucinic, D.J. (2018): The role of dietary phenolic compounds in protein digestion and processing technologies to improve their antinutritive properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17:82-103.
81. Ciucure, C.T., Geana, E.I., Sandru, C., Tita, O., Botu, M. (2022): Phytochemical and nutritional profile composition in fruits of different sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars grown in Romania. *Separations* 9:1-27.
82. Colombo, M., Trevisi, P., Gandolfi, G., Bosi, P. (2012): Assessment of the presence of chemosensing receptors based on bitter and fat taste in the gastrointestinal tract of young pig. *Journal of Animal Science* 90:128-130.
83. Comandini, P., Lerma-Garcia, M.J., Simo-Alfonso, E.F., Gallina-Toschi, T. (2012): Tannin analysis of chestnut bark samples (*Castanea sativa* Mill.) by HPLC-DAD-MS. *Food Chemistry* 157:290-295.
84. Commission of European Communities (1971): Community methods of analysis for the official control of feedingstuffs. *Official Journal of European Communities* 71/250.
85. Costa, M., Alves, S., Cappucci, A., Cook, S.R., Duarte, A., Caldeira, R., McAllister, T.A., Bessa, R.J.B. (2018): Effects of condensed and hydrolysable tannins on rumen metabolism with emphasis on the bihydrogenation of unsaturated fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66:3367-3377.
86. Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N. (2009): Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports* 26:1001-1043.
87. CVB (2018): CVB Table Booklet of Ruminants 2016. Federatie Nederlandse Diervoderketen, Netherlands.
88. Dajmond, Dž. (2022): Puške, mikrobi i čelik: Sudbine ljudskih društava. Laguna, Beograd, Srbija, pp 152.

89. Davidović, V., Jovetić, B., Joksimović Todorović, M., Stojanović, B., Lazarević, M., Perišić, P., Radivojević, M., Maletić, M., Miletić, A. (2019): The effect of tannin supplementation of mid-lactation dairy cow diets on metabolic profile parameters and production characteristics. *Slovenian Veterinary Research* 56:143-151.
90. Davies, H.S., Pudney, P.D., Georgiades, P., Waigh, T.A., Hodson, N.W., Ridley, C.E., Blanch, E.W., Thornton, D.J. (2014): Reorganisation of the salivary mucin network by dietary components: insights from green tea polyphenols. *Plos One* 9:1-13.
91. de Freitas, V., Carvalho, E., Mateus, N. (2003): Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry* 81:503-509.
92. de S. Costa, E.I., Ribiero, C.V.D.M., Silva, T.M., Ribiero, R.D.X., Viera, J.F., de O. Lima, A.G.V., Barbosa, A.M., da Silva Junior, J.M., Bezerra, L.R., Oliveira, R.L. (2020): Intake, nutrient digestibility, nitrogen balance, serum metabolites and growth performance of lambs supplemented with *Acacia mearnsii* condensed tannin extract. *Animal Feed Science and Technology*, 114744.
93. de Sousa-Pereira, P., Amado, F., Abrantes, J., Ferreira, R., Esteves, P.J., Vitorino, R. (2013): An evolutionary perspective of mammal salivary peptide families: Cystatins, histatins, statherin and PRPs. *Archives of Oral Biology* 58:451-458.
94. Deaville, E.R., Givens, D.I., Mueller-Harvey, I. (2010): Chestnut and mimosa tannin silages: effect in sheep differ for apparent digestibility, nitrogen utilisation and losses. *Animal Feed Science and Technology* 157:129-138.
95. Decandia, M., Cabiddu, A., Molle, G. (2011): Effect of tannins on the nutrition, grazing or browsing management and environmental impact of small ruminants fed mediterranean pastures. In: Petridis, G.K. (Ed.), *Tannins: Types, Food Containing, and Nutrition*. Nova Science, Inc., New York, pp. 83-112.
96. Del Bianco, S., Natalello, A., Luciano, G., Valenti, B., Campidonico, L., Gkarane, V., Monahan, F., Biondi, L., Favotto, S., Sepuleri, A., Poasentier, E. (2020): Influence of dietary inclusion of tannin extracts from mimosa, chestnut and tara on volatile compounds and flavour in lamb meat. *Meat Science* <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108336>.
97. Dentinho, M.T.P., Belo, A.T., Bessa, R.J.B. (2014): Digestion, ruminal fermentation and microbial nitrogen supply in sheep fed soybean meal treated with *Cistus ladanifer* L. tannins. *Small Ruminant Research* 119:57- 64.
98. Deprez, S., Brezillon, C., Rabot, S., Philippe, C., Mila, I., Lapierre, C., Scalbert, A. (2000): Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *Journal of Nutrition* 130:2733-2738.
99. Deschamps, A.M., Otuk, G., Lebault, J.M. (1983): Production of tannase and degradation of chestnut tannins by bacteria. *Journal of fermentation technology* 61:55-59.
100. Dey, A., De, P.S. (2014): Influence of condensed tannins from *Ficus bengalensis* leaves on feed utilization, milk production and antioxidant status of crossbred cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 27:342-348.
101. Dey, A., Dutta, N., Pattanaik, A.K., Sharma, K. (2015): Antioxidant status, metabolic profile and immune response of lambs supplemented with tannin rich *Ficus infectoria* leaf meal. *Japanese Journal of Veterinary Research* 63:15-24.
102. Diaz-Hernandez, A., Nixon, M.J., Ball, F.M., Leng, R.A., Rowe, J.B. (1997): Protein-tannin complexes are susceptible to proteolytic degradation. In: Morrow, C. (Ed): *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* Hamilton, New Zealand pp. 116-119.
103. Dixon, R.A., Xie, D.Y., Sharma, S.B. (2005): Proanthocyanidins – a final frontier in flavonoid research? *New Phytologist* 165:9-28.
104. Douglas, G.B., Stienzen, M., Waghorn, G.C., Foote, A.G., Purchas, R.W. (1999): Effect of condensed tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and sulla (*Hedysarum coronarium*) on body weight, carcass fat depth, and wool growth of lambs in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 42:55-64.

105. Douglas, G.B., Wang, Y., Waghorn, G.C., Barry, T.N., Purchas, R.W., Foote, A.G., Wilson, G.F. (1995): Liveweight gain and wool production of sheep grazing *L. corniculatus* and lucerne. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 38:95-104.
106. Đorđević, N., Grubić, G., Jokić, Ž. (2003): *Osnovi ishrane domaćih životinja (Praktikum)*. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
107. Echegaray, N., Gomez, B., Barba, F.J., Franco, D., Estevez, M., Carballo, J., Marszalek, K., Lorenzo, J.M. (2018): Chestnut and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products - a review. *Trends in Food Science and Technology* 82:110-121.
108. EFSA (2005): Opinion of the scientific panel on additives and products or substances used in animal feed on a request from the commission on the safety and efficacy of the product farmatan for rabbits and piglets. *The EFSA Journal* 222:1-20.
109. Elizondo, A.M., Mercado, E.C., Rabinovitz, B.C., Fernandez-Miyakawa, E. (2012): Effect of tannins on the *in vitro* growth of *Clostridium perfringens*. *Veterinary Microbiology* 145:308-314.
110. El-Zait, H.M., Diogo, Re, D.D., Patino, H.O., Sallam, S.M.A. (2019): Assessment of using dried vinasse rice to replace soybean meal in lambs diets: In vitro, lambs performance and economic evaluation. *Small ruminant research* 173:1-8.
111. Ersan, M., Bagda, E., Bagda, E. (2013): Investigation of kinetic and thermodynamic characteristics of removal of tetracycline with sponge like, tannin based cryogels. *Colloids & Surfaces B: Biointerfaces* 104:75-82.
112. Farouk, M.M., Tavendale, M., Lane, G., Pulford, D., Waller, J. (2007): Comparison of white clover, perennial ryegrass and the high tannin containing forage *Lotus pedunculatus* as finishing diets: Effect on sheepmeat quality. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 426-430.
113. Febres, F.E.F., Terazzas, L.A., Vasquez, J.N., Munoz, E.M., Howard, F.S.M., Mariazza, E.F. (2021): Effects of chestnut bark (*Castanea spp.*) tannin extracts on selectivity, dry matter intake, weight gain, and enteric methane emission from llamas (*Lama glama*) under grazing conditions in the high Andean grasslands. *Small Ruminant Research* 206: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106559>.
114. Fernandes, J., Filho, J.P., Menezes, D., Caldas, A.C., Cavalcante, I., Oliveira, J., Oliveira, R., Silva Junior, J., Cezar, M., Bezerra, L. (2021): Carcass and meat quality in lambs receiving natural tannins from *Mimosa tenuiflora* hay. *Small Ruminant Research* 198: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106362>.
115. Fernandez, H.T., Catanese, F., Puthod, G., Distel, R.A., Villalba, J.J. (2012): Depression of rumen ammonia and blood urea by Quebracho tannin-containing supplements fed after high-nitrogen diets with no evidence of self-regulation of tannin intake by sheep. *Small ruminant research* 105:126-134.
116. Flores, L.R., Lomeli, J.J., Macias, J.I., Velazquez, Villalba, N.E., Camacho, A., Vazquez, E., Quintero, I., Barajas, R. (2013): Effect of tannin extract supplementation on apparent digestibility of crude protein and plasma urea nitrogen of implanted and non-implanted finishing hair-lambs. *Journal of Animal Science* 91:498 (abstract).
117. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-507.
118. Foo, L.Y., Jones, W.T., Porter, L.J., Williams, V.M. (1982). Proanthocyanidin polymers of fodder legumes. *Phytochemistry* 21:933-935.
119. Foo, L.Y., Lu, Y., McNabb, W.C., Waghorn, G., Ulyatt, M.J. (1997): Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. *Phytochemistry* 45:1689-1696.
120. Foo, L.Y., Lu, Y., Molan, A.L., Woodfield, D.R., McNabb, W.C. (2000): The phenols and prodelphinidins of white clover flowers. *Phytochemistry* 54:539-548.
121. Foo, L.Y., Newman, R., Waghorn, G., McNabb, W.C., Ulyatt M.J. (1996): Proanthocyanidins from *Lotus corniculatus*. *Phytochemistry* 41:617-624.

