

Udio zasićenih hlapljivih masnih kiselina u buragu teladi ovisno o hranidbi

Stojanović, Lara

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:151:817788>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-05**



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

Lara Stojanović, studentica

Diplomski sveučilišni studij Zootehnika

Smjer Hranidba domaćih životinja

**UDIO ZASIĆENIH HLAPLJIVIH MASNIH KISELINA U BURAGU TELADI
OVISNO O HRANIDBI**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Lara Stojanović, studentica

Diplomski sveučilišni studij Zootehnika

Smjer Hranidba domaćih životinja

**UDIO ZASIĆENIH HLAPLJIVIH MASNIH KISELINA U BURAGU TELADI
OVISNO O HRANIDBI**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STORSSMAYERA U OSIJEKU

FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Lara Stojanović, studentica

Diplomski sveučilišni studij Zootehnika

Smjer Hranidba domaćih životinja

**UDIO ZASIĆENIH HLAPLJIVIH MASNIH KISELINA U BURAGU TELADI
OVISNO O HRANIDBI**

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Pero Mijić, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Zvonimir Steiner, mentor
3. Prof. dr. sc. Vesna Gantner, član

Osijek, 2020,

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	2
2.1. Masti.....	2
2.1.1. <i>Biološko značenje masti</i>	3
2.1.2. <i>Karakteristike masti</i>	4
2.2. Masne kiseline	5
2.2.1. <i>Zasićene masne kiseline</i>	7
2.3. Probavni sustav	9
2.3.1. <i>Burag</i>	12
2.3.2. <i>Mikropopulacija buraga</i>	13
2.4. Probava i resorpcija masti	14
2.4.1. <i>Metabolizam masti</i>	15
2.5. Razvoj probavnog sustava i probave hrane kod teladi	17
2.5.1. <i>Promjene funkcionalnosti i strukture intestinalnog dijela probavnog sustava</i>	20
3.MATERIJAL I METODE.....	22
4. REZULTATI.....	23
5. RASPRAVA	26
6.ZAKLJUČAK.....	28
7. POPIS LITERATURE	29
8. SAŽETAK.....	31
9. SUMMARY	32
10. POPIS TABLICA	33
11. POPIS SLIKA	34
12. POPIS GRAFIKONA	35
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA.....	36
BASIC DOCUMENTATION CARD	37

1. UVOD

Kod teladi se tijekom prvih mjeseca života javljaju anatomske-fiziološke promjene u razvoju probavnog sustava, u kojima telad iz monogastričnog probavnog režima prelazi u poligastrični probavni režim s čime postaje funkcionalni preživlač. Tijekom tog perioda telad prolazi kroz razna stresna razdoblja, kao što je odvajanje od majke te prelazak s tekuće na krutu hranu. U vrlo kratkom periodu tele je u pogledu hranidbe suočeno sa tri vrste fizioloških i probavnih adaptacija: ekstrauterini život, predruminalno razdoblje i ruminalno razdoblje nakon odbića. Tijekom perinatalnog perioda dolazi do anatomskih i funkcionalnih promjena probavnog sustava. Te promjene se odnose na rast organa, žlijezdi, mukoznog tkiva te pokretljivosti probavnog sustava. Glavni cilj hranidbe teladi u tom razdoblju je osigurati pravilan rast i razvoj teleta, te stvaranje funkcionalnog preživlača, uz pravilno balansirani odnos hranjivih tvari, prvenstveno proteina, energije i mineralnih tvari.

