

Upotreba protektiranih aminokiselina u hranidbi mliječnih goveda

Dodigović, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:046466>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-26**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matea Dodigović

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer Zootehnika

Upotreba protektiranih aminokiselina u hranidbi mliječnih goveda

Završni rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matea Dodigović

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer Zootehnika

Upotreba protektiranih aminokiselina u hranidbi mliječnih goveda

Završni rad

Osijek, 2019.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Matea Dodigović

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer Zootehnika

Upotreba protektiranih aminokiselina u hranidbi mliječnih goveda

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu završnog rada:

1. prof. dr. sc. Pero Mijić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Zvonimir Steiner, mentor
3. dr. sc. Mario Ronta, član

Osijek, 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Završni rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda, smjer Zootehnika

Matea Dodigović

Upotreba protektiranih aminokiselina u hranidbi mliječnih goveda

Sažetak: Preživači svoje potrebe za aminokiselinama podmiruju iz proteina, a aminokiseline su glavne strukturne jedinice pravih proteina. Razlikuju se esencijalne, djelomično esencijalne i neesencijalne aminokiseline. Esencijalne aminokiseline se unose isključivo preko hrane, dok neesencijalne organizam može sam sintetizirati. Povećanjem mliječnosti povećava se i potreba za zaštićenim aminokiselinama. Mliječne krave imaju najveće potrebe za aminokiselinama zbog tvorbe i proizvodnje mlijeka. Korištenje protektiranih aminokiselina povećava mliječnost krava i/ili postotak bjelančevina mlijeka. Aminokiseline koje se koriste su obložene polimernim spojevima (masti, mješavine masti i kalcija, formaldehid i drugo).

Glavne riječi: preživači, aminokiseline, protektirane aminokiseline, mliječne krave

Završni rad je pohranjen: u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

BSc Thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Undergraduate university study Agriculture, course Zootechnique

Matea Dodigović

Use of protected amino acids in nutrition of dairy cows

Summary: Ruminants their need for amino acids from proteins, and amino acids are the main structural units of true proteins. Differences between essential, partially essential and non-essential amino acids. Essential amino acids are introduced exclusively through food, while non-essential organisms can synthesize themselves. Increasing milk yield also increases the need for protected amino acids. Dairy cows have the greatest need for amino acids due to the formation and production of milk. The use of protected amino acids increases the milkiness of cows and / or the percentage of milk proteins. The amino acids used are coated with polymeric compounds (fats, mixtures of fats and calcium, formaldehyde and more).

Key words: ruminants, amino acids, protected amino acids, dairy cows

BSc Thesis is archived in Library of Faculty of Agriculture in Osijek and in digital repository of Faculty of Agriculture in Osijek

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. HRANIDBENI ZAHTJEVI MUZNIH KRAVA.....	2
2.1. Pripremno razdoblje.....	2
2.2. Razdoblje iskorištenja izgrađenog kapaciteta.....	2
3. PROTEKTIRANE AMINOKISELINE.....	3
4. ZAŠTIĆENI METIONIN.....	4
4.1. Način hranidbe.....	4
4.2. Trajanje pokusa i uzorkovanje.....	6
4.3. Metode karakterizacije.....	6
4.4. Statističke analize.....	7
4.5. Analiza dobivenih rezultata provedenog eksperimenta.....	7
4.5.1. <i>Crijevni protok</i>	7
4.5.2. <i>Sastav mlijeka i bilanca dušika</i>	8
5. ZAŠTIĆENI METIONIN I LIZIN.....	9
5.1. Mjerenje i analize uzoraka.....	10
5.1.1. <i>Analiza obroka</i>	10
5.1.2. <i>Analiza mlijeka</i>	11
5.1.3. <i>Analiza krvi</i>	11
5.2. Odgovor na laktaciju.....	12
6. ZAŠTIĆENI METIONIN, LIZIN I HISTIDIN.....	14
6.1. Tijek eksperimenta.....	15
6.1.1. <i>Hranidba krava</i>	15
6.1.2. <i>Uzorkovanje</i>	15
6.2. Analiza eksperimenta.....	17
7. ZAKLJUČAK.....	21

8. POPIS LITERATURE.....	22
--------------------------	----

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U TEKSTU

MP- metabolizirajući protein

MPA- obrok s adekvatnom količinom metabolizirajućeg proteina

MPD- obrok s manjkom metabolizirajućeg proteina

MPDM- MPD nadopunjen zaštićenim metioninom

MPDL- MPD nadopunjen zaštićenim lizinom

MPDH- MPD nadopunjen zaštićenim histidinom

MPDMLH- MPD nadopunjen zaštićenim metioninom, lizinom i histidinom

mg- miligrami

g- grami

kg- kilogrami

dL- decilitri

mL- mililitri

μUI- razina inzulina (mikrometri)

pg- pikogram

1. UVOD

Selekcijom posljednjih godina dobivene su visokoproduktivne krave čije hranidbene potrebe je moguće podmiriti samo adekvatnom i uravnoteženom hranidbom. Obzirom na visoku proizvodnju, hranidbene potrebe su također visoke te ih sama krava nije u mogućnosti uvijek unijeti. Zbog toga je potrebno imati izbalansiran obrok s dovoljnom količinom svih hranjivih tvari.

Preživači imaju tri predželudca i pravi želudac, takva anatomska građa ima cilj usporenja prolaza hrane i iskorištenja onih dijelova hrane koji nepreživači ne mogu (celuloza).

Najvažnije je poznavanje razgradivog i nerazgradivog proteina kod sastavljanja obroka jer potrebe za aminokiselinama se podmiruju iz krvi, apsorpcijom u tankom crijevu.

Potrebe za aminokiselinama prežvači podmiruju iz bjelančevina hrane, iskorištenje aminokiselina je nisko zbog predželudaca i mikroorganizama buraga.

Aminokiseline se razgrađuju na način da izbjegnu razgradnju u buragu i mikrobiološkog proteina u duodeumu. Zbog toga se u današnje vrijeme sve više koriste sintetske aminokiselina i rumenom zaštićene aminokiseline čije je iskorištenje najefikasnije u duodeumu.

Pravilnom kombinacijom aminokiselina izlučenje dušika će biti jednako; jednako će se izlučiti kroz mlijeko, urin i feces.