122. Fraisse, D., Carnat, A., Viala, D., Pradel, P., Besle, J.-M., Coulon, J.-B., Felgines, C., Lamaison, J.-L. (2007): Polyphenolic composition of a permanent pasture: Variations related to the period of harvesting. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87:2427-2435.
123. Francisco, A., Dentinho, M.T., Alves, S.P., Portugal, P.V., Fernandes, F., Sengo, S., Jerónimo, E., Oliveira, M.A., Costa, P., Sequeira, A., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J. (2015): Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oils. *Meat Science* 100:275-282.
124. Frankič, T., Salobir, J. (2011): In vivo antioxidant potential of Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract in young growing pigs exposed to n-3 PUFA-induced oxidative stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91:1432-1439
125. Fraser, K., Lane, G.A., Kirk, M.R., Keogh, R.G., Cummings, T.L. (2007): Effects of dietary herb supplements on sheepmeat flavour. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 413-419.
126. Fraser, K., Lane, G.A., Schreurs, N.M., Tavendale, M.H., Keogh, R.G., Kirk, M.R., McNabb, W.C. (2004): Formation and excretion of phenol compounds in sheep. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 203-207.
127. Fraser, K., Lane, G.A., Schreurs, N.M., Tavendale, M.H., McNabb, W.C., Marotti, D.M. (2003): Effect of different forages on phenol and methylphenol formation in the rumen of sheep. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 40-44.
128. Frazier, R.A., Deaville, E.R., Green, R.J., Stringano, E., Willoughby, I., Plant, J., Mueller-Harvey, I. (2010): Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* 51:490-495.
129. Froutan, E., Azizi, O., Sadeghi, G., Fatehi, F., Lashkari, S. (2015): Effect of different concentrations of ground oak acorn on growth performance, blood parameters and carcass characteristics of goat kids. *Animal Production Science* 55:87-92.
130. Frutos, P., Hervas, G., Giraldez, F.J., Mantecon, A.R. (2004a): Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2:191-202.
131. Frutos, P., Hervas, G., Natalello, A., Luciano, G., Fondevila, M., Priolo, A., Toral, P.G. (2020): Ability of tannins to modulate ruminal lipid metabolism and milk and meat fatty acid profiles. *Animal Feed Science and Technology* 269:114623.
132. Frutos, P., Raso, M., Hervas, G., Montecon, A.R., Perez, V., Giraldez, F.J. (2004b): Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolysable tannin extract is included in the diet of finishing lambs? *Animal Research* 53:127-136.
133. Furlan, C.M., Motta, L.B., dos Santos, D.Y.A.C. (2011): Tannins: What do they represent in plant life? In: Petridis, G.K. (Ed.), *Tannins: Types, Food Containing, and Nutrition*. Nova Science, New York, pp. 251-263.
134. Gerlach, K., Pries, M., Sudekum, K.-H. (2018): Effect of condensed tannin supplementation on *in vivo* nutrient digestibilities and energy values of concentrates in sheep. *Small Ruminant Research* 161:57-62.
135. Ghasemi, S., Naserian, A.A., Valizadeh, R., Tahmasebi, A.M., Vakili, A.R., Behgar, M., Ghovvati, S. (2012): Inclusion of pistachio hulls as a replacement for alfalfa hay in the diet of sheep causes a shift in the rumen cellulolytic bacterial population. *Small ruminant research* 104:94-98.
136. Gibbins, H.L., Carpenter, G.H. (2013): Alternative mechanisms of astringency – what is the role of saliva? *J. Texture Stud.* 44:364-75.
137. Ginane, C., Baumont, R., Favreu-Peigne, A. (2011): Perception and hedonic value of basic tastes in domestic ruminants. *Physiology and Behaviour* 104:666-674.
138. Girard, M., Dohme-Meier, F., Kragten, S.A., Brinkhaus, A.G., Arrigo, Y., Wyss, U., Bee, G. (2018a): Modification of the proportion of extractable and bound condensed tannins in

- birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and sainfoin (*Onobrychis viicifolia*) during wilting, ensiling and pelleting processes. *Biotechnology in Animal Husbandry* 34:1-19.
139. Girard, M., Dohme-Meier, F., Silacci, P., Ampuero Kragten, S., Kreuzer, M., Bee, G. (2015): Forage legumes rich in condensed tannins may increase n-3 fatty acid levels and sensory quality of lamb meat. *Journal of the Science Food and Agricultural*, 96:1923-1933.
  140. Girard, M., Thanner, S., Pradervand, N., Hou, D., Ollagnier, C., Bee, G. (2018b): Hydrolysable chestnut tannins for reduction of postweaning diarrhea: efficacy on an experimental ETEC F4 model. *PLoS One* 13:1-15.
  141. Goeritz, M., Loges, R., Taube, F. (2010): Yields and contents of condensed tannins of some forage legumes and herbs. In: Schnyder, H., Isselstein, J., Taube, F., Auerswald, K., Schellberg, J., Wachendorf, M., Herrmann, A., Gierus, M., Wrage, N., Hopkins, A. (Eds), *Proceedings of the 23th General Meeting of the European Grassland Federation: Grassland in a Changing World*, 497-499.
  142. Gottlieb, O.R. (1990). Phytochemical differentiation and function. *Phytochemistry* 29:1715-1724.
  143. Gould, K., Davies, K., Winefield, C. (2009): *Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications*. Springer, New York.
  144. Govindarajan, R.K., Revathi, S., Rameshkumar, N., Krishnan, M., Kayalvizhi, N. (2016): Microbial tannase: Current perspectives and biotechnological advances. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 6:168-175.
  145. Gravador R.S., Luciano G., Jongberg S., Bognanno M., Scerra M., Andersen M. L., Lund M.N., Priolo A. (2015): Fatty acids and oxidative stability of meat from lambs fed carob-containing diets. *Food Chemistry* 182:27-34.
  146. Griffiths, W.M., Clark, C.E.F., Clark, D.A., Waghorn, G.C. (2013): Supplementing lactating dairy cows fed high-quality pasture with black wattle (*Acacia mearnsii*) tannin. *Animal* 7:1789-1795.
  147. Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V., Bauman, D.E. (2000): Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by d9-desaturase. *Journal of Nutrition* 130:2285- 2291.
  148. Habauzit, V., Morand, C. (2011): Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: an update for clinicians. *Therapeutic advances in chronic diseases* 3:87-106.
  149. Hagerman, A.E. (1989): Chemistry of tannin-protein complexation. In: Hemingway, R.W., Karchesy, J.J. (Eds.), *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*. Springer US, New York, pp. 323-333.
  150. Hagerman, A.E. (2012): Fifty years of polyphenol – protein complexes. *Recent Advances in Polyphenol Research* 3:71–97.
  151. Halliwell, B., Rafter, J., Jenner, A. (2005): Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *American Journal of Clinical Nutrition* 81:268S-276S.
  152. Hanovice-Ziony, M., Gollop, N., Landau, S.Y., Ungar, E.D., Muklada, H., Glasser, T.A., Perevolotsky, A., Walker, J.W. (2010): No major role for binding by salivary proteins as a defense against dietary tannins in Mediterranean goats. *Journal of Chemical Ecology* 36:736-743.
  153. Hassanpour, S., Maheri-Sis, N., Eshratkhah, B., Mehmandar, F.B. (2011): Plants and secondary metabolites (tannins): a review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion* 1:47-53.
  154. Hatew, B., Pellikaan, W.F., Hendriks, W.H., Mueller-Harvey, I., Stringano, E. (2011): Effects of condensed tannin extracts from sainfoin (*Onobrychis viciifolia Scop*) on rumen in vitro methane production and fermentation characteristics. *Advances in Animal Biosciences* 2:526-531.

155. Hedqvist, H., Mueller-Harvey, I., Reed, J.D., Krueger, C.G., Murphy, M. (2000): Characterisation of tannins and *in vitro* protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties. *Animal Feed Science and Technology* 87:41-56.
156. Hernes, P.J., Hedges, J.I. (2000): Determination of condensed tannins monomers in environmental samples by capillary gas chromatography of acid depolymerization extracts. *Analytical Chemistry* 75:5115-5124.
157. Herremans, S., Decruyenaere, V., Beckers, Y., Froidmont, E. (2018): Influence of chestnut tannins on *in vitro* crude protein rumen degradability kinetics of red clover silage. In: Beckers, Y. (Ed.) *Proceedings of 10th International Symposium on the Nutrition of Herbivores* pp. 1-7.
158. Hervas, G., Frutos, P., Javier Giraldez, F., Mantecon, A.R., Alvarez Del Pino, M.C. (2003a): Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science and Technology* 109:65-78.
159. Hervas, G., Frutos, P., Ramos, G., Giraldez, F.J., Mantecon, A.R. (2004): Intraruminal administration of two doses of quebracho tannins to sheep: effect on rumen degradation and total digestibility, faecal recovery and toxicity. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13:111-120.
160. Hervas, G., Frutos, P., Serrano, E., Mantecon, A.R., Giraldez, F.J. (2000): Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya beans in sheep. *Journal of Agricultural Science* 135:305-310.
161. Hervas, G., Perez, V., Giraldez, F.J., Mantecon, A.R., Almar, M.M., Frutos, P. (2003b): Intoxication of sheep with quebracho tannin extract. *Journal of Comparative Pathology* 129:44-54.
162. Hoffman, E.M., Muetzel, S., Becker, K. (2002): A modified dot-blot method of protein determination applied in the tannin-protein precipitation assay to facilitate the evaluation of tannin activity in animal feeds. *British Journal of Nutrition* 87:421-426.
163. Holmes, C.W., Brookes, I.M., Garrick, D.J., MacKenzie, D.D.S., Parkinson, T., Wilson, G.F. (2002): Nutrition: Classification and utilisation of nutrients. In: Swain, D. (Ed.), *Milk production from pasture*. Massey University, New Zealand, pp. 209-234.
164. Horigome, T., Kumar, R., Okamoto, K. (1988): Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes *in vitro* and in the intestine of rats. *British Journal of Nutrition* 60:275-285.
165. Horvath, P.J. (1981): The nutritional and ecological significance of acer-tannins and related polyphenols. M.S. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY, USA
166. Hristov, A.N., Oh, J., Lee, C., Meinen, R., Montes, F., Ott, T., Firkins, J., Rotz, A., Dell, C., Adesogan, A., Yang, W., Tricarico, J., Kebreab, E., Waghorn, G., Dijkstra, J., Oosting, S. (2013): Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production - A review of technical options for non-CO<sub>2</sub> emissions. In: Gerber, P. J., Henderson, B., Makkar, H.P.S. (Eds.), *FAO Animal Production and Health Paper No. 177*. FAO, Rome, Italy.
167. Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., Wang, Y. (2018): Potential and challenges of tannins as an alternative to *in-feed* antibiotics for farm animal production. *Animal Nutrition* 4:137-150.
168. Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Zhang, Y. (2010): Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and Cancer* 62:1-20.
169. Hutchings, M.R., Judge, J., Gordon, I.J., Athanasiadou, S., Kyriazakis, I. (2006): Use of trade-off theory to advance understanding of herbivore-parasite interactions. *Mammal Review* 36:1-16.
170. Iason, G.R., Villalba, J.J. (2006): Behavioural strategies of mammal herbivores against plant secondary metabolites: The avoidance-tolerance continuum. *Journal of Chemical Ecology* 32:1115-1132.
171. ISO (2005): Animal feeding stuffs - Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content - Part 2: Block digestion/steam distillation method. ISO 5983-2, 14 pp.

172. ISO (2008): Animal feeding stuffs - Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents. ISO 13906, 17 pp.
173. Jamroz, D., Wiliczek, A., Skorupinska, J., Orda, J., Kuryszko, J., Tschirch, H. (2009): Effect of sweet chestnut tannin (SCT) on the performance, microbial status of intestine and histological characteristics of intestine wall in chickens. *British Poultry Science* 50:687-699.
174. Javornik, A., Blažič, K., Šehić, N., Snoj, T. (2019): Long-term oral administration of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) extract does not affect the contraction ability of isolated ileum. *Acta veterinaria Brno* 88:219-223.
175. Jayanegara, A., Leiber, F., Kreuzer, M. (2012): Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96:365-375.
176. Jeronimo, E., Alfaia, C.M.M., Alves, S.P., Dentinho, M.T.P., Prates, J.A.M., Vasta, V., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B. (2012): Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer* in combination with vegetable oil supplementation on oxidative stability of lamb meat. *Meat Science* 92:841-847.
177. Jeronimo, E., Alves, S.P., Dentinho, M.T.P., Martins, S.V., Prates, J.A.M., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B. (2010): The effect of grape seed extract and *Cistus ladanifer* L. and vegetable oil supplementation on fatty acid composition of abomasal digesta and intramuscular fat of lambs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:10710-10721.
178. Jeronimo, E., Pinheiro, C., Lamy, E., Dentinho, M.T., Sales-Baptista, E., Lopez, O., Capella e Silva, F. (2016): Tannins in ruminant nutrition: Impact on animal performance and quality of edible products. In: Combs, C.A. (Ed.), *Tannins: Biochemistry, Food Sources and Nutritional Properties*, Nova Science, Inc., New York, pp. 121-168.
179. Jovetić, B. (2020): Uticaj dodavanja tanina u obroke na metabolički profil, proizvodne i reproduktivne osobine krava holštajn-frizijske rase. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Poljoprivredni fakultet.
180. Julier, B., Lila, M., Huyghe, C., Morris, P., Allison, G., Robbins, M. (2003): Effect of condensed tannin content on protein solubility in legume forages. In: Durand, J-L., Emile, J-C., Huyghe, C., Lem (Eds), *Proceedings of the 19<sup>th</sup> General Meeting of the European Grassland Federation. Grassland science in Europe: Multifunctional Grassland: Quality Forages, Animal Products and Landscapes*. Paris, France pp. 134-135.
181. Kelman, W.M., Tanner, G.J. (1990): Foliar condensed tannin levels in Lotus species growing on limed and unlimed soils in South-Eastern Australia. In: Charlton, J.F.L. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. Ashburton, New Zealand, pp. 51-54.
182. Kemperman, R.A., Bolca, S., Roger, L.C., Vaughan, E.E. (2010): Novel approaches for analysing gut microbes and dietary polyphenols: challenges and opportunities. *Microbiology* 156:3224-32231.
183. Khanbabaee, K., Ree, T.V. (2001): Tannins: Classification and Definition. *Natural Product Reports* 18:641-649.
184. Khiaosa-Ard, R., Bryner, S.F., Scheeder, M.R.L., Wettstein, H-R., Leiber, F., Kreuzer, M., Soliva, C.R. (2009): Evidence for the inhibition of the terminal step of  $\alpha$ -linoleic biohydrogenation by condensed tannins. *Journal of Dairy Science* 92:177-188.
185. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B.A., Thiessen, P.A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., Bolton, E.E. (2021): PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces. *Nucleic Acid Research* 49:D1388-D1395.
186. Kleiber, M. (1947): Body size and metabolic rate. *Physiological Reviews* 27: 511-541.
187. Krga, I., Milenković, D. (2019): Anthocyanins: From sources and bioavailability to cardiovascular-health benefits and molecular mechanisms of action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67:1771-1783.
188. Krisper, P., Tišler, V., Skubic, V., Rupnik, I., Kobal, S. (1992): The use of tannin from chestnut (*Castanea vesca*). *Plant polyphenols* 1:1013-1019.

189. Krueger, W.K., Gutierrez-Banuelos, H., Carstens, G.E., Min, B.R., Pinchak, W.E., Gomez, R.R., Anderson, R.C., Krueger, N.A., Forbes, T.D.A. (2010): Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation and carcass and non-carcass traits in steers fed a high grain diet. *Animal Feed Science and Technology* 159:1-9.
190. Kumar, R., Singh, M. (1984): Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 32:447-453.
191. Kumari, M., Jain, S. (2015): Screening of potential sources of tannin and its therapeutic application. *International Journal of Nutrition and Food sciences* 4:26-29.
192. Lamy, E., da Costa, G., Santos, R., Capela e Silva, F., Potes, J., Pereira, A., Coelho, A.V., Sales Baptista, E., (2011a): Effect of condensed tannin ingestion in sheep and goat parotid saliva proteome. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 95:304-312.
193. Lamy, E., Pinheiro, C., Rodrigues, L., Capela e Silva, F., Lopes, O.S., Tavares, S., Gaspar, R. (2016): Determinants of tannin-rich food and beverage consumption: Oral perception vs. Psychosocial aspects. In: Combs, C.A. (Ed.), *Tannins: Biochemistry, Food Sources and Nutritional Properties*. Nova Science, New York, pp. 29-58.
194. Lamy, E., Rawel, H., Schweigert, F.J., e Silva, F.C., Fereira, A., Rodrigues Costa, A., Anutunes, C., Almeida, A.M., Varela Coelho, A., Sales-Baptista, E. (2011b): The effect of tannin on Mediterranean ruminant ingestive behaviour: The role of the oral cavity. *Molecules* 16:2766-2784.
195. Le Bourvellec, C., Renarda, C.M.G.C. (2012): Interactions between polyphenols and macromolecules: quantification methods and mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52:213-248.
196. Lee, J., Harris, P.M., Sinclair, B.R., Treloar, B. (1992): The effect of condensed tannin containing diets on whole body amino acid utilisation in romney sheep: Consequences for wool growth. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 243-245.
197. Lesschaeve, I., Noble, A.C. (2005): Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *The American Journal of Clinical Nutrition* 81:330S-335S.
198. Levin, D.A. (1976): The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. *Annual Review of Ecology and Systematics* 7:121-159.
199. Li, W., Yao, R., Xie, L., Liu, J., Weng, X., Yue, X., Li, F. (2021): Dietary supplementation of grape seed tannin extract stimulated testis development, changed fatty acid profiles and increased testis antioxidant capacity in pre-puberty Hu lambs. *Theriogenology* 172:160-168.
200. Li, X., Jiao, W., Zhang, W., Xu, J., Cao, J., Jiang, W. (2019): Characterizing the interactions of dietary condensed tannins with bile salts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67:9543-9550.
201. Li, Y.G., Tanner, G., Larkin, P. (1996): The DMCA-HCl protocol ant the threshold proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes. *Science of Food and Agriculture* 70:89-101.
202. Lima, P.R., Apdini, T., Freire, A.S., Santana, A.S., Moura, L.M.L., Nascimento, J.C.S., Rodrigues, R.T.S., Dijkstra, J., Garcez Neto, A.F., Queiroz, M.A.A., Menezes, D.R. (2019): Dietary supplementation with tannin and soybean oil on intake, digestibility, feeding behavior, ruminal protozoa and methane emission in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 249:10-17.
203. Lindh, L., Aroonsang, W., Sotres, J., Arnebrant, T. (2014): Salivary pellicles. In: Ligtenberg, A.J.M., Veerman, E.C.I. (Eds.), *Saliva: Secretions and Functions*. Monographs in oral science, Karger AG, pp. 30-39.
204. Liu, H., Li, K., Mingbin, L., Zhao, J., Xiong, B. (2016): Effect of chestnut tannins on the meat quality, welfare, and antioxidant status of heat stressed lambs. *Meat science* 116:236-242.