2. HRANIDBENI ZAHTJEVI MUZNIH KRAVA

Da bi se maksimalno iskoristila mogućnost proizvodnje mlijeka potrebno je optimizirati svaki obrok te podmiriti i uzdržne i produktivne potrebe. Laktacijsko razdoblje je najkritičniji period muzne krave, ako joj se ne pruži adekvatan obrok i ne osiguraju životni uvjeti ne samo da proizvodnja neće biti zadovoljena već će i zdravstveno stanje biti ugroženo. Tehnološki gledano postoje dva proizvodnja razdoblja, pripremno razdoblje i razdoblje iskorištenja izgrađenog kapaciteta te ovisno o tome hranidbene potrebe se razlikuju.

2.1. Pripremno razdoblje

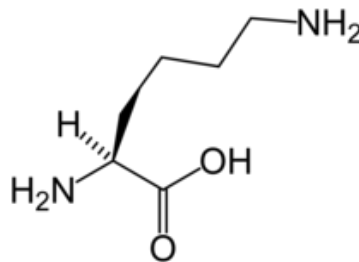
Započinje suhostajom, točnije uskraćivanjem energetske vrijednosti krmiva. U periodu od 60 (prosječno) dana životinji se pruža mogućnost stvaranja tjelesnih rezervi koje su važne zbog razvoja ploda i stvaranja kolostruma. U ovom periodu je važno osim uskraćivanja energetske vrijednosti krmiva paziti na količine kalcija koje se daju u obroku, odnos kalcija i fosfora. Nakon suhostaja slijedi teljenje i purperij također izrazito važno razdoblje jer dolazi do raznih hormonalnih promjena koje mogu dovesti do bolesti.

2.2. Razdoblje iskorištenja izgrađenog kapaciteta

Nakon pripremnog razdoblja slijedi razdoblje stvarnog iskorištenja, hranidba se prilagođava stvarnim količinama proizvedenog mlijeka. Posebna pozornost se pruža količini dnevnog obroka, točnije suhoj tvari u obroku. Osim prilagođavanja obroka stvarnim količinama proizvedenoga mlijeka, potrebno je paziti i na vrijeme osjemenjivanja krave jer ono ovisi o tome hoće li se proizvodno razdoblje ponovno pokrenuti.

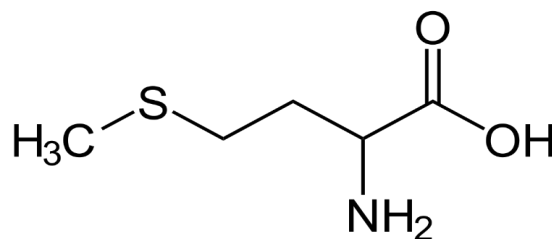
3. PROTEKTIRANE AMINOKISELINE

Metabolizam preživača zahtjeva dvije vrste proteina, nezaštićeni (slobodni) i zaštićen. Protektirane ili zaštićene aminokiseline se razgrađuju u tankom crijevu za razliku od nezasićenih čija razgradnja započinje već u buragu. Zbog fiziologije probavnog sustava, organizam preživača samo djelomično iskorištava dostupnu količinu obrokom unesenih hranjivih stvari. Slobodne aminokiseline se brzo razgrađuju u buragu te ih mikroorganizmi iskorištavaju za svoj rast i razvoj. Zbog toga počinju se koristiti aminokiseline koje posjeduju određenu zaštitu od mikroorganizama i prolaze kroz burag do tankog crijeva gdje ih životinja može u potpunosti probaviti. Ključno je osigurati prvu limitirajuću aminokiselinu na razini crijeva. Najčešće limitirajuće aminokiseline su metionin ili lizin. (Domaćinović i sur. 2015)



Slika 1. Kemijska formula lizina

Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Lizin>



Slika 2. Kemijska formula metionina

Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/Metionin>

4. ZAŠTIĆENI METIONIN

Američko udruženje za istraživanje mliječnih proizvoda (American Dairy Science Association) 84:194-203 objavilo je eksperiment (Berthiaume i sur. 2001), koji se svodi na istraživanje učinka protektiranog metionina koji se razgrađuje samo u tankom crijevu i neto izgledu u krvi, krave su hranjene obrocima koja je obogaćena zaštićenim metioninom.

U pokusu su sudjelovale krave (5) u laktaciji, hranjene su s 0 do 72 g zaštićenog metionina, a princip hranidbe je bio TMR. Kravama se uvela kanila u duodeum i ileum ili samo duodeum, a dvima od pet krava se uvela kanila u dva dijela tankog crijeva. Kanulacija (kateterizacija) je provedena u ranoj laktaciji, kod dvije krave kanila je uvedena je zatvorena kanila u obliku slova T (izgrađene od teflona) u proksimalni dio duodeuma i krajnjem dijelu ileum te su uvedeni kateteri u poratnu venu i kaudalnu aortu preko mezenterične arterije. Drugi kateter je stavljen u kranijalno mezenteričnu venu. Nakon operacijskog postupka krave su se dobro oporavljale, ali povremena blokada ileumne kanile je značajno smanjila uzimanje hrane, samim time i pad proizvodnje. Obzirom da ovaj pokus nije pokazao dobre rezultate, ostatku krava (3) se nakon dva mjeseca uvela kanila u proksimalni dio duodeuma (izrađena od ne hrđajućeg čelika i prekrivena teflonom) dok su one bile u srednjoj laktaciji. Nakon operacijskog zahvata krave su smještene u boksove sa slamom i svježom vodom, počele su jesti i stale na noge nakon od prilike 3 sata. Nakon 24 sata su dobile gumenu prostirku, vodu i mlijeko dva puta dnevno (06:00 i 18:00 sati).

4.1. Način hranidbe

Princip hranidbe je bio u dva tretmana, prvi tretman je bio 74:36 u korist krmne smijese od koncentrata, hranjene su dva puta dnevno ili 12 puta, automatskim hranilicama. Dobivale su kilogram sijena dnevno, a protektirani metionin je dodavan pri svakom obroku. Količina suhe stvari u obroku je bila konstantna, dok se količina svježe hrane mijenjala da bi se usporedile varijacije, prilagođavali su se dva puta tjedno na račun varijacije silaže. Drugi tretman obroka je bio u vidu TMR-a, obrok se jedanput dnevno miješao u vodoravnoj miješalici. Količina digestata u duodeumu i ileumu mjerena je pH metrom. Brom je korišten ako neprobavljivi marker za procjenu protoka u gastrointestinalnom taktu.