205. Liu, H., Vaddella, V., Zhou, D. (2011): Effect of chestnut tannins and coconut oil on growth performance, methane emission, ruminal fermentation, and microbial populations in sheep. *Journal of Dairy Science* 94:6069-6077.
206. Liu, H.W., Zhou, D.W., Li, K. (2013): Effect of chestnut tannins on performance and antioxidative status of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96:5901-5907.
207. Lobon, S., Sanz, A., Blanco, M., Ripoll, G., Joy, M. (2017): The type of forage and condensed tannins in dam's diet: influence on meat shelf life of their suckling lambs. *Small Ruminant research* 154:115-122.
208. Lopez-Andres, P., Luciano, G., Vasta, V., Gibson, T.M., Biondi, L., Priolo, A., Muller-Harvey, I. (2013): Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. *British Journal of Nutrition* 110:632-639.
209. Lorenz, M.M., Alkhafadji, L., Stringano, E., Nilsson, S., Mueller-Harvey, I., Uden, P. (2013): Relationship between condensed tannin structures and their ability to precipitate feed proteins in the rumen. *Journal of Science of Food and Agriculture* 94:963-968.
210. Lowry, J.B., McSweeney, C.S., Palmer, B. (1996): Changing perceptions of the effect of plant phenolics on nutrient supply in the ruminant. *Australian Journal of Agricultural Research* 47:829 – 842.
211. Luciano, G., Monahan, F.J., Vasta, V., Biondi, L., Lanza, M., Priolo, A., (2009): Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Science* 81:120- 125.
212. Luciano, G., Vasta, V., Monahan, F.J., López-Andrés, P., Biondi, L., Lanza, M., Priolo, A. (2011): Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of *longissimus dorsi* muscle from lambs fed a tannin containing diet. *Food Chemistry* 124:1036-1042.
213. Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C.P., Estévez, M. (2011): Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research* 55:83- 95.
214. Mahachi, L.N., Chikwanha, O.C., Katiyatiya, C.L., Marufu, M.C., Aremu, A.O., Mapiye, C. (2020): *Sericea lespedeza* (*Lespedeza juncea* var. *sericea*) for sustainable small ruminant production: feed, helminth suppressant and meat preservation capabilities. *Animal Feed Science and Technology* 270:114688.
215. Maheri-Sis, N., Chaichi Semsari, M., Eshratkhah, B., Sadaghian, M., Gorbani, A., Hassanpour, S. (2011): Evaluation of the effects of Quebracho condensed tannin on faecal egg counts during naturally acquired mixed nematode infections in Moghani sheep. *Annals of Biological Research* 2:170-174.
216. Majewska, M.P., Miltko, R., Belzecki, G., Kedzierska, A., Kowalik, B. (2022): Comparison of the effect of synthetic (tannic acid) or natural (oak bark extract) hydrolysable tannins addition on fatty acid profile in the rumen of sheep. *Animals* 12:699:2-12.
217. Makkar, H.P.S. (2000): Quantification of tannins in tree foliage - a laboratory manual. A joint FAO-IAEA working document, Vienna, Austria.
218. Makkar, H.P.S. (2003): Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research* 49:241-256.
219. Makkar, H.P.S., Becker, K., Abel, H.J., Szegletti, C. (1995a): Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentation processes in the RUSITEC. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 69:495-500.
220. Makkar, H.P.S., Blummel, M., Becker, K. (1995b): Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility *in vitro* technique. *British Journal of Nutrition* 73:897-913.
221. Makkar, H.P.S., Francis, G., Becker, K. (2007): Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal* 1:1371-1391.

222. Makkar, H.P.S., Singh, B. (1992): Effect of wood ash on tannin content of oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. *British Journal of Nutrition* 60:287-296.
223. Makkar, H.P.S., Singh, B., Dawra, R.K. (1988): Effect of tannin-rich leaves of oak on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. *British Journal of Nutrition* 60:287-296.
224. Makkar, H.P.S., Vercoe, P.E. (2017): Measuring methane production from ruminants. FAO, IAEA, Springer, Netherlands, pp. 1-13.
225. Mancini, S., Moruzzo, R., Minieri, S., Turch, B., Cerri, D., Gatta, D., Sagona, S., Felicioli, A., Paci, G. (2019): Dietary supplementation of quebracho and chestnut tannins mix in rabbit: effects on live performances, digestibility, carcass traits, antioxidant status, faecal microbial load and economic value. *Italian Journal of Animal Science* 18:621-629.
226. Manelli, F., Daghighi, M., Alves, S.P., Bessa, R.J.B., Minieri, S., Giovanetti, L., Conte, G., Melle, M., Messini, A., Rapaccini, S., Viti, C., Buccioni, A. (2019): Effect of chestnut tannin extract, vescalagin and gallic acid on dimethyl acetals profile and microbial community composition in rumen liquor: An *in vitro* study. *Microorganisms* 7:1-16.
227. Marin, L., Miguez, E.M., Villar, C.J., Lombo, F. (2015): Bioavailability of Dietary Polyphenols and Gut Microbiota Metabolism: Antimicrobial Properties. *BioMed Research International* 1-18.
228. Martin, A.K. (1982): The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. 3. The metabolism of phenolic compounds to simple phenols. *British Journal of Nutrition*. 48:497-504.
229. Maschek, J.A., Baker, B.J. (2008): The chemistry of algal secondary metabolism: In: Amsler, C.D. (Ed.), *Algal Chemical Ecology*. Springer-Verlag, Berlin, Germany pp. 1-24.
230. Mashudi, I.M., Brookes, A., Holmes C.W., Holmes G.F. (1997): Effect of mimosa bark extract containing condensed tannins on rumen metabolism in sheep and milk production by grazing cows. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 126-129.
231. Mata Padrino, D.J., Belesky, D.P., Crawford, C.D., Walsh, B., MacAdam, J.W., Bowdridge, S.C. (2019): Effects of grazing birdsfoot trefoil-enriched pasture on managing *Haemonchus contortus* infection in Suffolk crossbred lambs. *Journal of Animal Science* 97:172-183.
232. Mavri, M., Čandek-Potokar, M., Fazarinc, G., Škrlep, M., Rutland, C.S., Potočnik, B., Batorek-Lukač, N., Kubale, V. (2022): Salivary glands adaptation to dietary inclusion of hydrolysable tannins in boars. *Animals* 12:1-14.
233. McAllister, T.A., Bae, H.D., Jones, G.A., Cheng, K.J. (1994): Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of Animal Science* 72:3004-3018.
234. McMahan, L.R., Majak, W., McAllister, T.A., Hall, J.W., Jones, G.A., Popp, J.D., Cheng, K.J. (1999b): Effect of sainfoin on *in vitro* digestion of fresh alfalfa and bloat in steers. *Canadian Journal of Animal Science* 1:203-212.
235. McMahan, L.R., McAllister, T.A., Berg, B.P., Majak, W., Acharya, S.N., Popp, J.D., Coulman, B.E., Wang, Y., Cheng, K.J. (1999a): A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of plant science* 469-486.
236. McNabb, W.C., Waghorn, G.C., Barry, T.N., Shelton, I.D. (1993): The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the digestion and metabolism of methionine, cystine and inorganic sulphur in sheep. *British Journal of Nutrition* 70:647-661.
237. McNeill, D.M., Komolong, M., Gobiun, N., Barber, D. (2000): Influence of dietary condensed tannins on microbial CP supply in sheep. In: Brooker, J.D. (Ed.), *Proceedings of the International Workshop on Tannins in Livestock and Human Nutrition ACIAR*. Adelaide Australia, pp. 57-61.
238. 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* 91:1-2.

239. Mechineni, A., Kommuru, D.S., Terrill, T.H., Kouakou, B., Lee, J.H., Gujja, S., Burke, J.M., Kannan, G. (2020): Forage type and transportation stress effects on gut microbial counts and meat quality in goats. *Canadian Journal of Animal Science* 101:126-133.
240. Mekić, C., Latinović, D., Grubić, G. (2007): Odgajivanje, reprodukcija, selekcija i ishrana ovaca. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
241. Mellway, R.D., Constabel, C.P., (2009): Metabolic engineering and potential functions of proanthocyanidins in poplar. *Plant Signaling and Behavior* 4:790-792.
242. Mendez-Ortiz, F.A., Sandoval-Castro, C.A., Ventura-Cordero, J., Sarmiento-Franco, L.A., Torres-Acosta, J.F.J. (2018): Condensed tannin intake and sheep performance: A meta-analysis on voluntary intake and live weight change. *Animal Feed Science and Technology* 245:67-76.
243. Messini, A., Buccioni, A., Minieri, S., Mannelli, F., Mugnai, L., Comparini, C., Venturi, M., Viti, C., Pezzati, A., Rapaccini, S. (2017): Effect of chestnut tannin extract (*Castanea sativa* Miller) on the proliferation of *Cladosporium cladosporoides* on sheep cheese rind during the ripening. *International Dairy Journal* 66:6-12.
244. Mezzomo, R., Paulino, P.V.R., Barbosa, M.M., da Silva Martins, T., Paulino, M.F., Alves, K.S., Gomes, D.I., dos Santos Monnerat, J.P.I. (2016): Performance and carcass characteristics of young cattle fed with soybean meal treated with tannins. *Animal Science Journal* 87:775-782.
245. Mezzomo, R., Paulino, P.V.R., Detmann, E., Teixeira, C.R.V., Alves, L.C., Assuncao, R.N. (2015): Tannin on non-degradable digestible protein from protein sources in cattle rumen. *Acta Scientiarum, Animal Science* 37:389-395.
246. Mezzomo, R., Paulino, P.V.R., Detmann, E., Valadares Filho, S.C., Paulino, M.F., Monnerat, J.P.I.S., Duarte, M.S., Silva, L.H.P., Moura, L.S. (2011): Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. *Livestock Science* 141:1-11.
247. Miller, P.R., Ehlke, N.J. (1997): Inheritance of condensed tannins in birdsfoot trefoil. *Canadian Journal of Plant Science* 77:587-593.
248. Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T., McNabb, W.C. (2003a): The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperature forages. A review. *Animal Feed Science and Technology* 106:3-19.
249. Min, B.R., Frank, A., Gurung, N., Lee, J.H., Joo, W., Pacheco, W. (2019): Peanut skin in diet alters average daily gain, ruminal and blood metabolites, and carcass traits associated with *Haemonchus contortus* in meat goats. *Animal Nutrition* 5:278-285.
250. Min, B.R., Hart, S.P. (2003b): Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science* 81:102-109.
251. Min, B.R., McNabb, W.C., Barry, T.N., Peters, J.S. (2000): Solubilization and degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase (EC 4.1.139; Rubisco) protein from white clover (*Trifolium repens*) and *Lotus corniculatus* by rumen microorganisms and the effect of condensed tannins on these processes. *Journal of agricultural science* 134:305-317.
252. Min, B.R., Pinchak, W.E., Anderson, R.C., Fulford, J.D., Puchala, R. (2006): Effect of condensed tannins supplementation level on weight gain and in vitro and in vivo bloat precursors in steers grazing winter wheat. *Journal of Animal Science* 84:2546-2554.
253. Min, B.R., Solaiman, S. (2018): Comparative aspect of plant tannins on digestive physiology, nutrition and microbial community changes in sheep and goats – A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 102:1181-1193.
254. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije (2022): Sistem tržišnih informacija poljoprivrede Srbije (STIPS). <https://www.stips.minpolj.gov.rs/srl>.
255. Mkhize, N.R., Heitkonig, I.M.A., Scogings, P.F., Dziba, L.E., Prins, H.H.T., de Boer, W.F. (2018): Effect of condensed tannins on live weight, faecal nitrogen and blood metabolites of free ranging female goats in semi-arid African savanna. *Small Ruminant Research* 166:28-34.

256. Mohammadabadi, T., Jolazadeh, A., Ghezi, Z. (2020): Effect of treated *Conocarpus erectus* L. leaves with *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter* as tannin-degrading bacteria on digestion activity of rumen microorganisms. *Biotechnology in Animal Husbandry* 36:1-16.
257. Molan, A.L., Attwood, G.T., Min, B.R., McNabb, W.C. (2001): The effect of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic rumen bacteria *in vitro* and their possible mode of action. *Canadian Journal of Microbiology* 47:626-633.
258. Molan, A.L., Duncan, A.J., Barry, T.N., McNabb, W.C. (2003): Effects of condensed tannins and crude sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworm and gastrointestinal nematodes. *Parasitology International* 52:209-218.
259. Molan, A.L., Waghorn, G.C., Min, B.R., McNabb, W.C. (2000): The effect of condensed tannins from seven herbage on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration *in vitro*. *Folia Parasitologica* 47:39-44.
260. Molino, S., Fernandez-Miyakawa, M., Giovando, S., Rufian-Henares, J.A. (2018): Study of antioxidant capacity and metabolization of quebracho and chestnut tannins through *in vitro* gastrointestinal digestion-fermentation. *Journal of Functional Foods* 49:188-195.
261. Molle, G., Decandia, M., Giovanetti, V., Cabiddu, A., Fois, N., Sitzia, M. (2009): Responses to condensed tannins of flowering sulla (*Hedysarum coronarium* L.) grazed by dairy sheep. Part 1: Effects on feeding behaviour, intake, diet digestibility and performance. *Livestock science* 123:138-146.
262. Molle, G., Decandia, M., Solter, U., Greef, J.M., Rochon, J.J., Sitzia, M., Hopkins, A., Rook, A.J. (2008): The effect of different legume-based swards on intake and performance of grazing ruminants under Mediterranean and cool temperature conditions. *Grass and Forage Science* 63:513-530.
263. Molosse, V.L., Deolindo, G.L., Cecere, B.G., Marcon, H., Da Rosa, G., Vedovatto, M., Zotti, C.A., Silva, A.D., Fracasso, M., Morsch, V.M., Carvalho, R.A., Pereira, W.A.B., Da Silva, A.S. (2021): Effect of dietary supplementation with grape residue flour on weight gain, metabolic profile, leukogram, proteinogram and antioxidant response in suckling lambs. *Research in Veterinary Science* 139:112-120.
264. Morales, R., Ungerfeld, E.M. (2015): Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: a review. *Chilean Journal of Agricultural Research* 75:239-248.
265. Morzel, M., Siying, T., Brignot, H., Lherminier, J. (2014): Immunocytological detection of salivary mucins (MUC5B) on the mucosal pellicle lining human epithelial buccal cells. *Microsc. Res. Tech.* 77:453-7.
266. Mote, T.A., Villalba, J.J., Provenza, F.D. (2007): Relative availability of tannin- and terpene-containing food affects food intake and preference by lambs. *Journal of Chemical Ecology* 33:1197-1206.
267. 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.
268. Mueller-Harvey, I., McAllan, A.B. (1992): Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: Morrison, I.M. (Ed.): *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*, JAI Press, Ltd., London, United Kingdom pp. 151-217.
269. Muir, J.P., Terill, T.H., Mosjidis, J.A., Luginbuhl, J-M., Miller, J.E., Burke, J.M., Coleman, S.W. (2017): Season progression, Ontogenesis and Environment affect *Lespedeza cuneata* Herbage Condensed Tannin, Fiber, and Crude Protein Concentrations. *Crop Science* 57:515-524.
270. Mupeyo, B., Barry, T.N., Pomroy, W.E., Ramírez-Restrepo, C.A., Lopez-Villalobos, N., Pernthaner, A. (2011): Effects of feeding willow (*Salix* spp.) upon death of established parasites and parasite fecundity. *Animal Feed Science and Technology* 164:8-20.
271. Murdiati, T.B., McSweeney, C.S., Campbell, R.S.F., Stoltz, D.S. (1990): Prevention of hydrolyzable tannin toxicity in goats fed *Clidemia hirta* by calcium hidroxide supplementation. *Journal of Applied Toxicology* 10:325-340.

272. Murdiati, T.B., McSweeney, C.S., Lowry, J.B. (1992): Metabolism in Sheep of Gallic Acid, Tannic Acid and Hydrolysable Tannin from *Temninalia oblongata*. Australian Journal of Agricultural Research 43:1307-1319.
273. Nagayama, K., Iwamura, Y., Shibata, T., Hirayama, I., Nakamura, T. (2002): Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. The journal of antimicrobial chemotherapy 50:889-893.
274. Nakamura, Y., Tsuji, S., Tonogai, Y. (2003): Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: application to tannic acid metabolism in the rat. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:331-339.
275. Naumann, H.D., Tedeschi, L.O., Zeller, W.E., Huntley, N.F. (2017): The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. Brazilian Journal of Animal Science 46:929-949.
276. Niderkorn, V., Baumont, R., Le Morvan, A., Machebouf, D. (2011): Occurrence of associative effects between grasses and legumes in binary mixtures on *in vitro* rumen fermentation characteristics. Journal of Animal Science 89:1138-1145.
277. Niderkorn, V., Mueller-Harvey, I., Le Morvan, A., Aufrere, J. (2012): Synergistic effects of mixing cocksfoot and sainfoin on *In vitro* rumen fermentation. Role of condensed tannins. Animal Feed Science and Technology 178:48-56.
278. Niezen, J.H, Robertson, H.A, Waghorn, G.C, Charleston, W.A.G. (1998): Production, faecal egg counts and worm burdens of ewe lambs which grazed six contrasting forages. Veterinary parasitology 80:15-27.
279. Norris, A., B., Crossland, W., L., Tedeschi, L.O., Foster, J.L., Muir, J.P., Pinchak, W.E., Fonseca, M.A. (2020): Inclusion of quebracho tannin extract in a high-roughage cattle diet alters digestibility, nitrogen balance, and energy partitioning. Journal of animal science 98:3 <https://doi.org/10.1093/jas/skaa047>
280. Novobilsky, A., Mueller-Harvey, I., Thamsborg, S.M. (2011): Condensed tannins act against cattle nematodes. Veterinary Parasitology 182:213-220.
281. O'Donovan, L., Brooker, J.D. (2001): Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of *Streptococcus gallolyticus* (*S. caprinus*) and *Streptococcus bovis*. Microbiology 147:1025-1033.
282. Oracz, J., Zyzelewicz, D., Pacholczyk-Sienicka, B. (2022): UHPLC-DAD-ESI-HRMS/MS profile of phenolic compounds in northern red oak (*Quercus rubra* L., syn. *Q. borealis* F. Michx) seeds and its transformation during thermal processing. Industrial Crops and Products <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115860>.
283. Orlandi, T., Stefanello, S., Mezzomo, M.P., Pozo, C.A., Kozloski, G.V. (2020): Impact on tannin extract on digestibility and net flux of metabolites across splanchnic tissues of sheep. Animal Feed Science and Technology <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114384>.
284. Ortiz, B., Camacho, A., Villalba, N.E., Flores, L.R., Mariezcurrena, M.A., Mariezcurrena, M.D., Barajas, R. (2013): Influence of tannins extract supplementation at low level on feedlot performance of Katahdin x Pelibuey hair-lambs. Journal of Animal Science 91:497 (abstract).
285. Ozdal, T., Capanoglu, E., Altay, F. (2013): A review on protein-phenolic interactions and associated changes. Food Research International 51:954-970.
286. Paengkoum, T., Phonmun, T., Liang, J.B., Huang, X.D., Tan, H.Y., Jahromi, M.F. (2015): Molecular weight, protein binding affinity and methane mitigation of condensed tannins from mangosteen-peel (*garcinia mangostana* l). Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 28:1442-1448.
287. Pandurangan, A.K., Periasamy, S., Anandasadagopan, S.K., Ganapasam, S., Srinivasalu, S.D.C. (2012): Green tea polyphenol protection against 4-nitroquinoline 1-oxide-induced bone marrow lipid peroxidation and genotoxicity in Wistar rats. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 13:4107-4112.