Tablica 1. Sastav obroka korištenog u pokusu

Komponente	Udio u obroku, %
Silaža trave	58,4
Kukuruzna silaža	15,2
Zrno kukuruza	11,3
Soja	13,0
Cr ₂ O ₃	0,2
Dikalcijev fosfat	0,597
Vezivo	0,132
MgO	0,044
Mineralno-vitaminski premiks	1,15

Izvor: Berthiaume, 2001.

Tablica 2. Količina esencijalnih aminokiselina u krmivima

Aminokiselina	Silaža trava	Kukuruzna silaža	Sijeno trava	Koncentrat	TMR
Metionin	2,02	1,86	2,19	4,32	2,47
Lizin	4,69	2,56	5,47	16,59	7,30
Histidin	1,74	1,42	1,97	7,25	2,95
Triptofan	4,85	3,82	5,52	11,78	6,17
Fenilalanin	5,34	3,82	6,32	12,01	7,57
Treonin	4,85	3,82	5,52	11,78	6,17
Izoleucin	5,07	3,28	5,59	12,76	7,03
Leucin	8,60	8,68	9,98	23,97	12,72
Valin	4,85	3,82	5,52	11,78	6,17

Izvor: Berthiaume, 2001.

4.2. Trajanje pokusa i uzrokovanje

Pokus je trajao 14 dana; 6 dana je odvojeno za adaptaciju krava na novu prehranu, nakon čega je uslijedilo prikupljanje urina i fecesa te jedan dan za uzimanje uzoraka krvi i dva dana za procjenu digestije. Od petog do 14-tog dana vođena je evidencija o količinama mlijeka. Uzorci su uzimani u vremenskom periodu od 05:00 do 17:00 sati. Tri krave su imale pojas i cijevi koje omogućavaju odvojeno skupljanje urina i fecesa (od 05:00 do 17:00 sati). Urin se spremao u nehrđajuće spremnike napunjene sumpornom kiselinom kako bi pH se zadržao na 2, a izmet se spremao u plastične spremnike obložene šperpločom. Uzorci su svakodnevno vagani te su uzeti reprezentativni uzorci koji su zamrznuti. Uzrokovanje krvi se odvajalo na 12 dan, dvanaest uzoraka po 15 ml; istovremeno se skupljalo iz arterija i mezneteričnih portalnih vena, svakih trideset minuta u razdoblju od 08:00 do 14:00 sati.

4.3. Metode karakterizacije

Uzorci hrane i digestata su smrznuti i usitnjeni da bi prošli kroz sito promjera 1 milimetar. Koncentracija dušika je određena toplinskom provodljivošću, osim za uzorke urina kojima je dodana kiselina; u tim uzorcima koncentracija dušika je određena mikro-analizom. Frakcija vlakana u uzorcima hrane, točnije ekstrakti silaže su analizirani na pH vrijednost, topljivi dušik i razinu ne proteinske dušične komponente, a razina NH_3 je određena osim u ekstraktima silaže i u svježem duodealnom i ileumnom digestatu. Sadržaj kroma (Cr) u hrani i digestatu određen je spektrofotometrijskim postupkom. Prilikom određivanja aminokiselina, uzorci hrane su tretirani performičnom kiselinom koja dovodi do stabilizacije metionina i cistina u uzorku. Zatim se dodatkom bismovodične kiseline uništava performična kiselina te se hidrolizira kiselinom s 6N-HCl. Aminokiseline su određene primjenom ionske kromatografije. Hidroliza s 6N-HCl kiselinom je provedena zbog hitidina i triptofana koji su uništeni tijekom oksidacije i reakcije s bromom.

Uzorci krvi su držani u ledu do trenutka ispitivanja. Alikvot (2 mililitra) je odmah nakon uzorkovanja tretiran sa aprotininiom (inhibitorna jedinica, tripsin) zbog određivanja koncentracije glukagona. Koncentracija ureje, $\text{NH}_3\text{-N}$ i α -amino-N određivane su na svježim uzorcima. Koncentracije $\text{NH}_3\text{-N}$ su korigirane za α -amino-N reakciju u testu sa amonijakom, korištenjem relativnog odgovora leucina i izmjenjivih koncentracija

α -amino-N. Potom se za određivanje razine glukoze u krvi provodila enigmatska metoda. Za određivanje razine hormona u plazmi se koristio radoimunski test dvostrukog protutijela. Uzorci krvi (12) za određivanje aminokiselina su skupljani svaka dva sata na dan uzrokovanja. Oni su analizirani na pojedinačne slobodne kiseline pomoću aminokiselinskog analizatora.

Uzorci mlijeka su analizirani termo gravimetrijski analizatorom, postotak mliječne masti i ukupna koncentracija dušika određena je postupkom toplinske provodljivosti.

4.4. Statističke analize

Zbog razlika i problema u provođenju ispitivanja provedena je dvosmjerna analiza za stvarnom učinku krave i modelom tretmana.

Kod svih pet krava prikupljeni su podatci za fekalni i duodealni tok, dok se kod dvije krave zbog greške u uvođenju kanile nije bilo moguće provesti statističku analizu ruminski zaštićenog metionina. Kod dvije krave uzeti su podatci o ileumnom toku, one su imale postavljene obje kanile, a kod tri krave koje su imale postavljenu samo duodealnu kanilu uzimali podatci o proizvodnji mlijeka i bilancu dušika.

4.5. Analiza dobivenih rezultata provedenog eksperimenta

4.5.1. Crijevni protok

Dodatak ruminski zaštićenog metionina nije imao učinak na unos hrane, protok fekalija i probavljivost hrane u želudcu, tankom crijevu i ukupni protok kroz gastrointestinalna tkiva, no očekivano povećao se duodealni protok metionina. Povećanje duodealnog protoka rezultira višom probavljivošću u cjelini crijeva. Također dodatak ruminski zaštićenog metionina nije imao utjecaj na izgled duodeuma i gastrointestinalnog tkiva, kao ni na probavljivost ostalih aminokiselina. Probavljivost ruminski zaštićenog metionina je bila 72,3%, a običnom metionina 65,2% u tankom crijevu. u cijelom cijevnom traktu probavljivost ruminski zaštićenog metionina iznosila je 83,9%.

4.5.2. Sastav mlijeka i bilanca dušika

Korištenje ruminski zaštićenog metionina nije imao učinka na koncentraciju dušika koji se izlučuje izmetom i mokraćom niti na količinu koja se izlučuje u mlijeku. Kako nije bilo učinka na izlučivanje dušika tako nije bilo niti na derivatima dušika (purin i urea). ruminski zaštićen metionin nije također imao učinka na količinu mlijeka, postotak mliječne masti, protein i kazein, dok je razina laktoze bila povišena, iznosila je 5,24% (4,92%).

Način hranidbe je bio takav da se podmiruju potrebe za bjelančevinama i energijom. Prema izračunima dobiveno je da metionin predstavlja 3,3% esencijalne aminokiseline u tankom crijevu. Dodatkom zaštićenog metionina razina se udvostručila (7,1%) u smislu postotka esencijalne aminokiseline metionina.

Zaključno dodatak zaštićenog metionina je povećao koncentraciju u duodeumu i apsorpciju u tankom crijevu zbog njegove probavljivosti. Povećana apsorpcija se odrazila u arterijskoj plazmi, no međutim nije bilo utjecaja na povećanje mliječnih proteina.

5. ZAŠTIĆENI METIONIN I LIZIN

Američko udruženje za istraživanje mliječnih proizvoda (American Dairy Science Association) 88:1113-1126 (Socha i sur. 2005.) objavilo je istraživanje koje se svodi na eksperimentu učinka dodatka zaštićenog metionina, metionina i lizina u prilagođeni obrok kravama prije i nakon porođaja. U navedenom istraživanju sudjelovale su osamdeset i četiri krave pasmine Holstein koje su prije i poslije porođaja hranjene obrocima koji sadrže visoku koncentraciju zaštićenog metionina i lizina.

Prije porođaja; krave su uvedene u eksperiment 14 dana prije očekivanog teljenja, imale su nekoliko koncepta hranidbe, prvi oblik je bio bazalni obrok bez dodatka zaštićenih aminokiselina, a u drugom su dobivale 10,5 grama po danu metionina iz ruminski zaštićenog metionina te 10,2 grama po danu metionina i 16,0 grama po danu lizina iz smjese ruminski zaštićenog metionina i lizina. Nakon porođaja nastavilo ih se hraniti s obrocima s 16,0 ili 18,5 grama sirovog proteina te dodatkom ruminski zaštićenih aminokiselina.

Obroci su bili bazirani na kukuruzu, a obavezni sirovi protein su dobivale iz soje. Tretman je bio proveden kroz 105 dana laktacije.

U odnosu na bazalni obrok i nezaštićenim metioninom, obrok oplemenjen ruminski zaštićenim metioninom i lizinom je povećao pronos mlijeka, masti i bjelančevina prilagođenih energiji težilo je povećanju mliječne masti na 3,5%, no kombinacija 16,0% sirovog proteina i oplemenjivanja obroka zaštićenim aminokiselinama nije imalo utjecaj na povećanje mliječne masti i proteina mlijeka. Obrok s 18,5 grama sirovog proteina i dodatkom metionina i metionina plus lizina je povećao udio mliječne masti za 0,26% te sadržaj proteina za 0,21% i 0,14%. rezultati ukazuju na to da krave reagiraju na povećanu koncentraciju sirovog proteina kao i na ruminski zaštićene aminokiseline.

Svrha ovog istraživanja je bila utvrditi učinak hranidbe na bazi kukuruza i ruminski zaštićenim metioninom kao i ruminski zaštićenim metioninom i lizinom kod krava u ranoj laktaciji nakon porođaja, utvrditi učinkovitost oplemenjivanja obroka ruminski zaštićenim lizinom te učinkovitost obroka s višim sadržajem sirovog proteina kod krava nakon poroda i odnos prema ruminski zaštićenim aminokiselinama.

5.1. Mjerenje i analize uzoraka

5.1.1. Analiza obroka

Tablica 3. Komponente bazalnog obroka

Komponente, %	Pred teljenje	% sirovog proteina	
		18,5%	16,0%
Kukuruzna silaža, dodatak 0.5% uree	31,1	22,3	22,3
Silaža, trava + mahunarke	16,7	12,6	12,6
Sijeno lucerke	7,2	9,7	9,7
Grubo mljeveni kukuruz	32,0	31,8	37,1
Sojino brašno	6,9	11,5	0,8
Sirova soja	2,8	5,3	5,3
Saćma soje	0,0	0,0	5,3
Krvno brašno	0,7	1,4	1,4
Mast	0,7	1,4	1,4
Vitaminsko-mineralni dodatak	1,9	4,0	4,0

Izvor: Socha i sur. 2004.

Bazalni obrok je davan u obliku TMR-a, vagan prije svakog hranjenja te su hranjene dva puta dnevno. Od ukupne, određene količine obroka, 67% su dobivale u 15:30 sati, a ostatak 33% u 05:30 sati.

Prije početka eksperimenta kao i svaka četiri tjedna uzorci hrane (obroka) su analizirani te je provedena potrebna korekcija ovisno o količini sirovog proteina.

Analiza obroka je provedena na način da je uzorkovanje bilo na tjednoj bazi, uzorci su usitnjeni da bi prošli skroz sito od 1 milimetra te je analizirana svaka komponenta pripremljenog obroka i vaganog obroka prije davanja. Uzorkovanje se provodilo zbog analize sirovog proteina, kalcija, fosfora, kalija, magnezija i sumpora i drugo. Na temelju količine mlijeka, sastava mlijeka, uzdužnih i produktivnih potreba te ravnoteže metabolizirajućeg proteina energiju su podmirivale iz kukuruza 31% i 36%. Predviđene količine lizina i metionina u metabolizirajućem proteinu su bile 6,6% i 1,8% za bazalni obrok, 6,1% i 1,6% za obrok s 16% sirovog proteina i 6,3% i 1,6% za obrok s 18,5% sirovog proteina.

Obzirom na stadij laktacije bazalni obrok je bio oplemenjen s 16% sirovog proteina i 10,5 grama zaštićenog metionina i drugi oblik obroka s 10,2 grama zaštićenog metionina i 16,0 grama zaštićenog metionina i lizina. Obrok s 18,5% sirovog proteina i 10,5 grama zaštićenog metionina i obrok s 10,2 grama zaštićenog metionina i 1,0 grama zaštićenog metionina i lizina.