288. Patra, A.K., Saxena, J. (2011): Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Food Science and Agriculture* 91:24-37.
289. Perez-Maldonado, A., Norton, B.W. (1996): The effects of condensed tannins from *Desmodium intortum* and *Calliandra calothyrsus* on protein and carbohydrate digestion in sheep and goats. *British Journal of Nutrition* 76:515-533.
290. Petrović, M. (2006): Stvaranje mesnate rase ovaca. Institut za stočarstvo, Beograd.
291. Piluzza, G., Sulas, L., Bullitta, S. (2014): Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: a review. *Grass and Forage Science* 69:32-48.
292. Pimentel, P.R.S., Pellegrini, C.B., Lanna, D.P.D., Brant, L.M.S., Ribeiro, C.V.D.M., Silva, T.M., Barbosa, A.M., da Silva Junior, J.M., Bezera, L.R., Oliveira, R.L. (2020): Effect of *Acacia mearnsii* extract as a condensed-tannin source on animal performance, carcass yield and meat quality in goats. *Animal feed science and technology* <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114733>.
293. [Pineiro-Vazquez, A.Z., Canul-Solis, J.R., Alayon-Gamboa, J.A., Chay-Canul, A.J., Ayala-Burgos, A.J., Aguilar-Perez, C.F., Solorio-Sanchez, F.J., Ku-Vera, J.C. \(2015\):](#) Potential of condensed tannins for the reduction of emissions of enteric methane and their effect on ruminant productivity. *Archivos de Medicina Veterinaria* 47:263-272.
294. Pirman, T., Orešnik, A. (2016): Effect of sweet chestnut extract (Farmatan) on the digestibility and bioavailability of nitrogen and some minerals in the laboratory rats. *Acta agriculturae Slovenica* 108:9-16.
295. Poli, C.H.E.C., Hodgson, J., Arnold, G.C., Cosgrove, G.P. (1998): The effect of secondary compounds of birdsfoot trefoil and red clover on dairy cow grazing preferences. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 110-112
296. Prevolnik, M., Škrlep, M., Brus, M., Pugliese, C., Čandek-Potokar, M., Škorjanc, D. (2012): Supplementing pig diet with 0.2% sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract had no effect on growth, carcass or meat quality. *Acta agriculturae Slovenica, Supplement* 3:83-88.
297. Priolo, A., Bella, M., Lanza, M., Galofaro, V., Biondi, L., Barbagallo, D., Salem, H.B., Pennisi, P. (2005): Carcass and meat quality of lambs fed fresh sulla (*Hedysarum coronarium* L.) with or without polyethylene glycol or concentrate. *Small Ruminant Research* 59:281-288.
298. Priolo, A., Ben Salem, H., Atti, N., Nafzaoui, A. (2002): Polyethylene glycol in concentrate or feedblocks to deactivate condensed tannins in *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage. 2. Effects on meat quality of Barbarine lambs. *Animal Science* 75:137-140.
299. Priolo, A., Lanza, M., Biondi, L., Pappalardo, P., Young, A. (1998): Effect of partially replacing dietary barley with 20% carob pulp on post-weaning growth, and carcass and meat characteristics of Comisana lambs. *Meat Science* 50:355-363.
300. Priolo, A., Vasta, V., Fasone, V., Lanza, C.M., Scerra, M., Biondi, L., Bella, M., Whittington, F.M. (2009): Meat odour and flavour and indoles concentration in ruminal fluid and adipose tissue of lambs fed green herbage or concentrates with or without tannins. *Animal* 3:454-460.
301. Priolo, A., Waghorn, G.C., Lanza, M., Biondi, L., Pennisi, P. (2000): Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: Effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal of Animal Science* 78:810-881.
302. Priolo, Q., Vasta, V. (2007): Effects of tannin-containing diets on small ruminant meat quality. *Italian Journal of Animal Science* 6:527-530.
303. Prodanović, R., Nedić, S., Simeunović, P., Borožan, S., Nedić, S., Bojkovski, J., Kirovski, D., Vujanac, I. (2021): Effect of chestnut tannins supplementation of prepartum moderate yielding dairy cows on metabolic health, antioxidant and colostrum indices. *Annals of Animal Science* <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0077>.

304. Puchala, R., Min, B.R., Goetsch, A.L., Sahlu, T. (2005): The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *Journal of Animal Science* 83:182–186.
305. Pulina, G., Francesconi, A.H.D., Stefanon, B., Sevi, A., Calamari, L., Lacetera, N., Dell'Orto, V., Pilla, F., Marsan, P.M., Mele, M. (2017): Sustainable ruminant production to help feed the planet. *Italian Journal of Animal Science* 16:140–171.
306. Ramirez-Restrepo, C.A., Barry, T.N. (2005): Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants – review. *Animal Feed Science and Technology* 120:179–201.
307. Ramirez-Restrepo, C.A., Barry, T.N., Lopez-Villalobos, N., Kemp, P.D., Pomroy, W.B., McNabb, W.C., Harvey, T.G., Shabolt, N.M. (2002): Use of *Lotus corniculatus* to increase sheep production under commercial dryland farming conditions without the use of anthelmintics. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 177-178.
308. Ramirez-Restrepo, C.A., Barry, T.N., Lopez-Villalobos, N., Kemp, P.D., McNabb, W.C. (2004): Use of *Lotus corniculatus* containing condensed tannins to increase lamb and wool production under commercial dryland farming conditions without the use of anthelmintics. *Animal Feed Science and Technology* 117:85-105.
309. Rana, M.S., Tyagi, A., Hossain, S.A., Tyagi, A.K. (2012): Effect of tanniniferous *Terminalia chebula* extract on rumen biohydrogenation,  $\Delta^9$ - desaturase activity, CLA content and fatty acid composition in *longissimus dorsi* muscle of kids. *Meat Science* 90:558-563.
310. Reed, J.D. (1995): Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science* 73:1516-1528.
311. Renard, M.G.C.C., Watrelot, A.A., Le Bourvellec, C. (2017): Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science and Technology* 60:43-51.
312. Rezar, V., Salobir, J. (2014): Effects of tannin-rich sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract supplementation on nutrient utilisation and excreta dry matter content in broiler chickens. *European Poultry Science* 78:1-10.
313. Rice, M., Jongman, E.C., Borg, S., Butler, K.L., Hemsworth, P.H. (2016a): Characterisation of Shy-feeding and feeding lambs in the first week in a feedlot. *Applied Animal Behaviour Science* 179:39-45.
314. Rice, M., Jongman, E.C., Butler, K.L., Hemsworth, P.H. (2016b): Relationships between temperament, feeding behaviour, social interactions, and stress in lambs adapting to a feedlot environment. *Applied Animal Behaviour Science* 183:42-50.
315. Rinaldi, A., Moio, L. (2020): Salivary protein-tannin interaction: The binding behind astrigency. In: Rinaldi, A. (Ed.) *Winemaking – Stabilization, Aging Chemistry and Biochemistry*, IntechO pp. 1-27.
316. Rivera-Mendez, C., Plascencia, A., Torrentera, N., Zinn, R.A. (2017): Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase. *Journal of Applied Animal Research* 45:199-203.
317. Rojas-Roman, L.A., Castro-Perez, B.I., Estrada-Angulo, A., Angulo-Montoya, C., Yocupicio-Rocha, J.A., Lopez-Soto, M.A., Barreras, A., Zinn, R.A., Plascencia, A. (2017): Influence of long-term supplementation of tannins on growth performance, dietary net energy and carcass characteristics: finishing lambs. *Small Ruminant Research* 153:137-141.
318. Romani, A., Campo, M., Pinelli, P. (2012): HPLC/DAD/ESI-MS analyses and anti-radical activity of hydrolyzable tannins from different vegetal species. *Food Chemistry* 130:214-221.
319. Romani, A., Simone, G., Campo, M., Moncini, L., Bernini, R. (2021): Sweet chestnut standardized fractions from sustainable circular process and green tea extract: *In vitro* inhibitory activity against phytopathogenic fungi for innovative applications in green agriculture. *PLOS One* 16:1-16.

320. Ropiak, H.M., Lachmann, P., Ramsay, A., Green, R.J., Mueller-Harvey, I. (2017): Identification of structural features of condensed tannins that affect protein aggregation. *PLOS One* 12:1-23.
321. Rutter, S.M. (2006): Diet preference for grass legumes in free-ranging domestic sheep and cattle: a current theory and future application. *Applied animal behaviour science* 97:17-35.
322. Ružić-Muslić, D., Petrović, M.P., Bijelić, Z., Caro Petrović, V., Maksimović, N., Cekić, B., Ćosić, I. (2020): Management of lamb nutrition as a way for modeling fatty acid profiles in meat. *Biotechnology in Animal Husbandry* 36:127-138.
323. Sahoo, A. (2011): Fate and bioavailability of tannins in human and animals: Gut microbial transformations. In: Petridis, G.K. (Ed.), *Tannins: Types, Foods Containing, and Nutrition*. Nova Science, New York, pp. 139-160.
324. Salem, A.Z.M., López, S., Ranilla, M.J., González, J.S. (2013) Short- to medium-term effects of consumption of quebracho tannins on saliva production and composition in sheep and goats. *Journal of Animal Science* 91:1341-1349.
325. Sallam, S.M.A., Attia, M.F.A., Nour El-Din, A.N.M., El-Zarkony, S.Z., Saber, A.M., El-Zaiat, H.M., Zeitoun, M.M. (2019): Involvement of Quebracho tannins in diet alters productive and reproductive efficiency of postpartum buffalo cows. *Animal Nutrition* 5:80-86.
326. Salobir, J., Kostanjevec, B., Štruklec, M., Salobir, K. (2005): Tannins reduce protein but not phosphorus utilization of diet with added phytase in pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences* 14:277-282.
327. Sanchez-Martin, J., Beltran-Heredia, J., Delgado-Regana, A., Rodriguez-Gonzalez, M.A., Rubio-Alonso, F. (2013): Optimization of tannin rigid foam as adsorbents for wastewater treatment. *Industrial Crops & Products* 49:507-514.
328. Santiago, L., America, M., Gustavo, B. (2019): Effect of condensed tannins in *Lotus uliginosus* cv. E-Tanin and/or extracts of quebracho and chestnut in carcass and lamb meat. *Agrociencia Uruguay* 23:1-7.
329. Sarnataro, C., Spanghero, M. (2020): *In vitro* rumen fermentation of feed substrates added with chestnut tannins or an extract from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Animal Nutrition* 6:54-60.
330. Savić, M. (2011): Svojstva i značaj polifenola - Monogradija. Institut za ekonomiku poljoprivrede Beograd.
331. Scalbert, A., Williamson, G. (2000): Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition* 130:2073S-2085S.
332. Schofield, P., Mbugua, D.M., Pell, A.N. (2001): Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology* 91:21-40.
333. Schreurs, N.M., Tavendale, M.H., Lane, G.A., Barry, T.N., McNabb, W.C., Cummings, T., Fraser, K., Lopez-Villalobos, N. (2007): The effect of supplementation of a white clover or perennial ryegrass diet with grape seed extract on indole and skatole metabolism and sensory characteristics of lamb. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87:1030-1041.
334. Schreurs, N.M., Tavendale, M.H., Lane, G.A., Barry, T.N., Marotti, D.M., McNabb, W.C. (2003): Postprandial indole and skatole formation in the rumen when feeding white clover, perennial ryegrass and *Lotus corniculatus*, In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 14-17.
335. Scioneaux, A.N., Schmidt, M.A., Moore, M.A., Lindroth, R.L., Wooley, S.C., Hagerman, A.E. (2011): Qualitative Variation in Proanthocyanidin Composition of *Populus* Species and Hybrids: Genetics is the Key. *Journal of Chemical Ecology* 37:57-70.
336. Sels, B., Philippaerts, A. (2014) *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*. Royal Society of Chemistry 1-65.
337. Selje, N., Hoffman, E.M., Muetzel, S., Ningrat, R., Wallace, R.J., Becker, K. (2007): Results of screening programme to identify plants or plant extracts that inhibit ruminal protein degradation. *British Journal of Nutrition* 98:45-53.