Obzirom na veliku razliku u koncentraciji lizina i metionina, činilo se da ovakav obrok više ograničava iskorištenje metionina nego lizina.

5.1.2. Analiza mlijeka

Uzorkovanje se provodilo dva puta tjedno, po dvije mužnje dnevno. Uzorci su čuvani dodatkom 2-bromo-2-nitroprokno-1,3-diol (alkohol) te su analizirani na mast i protein.

5.1.3. Analiza krvi

Uzorkovanje se vršilo punkturom kokcigenalne vene od prilike dva sata nakon jutarnjeg hranjenja. Uzorci su skupljani u epruvete od 10 mililitara bez aditiva i epruvete (10 mililitara) s natrijevim heparinom i 4% natrijevim flouridom. Epruvete koje drže aditiv su stavljene u centrifugu na temperaturu od 5°C na 20 minuta zbog odvajanja plazme (pohranjena na -20°C) iz koje se odredila koncentracija glukoze. Uzorci koji nisu imali dodatka aditiva su ostavljeni na sobnoj temperaturi da se zgrušaju, potom se odvojio serum i smrznuo zbog određivanja koncentracije uree. Uzorci plazme i seruma su odmrznuti na temperaturu od 5°C prije upotrebe.

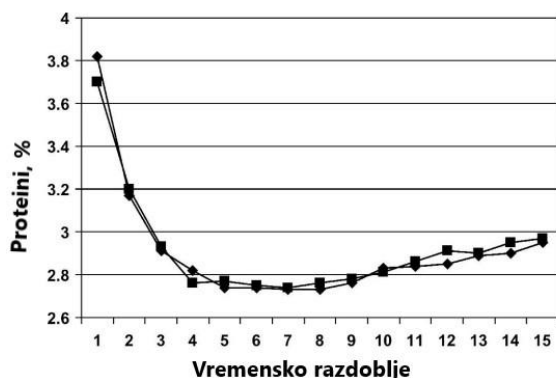
Krave koje su hranjene obrokom koji sadržava zaštićeni metionin i lizin su u plazmi imale nižu koncentraciju glukoze od onih hranjenih bazalnim obrocima.

5.2. Odgovor na laktaciju

Prema prvoj provedenoj raspravi korištenje zaštićenog metionina nije imalo utjecaja na dnevni prinos mlijeka, dok je korištenje kombinacije zaštićenog metionina i lizina povećalo proizvodnju mlijeka za 3,5% u odnosu na one koje su hranjene bazalnim obrokom ili obrokom koji je oplemenjen samo zaštićenim metioninom. Kod krava kod kojih je korišten obrok s 16% sirovog proteina su odmah nakon teljenja imale višu razinu mliječnih bjelančevina u odnosu na sredinu laktacije. Krave hranjene s 18,5% sirovog proteina su imale na kraju laktacije najvišu razinu mliječnih bjelančevina u mlijeku. Nadalje dodatak zaštićenih aminokiselina u obrok s 16% sirovog proteina nije imao utjecaj na povećanje mliječne masti, a kod obroka s 18,5% sirovog proteina je imalo tendenciju povećavanja od 0,26%. Kod dodatka samo zasićenog metionina rezultati su bili vidljivi kod obroka s 16% sirovog proteina, dok se kod obroka s 18,5% ništa nije promijenilo. Zapravo, povećanje stvarnog mliječnog proteina ovisi o količini sirovog proteina u obroku, a koncentracija, povećanje mliječne masti o fazi laktacije. Obzirom na to zaključuje se da se pri hranidbi obrokom s 16% sirovog proteina mliječna mast povećava u prvoj fazi laktacije dok u ostalima opada, dok se kod obroka s 18,5% sirovog proteina postotak mliječne masti povećava prema sredini laktacije. U početku laktacije, odmah nakon teljenja udio mliječne masti je kod 18,5% sirovog proteina najmanji kao i na završetku laktacije.

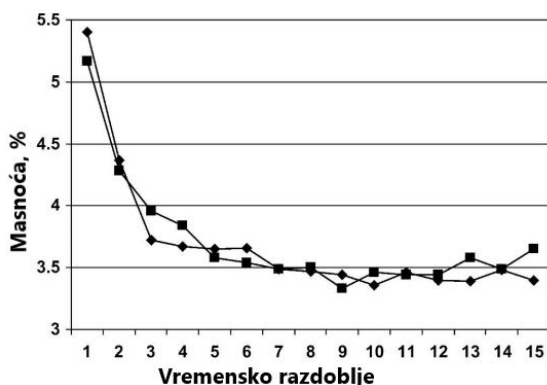
U drugoj raspravi u kojoj je glavni cilj bilo utvrditi odgovor proizvodnje mlijeka u ranoj fazi zaključka utvrđeno je da krave koje uzimaju obroke oplemenjene zaštićenim aminokiselinama (metionin+lizin) imaju veću proizvodnju mlijeka (korigirano na energiju), stvarnog mliječnog proteina i mliječne masti u odnosu na one koje su imale samo bazalni obrok. U donosu na prethodna istraživanja provedena 1993. godine od strane Armentanoa i sur. rezultati hranidbe su bili poboljšani u najranijoj fazi laktacije kada je potreba za aminokiselinama u odnosu na iskorištenu energiju najviša.

Prinos mlijeka u ranim fazama laktacije se povećao za 1,2 kilograma po danu, a dok je nakon teljenja prinos mlijeka bio veći svega 0,1 kilogram po danu. Prinos mlijeka i mliječnih komponenti je numerički bio veći kod obroka s 18,5% sirovog proteina.



Slika 3. Sadržaj mliječnih proteina kroz određeno vremensko razdoblje: (■) obrok s 16,0% sirovog proteina, (◆) obrok s 18,5% sirovog proteina

Izvor: Socha i sur. 2005.



Slika 4. Sadržaj mliječne masnoće kroz određeno vremensko razdoblje: (■) obrok s 16,0% sirovog proteina, (◆) obrok s 18,5% sirovog proteina

Izvor: Socha i sur. 2005.

Zaključuje se da je hranidba krava u ranoj laktaciji obrokom oplemenjenim zaštićenim metioninom i lizinom imalo tendenciju povećanja količine mlijeka, mliječnih proteina, mliječne masti kao i smanjenje koncentracije glukoze u krvi.

6. ZAŠTIĆENI METIONIN, LIZIN I HISTIDIN

Američko udruženje za istraživanje mliječnih proizvoda (American Dairy Science Association) 99: 4437-4452 iznjelo je istraživanje (Giallongo i sur. 2016.) čiji je cilj bilo utvrditi učinak obroka oplemenjenog s zaštićenim metioninom, lizinom i histidinom na mliječnim kravama koje doje.

Istraživanje je trajalo devet tjedana, a sudjelovalo je sedamdeset i dvije krave pasmine Holstein.

Krave u eksperimentu su nakon zasušenja od 2 tjedna nasumično dobivale jedan od šest oblika obroka koji su bazirani na koncentraciji metabolizirajućeg proteina (MP), a obroci su: (1) adekvatan obrok s dovoljnom količinom metabolizirajućeg proteina (MPA), (2) obrok s manjkom metabolizirajućeg proteina (MPD), (3) MPD nadopunjen zaštićenim metioninom (MPDM), (4) MPD nadopunjen zaštićenim lizinom (MPDL), (5) MPD nadopunjen zaštićenim histidinom (MPDH) i (6) MPD nadopunjen kombinacijom zaštićenog metionina, lizina i histidina (MPDMLH).

Unos suhe tvari, prinos mlijeka, komponente mlijeka (laktoza, mast i proteini), energetski korigirano mlijeko i iskorištenje hrane je smanjeno za MPD obrok u odnosu na MPA obrok.

Nadopuna MPD obroka s zaštićenim lizinom je povećalo udio mliječnih proteina i glukoze u plazmi kao i koncentracija ugljika i uree (N) u mlijeku. Dodavanje zaštićenog histidina je težilo povećanju unos suhe tvari, mliječne masti i proteina. Dodatak kombinacije zaštićenog metionona, lizina i histidina povećalo je prinos mliječne masti, bjelančevina, energetski korigiranog mlijeka kao i učinkovitost hranjenja.

Koncentracija esencijalnih aminokiselina u plazmi (osim metionina i triptofana) smanjeni su u MPD obroku u odnosu na MPA obrok. Također koncentracija hemoglobina u krvi je bila niža i koncentracija grelina (hormon za stimulaciju gladi) u plazmi je bila viša kod krava hranjenih MPD obrokom. Koncentracija zasićenih masnih kiselina u mlijeku je bila viša kod MPD obroka, a dok je koncentracija nezasićenih masnih kiselina bila smanjena (reducirana) u MPD obroku. Zaključno je vidljivo da oplemenjivanje MPD obroka s histidinom i ruminski zaštićenim metioninom, lizinom i hidstidinom ima utjecaja na

poboljšanje mlijeka i prinosa mliječnih komponenti kao i unosa suhe tvari kod mliječnih krava.

Poznato je da su metionin i lizin ograničene aminokiseline u proizvodnji mliječnih proteina, a u nizu studija došlo se do zaključka da je histidin najmanje sintetiziran u rumenu od strane bakterija i u plazmi. Studije su također pokazale kako histidin ima veliku ulogu u sintezi mlijeka i udjelu mliječnih proteina.

6.1. Tijek eksperimenta

Pokus je proveden u dvije faze, krave su hranjene točno određenim obrocima (vagani su), a pristup sviježoj vodi je bio neograničen. Prva faza je uključivala 36 mliječnih Holstein krava koje su imale prosječno $40,8 \text{ kg} \pm 6,80 \text{ kg}$ mlijeka dnevno, a druga faza je uključivala mliječne krave s dnevnim prinosom mlijeka od $39,8 \text{ kg} \pm 6,67 \text{ kg}$. Svaka faza je trajala 9 tjedana, uključujući 2 tjedna kovarijanace, iz toga slijedi da je pokus trajao 7 tjedana, od čega su 2 tjedna bila za prilagodbu krava na način hranidbe, a 5 tjedana za uzimanje i analiziranje podataka i uzoraka.

6.1.1. Hranidba krava

Hranidba je bila takva da zadovoljava potrebe krava od 650 kg tjelesne mase, dnevni unos suhe tvari od 27 kg, 42,5 kg dnevne proizvodnje mlijeka te zahtjeve mlijeka od 3,80% mliječne masti i 3.20% mliječnih proteina. MPD hranidba je bila formulirana na način da je 5% do 10% MP u odnosu na bazalni obrok falilo.

Ruminski zaštićene aminokiseline su se precizno vagale i dodavale u TMR obrok, a obrok su krave dobivale dva puta dnevno u 06:00 sati i u 18:00 sati.

6.1.2. Uzorkovanje

Podatci o individualnom uzimanju hrane, prinosu mlijeka i tjelesnoj težini su svakodnevno uzimani i bilježeni. Uzorci hrane su uzimani na tjednoj bazi, prisilno osušeni te spremljeni na temperaturu od -20°C . Oksidacija određenom kiselinom je služila za analizu koncentracije metionina i cistina.

Uzorci krvi su uzeti iz repa nakon sedmodnevnog hranjenja, plazma je izdvojena centrifugom te u 2 mililitra alikvota dodana N-HCl i fenilmetilsulfonil fluorid. Alikvoti s kiselinom su pohranjeni na -20°C dok nisu bili analizirani na aktivni grelin. Alikvoti plazme su skupljani tjedno te su analizirani na koncentraciju uree, glukoze, inzulina i kreatinina i na koncentraciju aminokiselina.

Tablica 4. Sastav bazalnog obroka

	Faza I.		Faza II.	
	MPA	MPD	MPA	MPD
Komponente, %				
Kukuruzna silaža	42,0	42,0	42,0	42,0
Sijeno lucerke	21,0	21,0	21,0	21,0
Mljeveni kukuruz	1,5	6,5	6,3	11,5
Soja	4,5	4,5	4,0	4,0
Uljana repica, ekstrakt	8,5	8,5	6,5	6,5
Melasa	4,0	4,0	4,0	4,0
Mineralno-vitaminski premiks	3,0	3,0	3,0	3,0
Pamuk	4,0	4,0	4,0	4,0
Lom pekarskih proizvoda	5,5	5,5	3,5	3,5
Obrok koji sadrži 14.6% sirovog proteina	6,0	1,0	5,7	0,5

Izvor: Giallongo i sur. 2016.

Uzorci mlijeka skupljani su u epruvete s konzervansom (2-brom-2-nitropropan-1,3-diol) te analizirani na udio masti, proteina, laktozu i suhu tvar pomoću infracrvene spektroskopije.