338. Seoni, E., Battacone, G., Silacci, P., Ampuero Kragten, S., Messadene Ghelali, J., Dohme-Meier, F., Bee, G. (2018): Effect of condensed tannins from Birdsfoot trefoil and dietary protein level on growth performance, carcass composition and meat quality of ram lambs. *Small Ruminant Research* 169:118-126.
339. Serrano, J., Pimi, R.P., Dauer, A., Aura, A.M., Calixto, F.S. (2009): Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular nutrition and food research* 53:310-329.
340. Sharma, K, Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., Gat, Y., Kumar, A. (2019): Health effects, sources, utilization and safety of tannins: a critical review. *Toxin Reviews* <https://doi.org/10.1080/15569543.2019.1662813>.
341. Shimada, T. (2006): Salivary Proteins as a Defense Against Dietary Tannins. *J. Chem. Ecol.* 32:1149-1163.
342. Shingfield, K.J., Wallace, R.J.W. (2014): Synthesis of Conjugated Linoleic Acid in ruminants and humans. In: Sels, B., Philippaerts, A. (Eds.), *Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils*. European Journal of Lipid Science and Technology, Weinheim, pp. 1-65.
343. Silanikove, N., Perevolotsky, A., Provenza, F. D. (2001): Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 91:69-81.
344. Singh, B., Bhat, T.K., Sharma, O.P. (2001): Biodegradation of tannic acid in an in vitro ruminal system. *Livestock Production Science* 68:259-262.
345. Singleton, V.L., Rossi, A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144.
346. Sivka, U., Lavrenčić, A. (2007): The effect of sweet chestnut extract (Farmatan®) on kinetics of *in vitro* cellulose fermentation. *Krmiva* 49:127-132.
347. Sliwinski, B.J., Kreuzer, M., Wettstein, H-R., Machmuller, A. (2002): Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins, and associated emissions of nitrogen and methane. *Archives of Animal Nutrition* 56:379-392.
348. Službeni glasnik Republike Srbije. 14/2010. Pravilnik o uslovima i sredstvima za lišavanje životinja života, načinu postupanja sa životinjama neposredno pre klanja, načinu omamljivanja i iskrvarenja životinja, uslovima i načinu klanja životinja bez prethodnog omamljivanja, kao i programu obuke o dobrobiti životinja tokom klanja. Beograd: JP „Službeni glasnik“ (in Serbian).
349. Službeni glasnik Republike Srbije. 41/2009. Zakon o dobrobiti životinja. Beograd: JP „Službeni glasnik“ (in Serbian).
350. Službeni list SFRJ. 15/87. Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizičkih, hemijskih i mikrobioloških analiza stočne hrane. Beograd. JP „Službeni list“ (in Serbian).
351. Službeni list SFRJ. 2/85. Pravilnik o kvalitetu mesa stoke za klanje, peradi i divljači. Beograd. JP „Službeni list“ (in Serbian).
352. Soares, S., Brandao, E., Garcia-Estevez, I., Fonseca, F., Guerreiro, C., Ferreira da Silva, F., Mateus, N., Deffieux, D., Quideau, S., de Freitas, V. (2019): Interaction between ellagitannins and salivary proline-rich proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67:9579-9590.
353. Soares, S., Kohl, S., Thalmann, S., Mateus, N., Meyerhof, W. (2013): Different Phenolic Compounds Activate Distinct Human Bitter Taste Receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:1525-1533.
354. Soares, S., Mateus, N., de Freitas, V. (2007): Interaction of different polyphenols with bovine serum albumin (BSA) and human salivary alpha-amylase (HSA) by fluorescence quenching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:6726-6735.
355. Soares, S., Mateus, N., de Freitas, V. (2012): Interaction of different classes of salivary proteins with food tannins. *Food Research International* 49:807-813.

356. Spina, S., Zhou, X., Segovia, C., Pizzi, A., Romagnoli, M., Giovando, S., Pasch, H., Rode, K., Demotte, L. (2013): Phenolic resin adhesives based on chestnut (*Castanea sativa*) hydrolysable tannins. *Journal of Adhesive Science and Technology*, 27:2103-2111.
357. Statsoft, Inc. (2003): Statistica for Windows (Data Analysis Software System), release 7.0, Inc., Tulsa, OK, USA.
358. Stienzen, M., Waghorn, G.C., Douglas, G.B. (1996): Digestibility and effects of condensed tannins on digestion of sulla (*Hedysarum coronarium*) when fed to sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 39:215-221.
359. Stringano, E., Hayot Carbonero, C., Smith, L.M.J., Brown, R.H., Mueller-Harvey, I. (2012): Proanthocyanidin diversity in the EU „Healthy Hay“ sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) germplasm collection. *Phytochemistry* 77:197-208.
360. Taghizadeh, A., Basharati, M. (2011): Tannin and its effects in animal nutrition. In: Petridis, G.K. (Ed.), *Tannins, Types, Foods Containing, and Nutrition*. Nova Science, Inc., New York, pp. 113-138.
361. Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., Conte, A. (2005): Effect of Some Phenolic Compounds and Beverages on Pepsin Activity during Simulated Gastric Digestion. *J. Agric. Food Chem.* 53:8706–8713.
362. Takechi, M., Tanaka, Y. (1987): Binding of 1,2,3,4,6,-pentagalloylglucose to proteins, lipids, nucleic acids and sugars. *Phytochemistry* 26:95-97.
363. Tantoush, Z., Apostolovic, D., Kravic, B., Prodic, I., Mihajlovic, L., StanicVucinic, D., Cirkovic Velickovic, T. (2012): Green tea catechins of food supplements facilitate pepsin digestion of major food allergens, but hampers their digestion if oxidized by phenol oxidase. *J. Funct. Foods* 4:650–660.
364. Tayengwa, T., Chikwanha, O.C., Dugan, M.E.R., Mutsvangwa, T., Mapiye, C. (2020): Influence of feeding fruit by-products as alternative dietary fibre sources to wheat bran on beef production and quality of Angus steers. *Meat Science* 161: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107969>.
365. Tedeschi, L.O., Ramirez-Restrepo, C.A., Muir, J.P. (2014): Developing a conceptual model of possible benefits of condensed tannins for ruminant production. *Animal* 8:1095-1105.
366. Terrill, T.H., Waghorn, G.C., Wooley, D.J., McNabb, W.C., Barry, T.N. (1994): Assay and digestion of <sup>14</sup>C-labeled condensed tannins in the gastrointestinal tract of sheep. *British Journal of Nutrition* 72:467-477.
367. Theodoridou, K., Aufrere, J., Andueza, D., Le Morvan, A., Picard, F., Stringano, E., Pourrat, J., Mueller-Harvey, I., Baumont, R. (2011): Effect of plant development during first and second growth cycle on chemical composition, condensed tannins and nutritive value of three sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) varieties and lucerne. *Grass and Forage Science* 66:402-414.
368. Toral, P. G., Hervás, G., Bichi, E., Belenguer, A., Frutos, P. (2011): Tannins as feed additives to modulate ruminal biohydrogenation: Effects on animal performance, milk fatty acid composition and ruminal fermentation in dairy ewes fed diet containing sunflower oil. *Animal Feed Science and Technology* 164:199-206.
369. Toral, P.G., Hervas, G., Belenguer, A., Bichi, E., Frutos, P. (2013): Effect of the inclusion of quebracho tannins in a diet rich in linoleic acid on milk fatty acid composition in dairy ewes. *Journal of Dairy Science* 96:431-439.
370. Treutter, D. (2006): Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters* 4:147-157.
371. Triebwasser, D.J., Tharayil N., Preston, C.M., Gerard, P.D. (2012): The susceptibility of soil enzymes to inhibition by leaf litter tannins is dependent on the tannin chemistry, enzyme class and vegetation history. *New Phytologist* 196:1122–1132.
372. Tseu, R.J., Perna Junior, F., Carvalho, R.F., Sene, G.A., Tropaldi, C.B., Peres, A.H., Rodrigues, P.H.M. (2020): Effect of tannins and monensin on feeding behaviour, feed