Određeni uzorci mlijeka su skupljani i stavljeni u epruvete bez konzervansa te su čuvani na temperaturi od - 20°C i analizirani na sastav masnih kiselina mlijeka.

Dobiveni rezultati su analizirani su pomoću SAS® softver (računalni program za pregled analitičkih podataka). Svi podatci; unos suhe tvari, prinos mlijeka, iskorištenje unesene hrane i pojedinačna proizvodnja mlijeka su tjedno analizirani. Sastav mlijeka i ostale vrijednosti bile su fiksne.

Tablica 5. Kemijski sastav bazalnog obroka

	Faza I.		Faza II.	
	MPA	MPD	MPA	MPD
Komponente, % suhe tvari				
Sirovi protein	16,8	14,8	16,1	14,1
NE _L , Mcal/kg	1,53	1,52	1,50	1,47
Ca	0,98	0,96	0,99	0,97
P	0,41	0,39	0,39	0,37
Škrob	19,0	22,0	20,1	23,2

Izvor: Giallongo i sur. 2016.

6.2. Analiza eksperimenta

U obje faze, MPD obrok je bio napravljen tako da sadrži manju koncentraciju sirovog proteina u odnosu na MPA obrok koji ima višu koncentraciju mljevenog kukuruza.

Dodatak zaštićenih aminokiselina u MPD obrok je ispunila očekivanja iskorištenja dnevnog lizina. Prema navodima Schweb i sur. (2005.) MPD obrok je bio 14% u deficitu dnevnog metionina, a potrebe dnevnog lizina su se ispunjavale. Dok je dodatak zaštićenog metionina i lizina premašio sve procijenjene potrebe dnevnog metionina i lizina. Prema Lee i sur. (2012.) MPA obrok i MPD obrok nadopunjen zaštićenim metioninom i MPD obrok nadopunjen zaštićenim metioninom, lizinom i histidinom zadovoljavali su potrebe dnevnog histidina. Ostali obroci su bili od 3% do 5% u deficitu dnevnog histidina.

Unos suhe tvari prilikom MPD obroka je bio smanjen, imao je tendenciju smanjenja za razliku od MPA obroka. Prinos mlijeka i laktoze smanjen je u svim MPD obrocima u odnosu na MPA obrok (čak i MPDMLH). Koncentracija mliječne masti se povećala kod MPDMLH obroka u odnosu na MPD obrok, a kod ostatka obroka nije različit od MPA obroka. Ubio mliječnih proteina bio je viši kod MPDM, MPDL, MPDH i MPDMLH obroka u odnosu na MPA obrok. Koncentracija aminokiselina, točnije alanina u plazmi je povećana kod MPD obroka u odnosu na MPA obrok. Koncentracija arganina, izoleucina, leucina, fenilalanina i valina, kao i svih esencijalnih aminokiselina je bila veća kod MPA u odnosu na MPD obrok. Kod MPDM obroka udio asparagnina i glutamina bio je niži u odnosu na MPA. Glicin i serin su obično bili viši kod MPD obroka. Razina lizina bila je manja kod MPD, MPDM i MPDH obrok u odnosu na MPA, dok je kod MPDL i MPDMLH razina bila viša za razliku od MPD obroka. Koncentracija metionina povećana je MPDMLH obrokom u odnosu na MPD obrok, također je imala tendenciju povećanja u MPDM i MPDMLD u odnosu na MPA. Koncentracije prolina, triptofana i taurina nisu bile pod utjecajem tretmana.

Tablica 6. Rezultati hranidbe različitim obrocima

	OBROK I i II					
	MPA	MPD	MPDM	MPDL	MPDH	MPDMLH
Prinos mlijeka, kg/dan	42,5	38,2	38,5	37,9	38,4	39,6
Iskorištenje hrane, kg/kg	1,47	1,39	1,38	1,36	1,35	1,40
Mliječna mast, %	3,94	3,72	3,80	3,84	3,96	4,01
Mliječni protein, %	3,02	3,00	3,04	3,13	3,11	3,14
Laktoza, %	4,76	4,78	4,79	4,80	4,77	4,71
Tjelesna težina, kg	585	595	594	590	595	591
Promjena tjelesne težine, g/dan	196	135	138	174	187	211

Izvor: Giallongo i sur. 2016.

Razina hemoglobina smanjena je MPD, MPDM i MPDL obrokom u odnosu na MPA, a za krave koje primaju MPDH i MPDMLH nije bila promijenjena u odnosu na MPA.

Koncentracija glukoze je povećana kod MPDL i MPDMLH obroka u usporedbi s MPD obrokom. Koncentracija grelina je bila veća kod MPD za razliku od MPA obroka.

Općenito, koncentracija zasićenih masnih kiselina je viša kod MPD obroka, a koncentracija ne zasićenih masnih kiselina je niža. Kod MPDMLH obroka udio zasićenih masnih kiselina je manji u odnosu na MPD obrok.

Tablica 7. Učinak obroka na metabolite i hormone krvne plazme

	OBROK I i II					
	MPA	MDP	MPDM	MPDL	MPDH	MPDMLH
Hemoglobin , g/dL	9,37	8,87	8,69	8,87	9,17	9,02
Glukoza, mg/dL	56,8	55,7	5,7	59,1	57,5	59,5
Inzulin, μ UI/mL	13,3	13,0	12,3	14,8	13,1	13,4
Grelina, pg/mL	120	147	146	146	131	136
Kreatinin, mg/mL	1,55	1,47	1,53	1,53	1,45	1,51

Izvor: Giallongo i sur. 2016.

U raspravi je navedeno da pojedinačna nadopuna MPD obroka metioninom, lizinom i histidinom nije malo utjecala na visinu prinosa mlijeka, no dodavanje kombinacije od sve tri zaštićene aminokiseline je doprinijelo prinosu mlijeka.

Pojedinačna nadopuna metioninom i lizinom nije imalo utjecaja na udio mliječne masti u ovom eksperimentu, međutim Watanabe i sur. (2006) i Zanton i sur. (2014) u svom

istraživanju navode da je koncentracija mliječne masti veća u odnosu na bazalni obrok zbog učinka metionina na metalnih skupina i sintezu holina.