- intake, digestive parameters and microbial efficiency of nellore cows. *Italian Journal of Animal Science* 19:262-273.
373. Turner, K.E., Cassida, K.A., Zerby, H.N., Brown, M.A. (2015): Carcass parameters and meat quality in meat-goat kids finished on chicory, birdsfoot trefoil, or red clover pastures. *Meat Science* 105:68-74.
374. Turner, S-A., Waghorn, G.C., Woodward, S.L., Thomson, N.A. (2005): Condensed tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) affect the detailed composition of milk from dairy cows. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 283-289.
375. Utsumi, S.A., Cibils, A.F., Estell, R.E., Soto-Navarro, S.A., Chen, L., Hallford, D.M. (2013): Effect of adding protein, condensed tannins and polyethylene glycol to diets of sheep and goats fed one-seed juniper and low quality roughage. *Small ruminant research* 112:56-68.
376. Vahmani, P., Ponnampalam, E.N., Kraft, J., Mapiye, C., Bermingham, E.N., Watkins, P.J., Proctor, S.D., Dugan, M.E.R. (2020): Bioactivity and health effects of ruminant meat lipids. Invited Review. *Meat Science* <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108114>.
377. Valenti, B., Campidonico, L., Natalello, A., Lanza, M., Salami, S., Priolo, A., Serra, A., Pauselli, M., Luciano, G. (2020): Fatty acids in rumen and meat of lambs fed with different condensed and hydrolysable tannin extracts. *Research Square* <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-119707/v1>.
378. Valenti, B., Campidonico, L., Natalello, A., Lanza, M., Salami, S., Priolo, A., Serra, A., Pauselli, M., Luciano, G. (2021): Fatty acid metabolism in lambs supplemented with different condensed and hydrolysable tannin extracts. *PLoS ONE* 16:1-21.
379. Valenti, B., Natalello, A., Vasta, V., Campidonico, L., Roscini, V., Mattioli, S., Pauselli, M., Priolo, A., Lanza, M., Luciano, G. (2018): Effect of different dietary extracts o lamb growth performances and meat oxidative stability: comparison between mimosa, chestnut and tara. *Animal* 1-9.
380. Van Soest, P. (1994): *Nutritional ecology of the ruminant*, fourth edition, Cornell University, New York, USA.
381. Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis (1991): Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74, 3583–3597.
382. Vargas-Magana, J.J., Aguilar-Caballero, A.J., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., Capetillo-Leal, C.M. (2013): Tropical tannin-rich fodder intake modifies saliva-binding capacity in growing sheep. *Animal* 7:1921-1924.
383. Vasta, V., Daghigho, M., Cappucci, A., Buccioni, A., Serra, A., Viti, C., Mele, M. (2019): Invited review: plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: experimental evidence and methodological approaches. *Journal of Dairy Science*. 102:3781–3804.
384. Vasta, V., Jeronimo, E., Brogna, D.M.R., Dentinho, M.T.P., Biondi, L., Santos-Silva, J., Priolo, A., Bessa, R.J.B. (2010a): The effect of grape seed extract or *Cistus ladanifer* L. on muscle volatile compounds of lambs fed dehydrated lucerne supplemented with oil. *Food Chemistry* 119:1339-1345.
385. Vasta, V., Luciano, G. (2011): The effect of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research* 101:150-159.
386. Vasta, V., Makkar, H.P.S., Mele, M., Priolo, A. (2009a): Ruminant biohydrogenation as affected by tannins *in vitro*. *British Journal of Nutrition* 102:1-11.
387. Vasta, V., Mele, M., Serra, A., Scerra, M., Luciano, G., Lanza, M., Priolo, A. (2009b): Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *Journal of Animal Science* 87:2674-2684.
388. Vasta, V., Pennisi, P., Lanza, M., Barbagallo, D., Bella, M., Priolo, A. (2007): Intramuscular fatty acid composition of lambs given a tanniniferous diet with or without polyethylene glycol supplementation. *Meat Science* 76:739-745.

389. Vasta, V., Priolo, A., Scerra, M., Hallet, K.G., Wood, J.D., Doran, O. (2009c)  $\Delta^9$  desaturase protein expression and fatty acid composition of *Longissimus dorsi* muscle in lambs fed green herbage or concentrate with or without added tannins. *Meat Science* 82:357-364.
390. Vasta, V., Yanez-Ruiz, D.R., Mele, M., Serra, A., Luciano, G., Lanza, M., Biondi, L., Priolo, A. (2010b): Bacterial and protozoal communities and fatty acid profile in the rumen of sheep fed a diet containing added tannins. *Applied and Environmental Microbiology* 76:2549-2555.
391. Waghorn, G. (1996): Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine. In: Rode, L.M. (Ed.), *Proceedings of the Canadian Society of Animal Science Annual Meeting*, Lethbridge, Canada, pp. 175-194.
392. Waghorn, G. (2008): Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production - Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology* 147:116-139.
393. Waghorn, G.C., John, A., Jones, W.T., Shelton, I.D. (1987b): Nutritive value of *Lotus corniculatus* containing low and medium concentrations of condensed tannins for sheep. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand, pp. 25-30.
394. Waghorn, G.C., Shelton, I.D., McNabb, W.C. (1994): Effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 1. Non-nitrogenous aspects. *Journal of Agricultural Science* 123:99-107.
395. Waghorn, G.C., Shelton, I.D. (1992): The nutritive value of *Lotus* for sheep. In: Morrow, C. (Ed.), *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, Palmerston North, New Zealand pp. 89-92.
396. Waghorn, G.C., Ulyatt, M.J., John, A., Fisher, M.T. (1987a): The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L. *British Journal of Nutrition* 57:115-126.
397. Walton, J.P., Waghorn, G.C., Plaizier, J.C., Birtles, M., McBride, B.W. (2001): Influence of condensed tannins on gut morphology in sheep fed *Lotus pedunculatus*. *Canadian Journal of Animal Science* 81:605-607.
398. Wang, Y., Douglas, G.B., Waghorn, G.C., Barry, T.N., Foote, A.G. (1996a): Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon lactation performance in ewes. *Journal of Agricultural Science Cambridge* 126:353-362.
399. Wang, Y., Douglas, G.B., Waghorn, G.C., Barry, T.N., Foote, A.G., Purchas, R.W. (1996b): Effects of condensed tannins upon the performance of lambs grazing *Lotus corniculatus* and lucerne (*Medicago sativa*). *Journal of Agricultural Science Cambridge* 126:87-98.
400. Wang, Y., Majak, W., McAllister, T. A. (2012): Frothy bloat in ruminants: Cause, occurrence, and mitigation strategies. *Animal Feed Science and Technology* 172:103-114.
401. Wang, Y., Waghorn, G.C., Barry, T.N., Shelton, I.D. (1994): The effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon plasma metabolism of methionine, cystine and inorganic sulphate by sheep. *British Journal of Nutrition* 72:923-935.
402. War, A.R., Paulraj, M.G., Ahmad, T., Buhroo, A.A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., Sharma, H. C. (2012): Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling and Behavior* 7:1306-1320.
403. Whitney, T.R., Smith, S.B. (2015): Substituting redberry juniper for oat hay in lamb feedlot diets: Carcass characteristics, adipose tissue fatty acid composition, and sensory panel traits. *Meat Science* 104:1-7.
404. Wischer, G., Greiling, A.M., Boguhn, J., Steingass, H., Schollenberger, M., Hartung, K., Rodehutschord, M. (2014): Effect of long-term supplementation of chestnut and valonea extract on methane release, digestibility and nitrogen extraction in sheep. *Animal* 8:938-948.
405. Yisehak, K., De Boever, J.L., Janssens, G.P.J. (2014): The effect of supplementing leaves of four tannin-rich plant species with polyethylene glycol on digestibility and zootechnical performance of zebu bulls (*Bos indicus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98:417-423.

406. Yonjalli, R.V., Aghjehgheshlagh, F.M., Navidshad, B., Jabehdar, S.K. (2018): A Review on biohydrogenation and effects of tannin on it. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 8:181-192.
407. Zaitsev, V.V., Bogolyubova, N.V., Zaitseva, L.M., Emelyanova, I.S., Korotkiy, V.P., Ryzhov, V.A. (2022): Effect of dietary supplements farmatan tm and pine tree energy on the regulation of ruminal digestion and microbiocenosis of lactating black and white cows. *Basrah Journal of Agricultural Sciences* 35:99-109.
408. Zhang, S.Y., Zheng, C.G., Yan, X.Y., Tian, W.X. (2008): Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibit fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 371:654-658.
409. Zhao, M.D., Di, L.F., Tang, Z.Y., Jiang, W., Li, C.Y. (2019): Effects of tannins and cellulase on growth performance, nutrients digestibility, blood profiles, intestinal morphology and carcass characteristics in Hu sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 32:1540-1547.
410. Zhu, J., Filippich, L.J., Alsalami, M.T. (1992): Tannic acid intoxication in sheep and mice. *Research in Veterinary Science* 53:280-292.
411. Zimmer, N., Cordesse, R. (1996): Digestibility and ruminal digestion of non-nitrogenous compounds in adult sheep and goats: Effect of chestnut tannins. *Animal Feed Science Technology* 61:259-273.
412. Živković, J., Mujić, I., Zeković, Z., Nikolić, G., Vidović, S., Mujić, A. (2009): Extraction and analysis of condensed tannins in *Castanea sativa* Mill. *Journal of Central European Agriculture* 3:283-288.

## BIOGRAFIJA AUTORA

Bogdan A. Cekić, master inženjer poljoprivrede, rođen je 01.06.1990. godine u Kruševcu, Republika Srbija. Gimnaziju u Kruševcu, prirodno-matematički smer, završio je 2009. godine.

Osnovne akademske studije je upisao školske 2009/10 godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Zootehnika, a dana 12. juna 2014. godine završio osnovne akademske studije prvog stepena sa prosečnom ocenom 9,31 (devet i 31/100). Tema diplomskog rada „Proizvodnja smeše koncentrata u fabrici hrane za životinje „Junior Komerc“ Kruševac“. Diplomski rad je odbranjen ocenom 10.

Master akademske studije je upisao školske 2014/15 godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Poljoprivreda, modul Zootehnika, koje je završio 22. decembra 2015. godine sa prosečnom ocenom 9,86 (devet i 86/100). Tema master rada: „Poređenje različitih sistema za određivanje energetske vrednosti lucerke“. Master rad je odbranjen ocenom 10.

Doktorske akademske studije je upisao školske 2016/17 godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Poljoprivredne nauke, modul Zootehnika.

Od 2016. godine zaposlen je u Odeljenju za istraživanja u ovčarstvu i kozarstvu Instituta za stočarstvo u Zemunu. U zvanje istraživač-pripravnik izabran je 2017. godine, a u zvanje istraživač-saradnik 2020. godine.

Autor i koautor je više od 30 radova, objavljenih u domaćim i međunarodnim časopisima. Bio je učesnik na više naučnih skupova u zemlji i inostranstvu. Učestvovao je na više projekata, pod pokroviteljstvom Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, kao i Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Bogdan Cekić

Broj indeksa: 16/0034

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

**EFEKTI DODAVANJA TANINA NA HRANLJIVU VREDNOST OBROKA I PROIZVODNE  
REZULTATE JAGNJADI U TOVU**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 25.09.2023. godine

**Potpis autora**

---

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Bogdan Cekić

Broj indeksa: 16/0034

Studijski program: Poljoprivredne nauke, modul Zootehnika

Naslov rada: EFEKTI DODAVANJA TANINA NA HRANLJIVU VREDNOST OBROKA I PROIZVODNE REZULTATE JAGNJADI U TOVU

Mentor: dr Aleksa Božičković, vanredni profesor

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 25.09.2023. godine

**Potpis autora**

---



## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

EFEKTI DODAVANJA TANINA NA HRANLJIVU VREDNOST OBROKA I PROIZVODNE REZULTATE JAGNJADI U TOVU,

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

U Beogradu, 25.09.2023.godine

**Potpis autora**

---

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.