Nadopuna obroka sa 3 zaštićene aminokiseline u ovom pokusu su doveli do povećanja udjela mliječne masti, to se može pripisati dodatku zaštićenog lizina i histidina i koncentraciji masnoće u njihovom sastavu.

Dodatak zaštićenog metionina u MPD obrok nije imalo nikakvog utjecaja na udio mliječnih proteina u ovom pokusu kao ni u drugim provedenim pokusima. Pojedinačno oplemenjivanje zaštićenim lizinom i histidinom, kao i kombinacija s metioninom je dovelo do povećanja mliječnih proteina u mlijeku.

Tjelesna težina je bila manja kod krava koje su hranjene s obrokom koji ima 5% manje metabolizirajućeg proteina u usporedbi s obrokom oplemenjenim zaštićenim aminokiselinama.

Krave hranjene MPD obrokom bez dodatka zaštićenih aminokiselina su imale manje koncentracije svih esencijalnih aminokiselina u plazmi, izuzetak čini metionin koji se nije razlikovao u usporedbi s MPA obrokom. Neesencijalne aminokiseline imaju tendenciju povećanja kod MPD obroka.

Krave hranjene obrocima s manjenim udjelom MP imale su u prosjeku 6% manju koncentraciju mioglobina u krvi u usporedbi s MPA obrokom, a oplemenjivanje MPD obroka zaštićenim histidinom je dovelo do povećanja razine histidina u plazmi.

Ukupno gledano zaključuje se da histidine pozitivno djeluje na unos suhe tvari, a kombinacija od 3 zaštićene aminokiseline (metionin, lizin i histidine) ima potencijal povećanja proizvodnje mlijeka i prinosa komponenti mlijeka.

7. ZAKLJUČAK

Pravilnom i izbalansiranom hranidbom kravama omogućava da pokažu svoj puni genetski potencijal i ostvare maksimalnu proizvodnju.

Proučavanjem navedenih studija može se doći do zaključka kako upotreba protektiranih aminokiselina ne daje odgovarajuće rezultate. Vidljivo je da dodatak samo jedne zaštićene aminokiseline nema zadovoljavajući učinak no kombiniranje nekoliko aminokiselina ima pozitivan učinak. Za željenu proizvodnju je potrebno imati adekvatan obrok sa dovoljnom količinom sirovog i metabolizirajućeg proteina te dovoljnom količinom protektiranih aminokiselina.

Dodatak zaštićenog metionina ne povećava proizvodnju mlijeka, kao ni udio komponenti mlijeka, ali povećava ukupnu koncentraciju metionina u plazmi i krvi. Kombinacija metionina i lizina dovodi do povećanja proizvodnje, ali također ne na očekivanoj bazi. Međutim dodatak kombinacije zaštićenog metionina, lizina i histidina dovodi do povećanja proizvodnje kao i komponenti mlijeka, a i povećanja zaštićenih aminokiselina u plazmi i krvi. Također dovodi i do povećanja hormona i metabolita plazme.

Osim količina dodanih aminokiselina na proizvodnju utječe i sastav kao i udio sirovih proteina obroka.

8. POPIS LITERATURE

1. Adamović M, Grubnić G. (2003): Ishrana visokoproduktivnih krava, Beograd, Srbija
2. Berthiaume R. i sur. (2001): Intestinal Disappearance and Mesenteric and Portal Appearance of Amino Acids in Dairy Cows Fed Ruminally Protected Methionine, *J. Dairy Sci.* 84: 194-203, American Dairy Science Association
3. Chesson A. i Wallance R.J. (1995): *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*, New York (USA)
4. Domaćinović M. (2006): *Hranidba domaćih životinja*, Osijek, Hrvatska
5. Feldhofer S. (1997): *Hranidba goveda*, Zagreb, Hrvatska
6. Giallongo F. (2016): Effects of rumen-protected methionine, lysine, and histidine on lactation performance of dairy cows, *J. Dairy Sci.* 99:4437–4452, American Dairy Science Association
7. Glavić M. i sur. (2016): *Proizvodnja mlijeka*, Priručnik za poljoprivredne proizvođače, USAID Bosna i Hercegovina
8. Grbeša D. (1993): *Aktualnost u hranidbi preživača*, pregledni članak, Zagreb
9. Kalivoda M. (1990): *Krmiva; sastav, hranjiva vrijednost i primjena u hranidbi domaćih životinja*, Zagreb, Hrvatska
10. Lee C. i sur. (2015): Effect of dietary protein level and rumen-protected amino acid supplementation on amino acid utilization for milk protein in lactating dairy cows, *J. J. Dairy Sci.* 98 :1885–1902, American Dairy Science Association
11. Socha M.T. i sur. (2005): Improving Intestinal Amino Acid Supply of Pre- and Postpartum Dairy Cows with Rumen-Protected Methionine and Lysine, *J. Dairy Sci.* 88:1113–1126, American Dairy Science Association
12. Sok M. i sur. (2017): Amino acid composition of rumen bacteria and protozoa in cattle, *J. Dairy Sci.* 100:5241–5249, American Dairy Science Association
13. https://www.researchgate.net/profile/Adem_Kamalak/publication/266480414_Protected_Protein_and_Amino_Acids_in_Ruminant_Nutrition/links/5695fd4808ae3ad8e33d98dd/Protected-Protein-and-Amino-Acids-in-Ruminant-Nutrition.pdf (21.04.2019)
14. <https://bib.irb.hr/datoteka/304397.praxis-n.filipovic-55-1-2.pdf> (21.04.2019)

POPIS SLIKA

Slika 1. Kemijska formula lizina

Slika 2. Kemijska formula metionina

Slika 3. Sadržaj mliječnih proteina kroz određeno vremensko razdoblje: (▪) obrok s 16,0% sirovog proteina, (♦) obrok s 18,5% sirovog proteina

Slika 4. Sadržaj mliječne masnoće kroz određeno vremensko razdoblje: (▪) obrok s 16,0% sirovog proteina, (♦) obrok s 18,5% sirovog proteina

POPIS TABLICA

Tablica 1. Sastav obroka korištenog u pokusu

Tablica 2. Količina esencijalnih aminokiselina u obroku

Tablica 3. Komponente bazalnog obroka

Tablica 4. Sastav bazalnog obroka

Tablica 5. Kemijski sastav bazalnog obroka

Tablica 6. Rezultati hranidbe različitim obrocima

Tablica 7. Učinak obroka na metabolite i hormone krvne plazme