Cilj istraživanja je utvrditi utjecaj dodavanja sirutke, te izvora aminokiselina i proteina s niskim antinutritivnim faktorima u peletiranu starter smjesu ujednačenih nutritivnih vrijednosti u hranidbi muške teladi na proizvodnju hlapljivih masnih kiselina u sadržaju buraga.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Masti

Masti predstavljaju skupinu organskih hranjivih tvari koje se u pogledu kemijskog sastava razlikuju manje ili više, ali zajednička osobina im je da su topivi u istim otapalima: metanolu, etanolu, benzenu, acetonu, eteru itd., a slabo u vodi (Domaćinović., 2006.). U vodenom mediju stvaraju koloidne ili miceralne otopine. Vrlo su raširene u prirodi i predstavljaju značajnu komponentu životinjskog i biljnog organizma. Funkcija u organizmu je za održavanje tjelesne temperature i energije za odvijanje proizvodnih funkcija organizma, ili kao izvor rezervne energije u obliku triglicerida. Životinjski organizam prema fiziološkoj funkciji razlikuje spremišnu mast koja je energetska element i tkivnu mast koja služi kao građevni element. U krvi i limfi nalazi se treći oblik masti takozvani transportni oblik masti. Masti imaju najveći izvor energije od svih hranjivih tvari. Energetska vrijednost im je 39.76 kJ, dok je kod ugljikohidrata 16.16 kJ i bjelančevina 23.44 kJ (Bogut i sur., 2013). Masti su izvor esencijalnih masnih kiselina, liposolubnih vitamina (A, D, E i K), te su sastavni dio staničnih membrana.

Masti dijelimo na :

- Prave masti
- Složene masti
- Derivati masti
- Pratioci masti

Prave masti su esteri trovaletnog alkohola glicerola i viših masnih kiselina. Ovisno o broju masnih kiselina vezanih za glicerol mogu biti monogliceridi, digliceridi i trigliceridi. Ovisno o vrsti masnih kiselina trigliceridi mogu biti jednostavni, tada su sastavljeni od istih masnih kiselina, a kada su sastavljeni od dvije ili tri različite masne kiseline onda su složeni. U prirodi su složeni trigliceridi najčešći, u stočnoj hrani od ukupne masti ima ih oko 98%, a u tijelu životinjskog organizma oko 90%. Uz glicerol, masne kiseline su druga osnovna komponenta neutralnih masti. Čine ih pravi i dugi ugljikovodični lanci sa parnim broje ugljikovih atoma u molekuli. U prave masti spadaju i voskovi, koji su sastavljeni od masnih kiselina dugog lanca. Oni su esteri masnih kiselina i alkohola velike molekularne mase. U probavnom sustavu životinja teško se razgrađuju, te nemaju nikakvu hranjivu vrijednost. Kod životinja ih se sreće na vunskoj niti i perju kao voštana opna koja hidrofobnim svojstvima štiti od vode (Domaćinović., 2006.).

Složeni lipidi čine 20-30% ukupne masti, tu se ubrajaju fosfolipidi, glikolipidi, lipoproteidi i sulfolipidi. Građa im je složenija, a karakteristike su im da je u strukturi triglicerida jedna ili više masna kiselina zamijenjena fosfornom kiselinom. Najvažniji su fosfolipidi koji u jetri čine 50-70% ukupnih lipida. Veći dio masnih kiselina fosfatida izgrađuju nezasićene masne kiseline, koje se posebno nalaze u biljnim masnoćama u količini od 70-80%. Postoje dvije vrste fosfatida a ti su lecitin i kefalini. Sjeme soje je bogato lecitinom, a koristi se kao emulzivna tvar u mliječnim zamjenicama za telad. Složeni lipidi neophodni su za normalnu fiziološku funkciju organizma, tako što se vežu na protoplazmu stanica svih važnih tkiva. Fosfolipidi imaju svojstvo emulgatora zbog sadržaja svojih hidrofilnih i hidrofobnih masnih skupina, koji su važni pri transportu masti krvlju i sastavna su komponenta stanične membrane. Također i lipoproteini zajedno sa fosfolipidima su važni za transport masti u intermedijalnom metabolizmu hranjivih tvari (Domaćinović., 2006.).

Glikolipidi na dvije hidroksilne skupine glicerola vežu masne kiseline, a na trećem mjestu je jedna ili dvije molekula galaktoze. Nalaze se u masnoćama u stanicama voluminoznih krmiva, u obliku galakolipida gdje mogu doseći i količinu do 100g/kg u ST (Domaćinović., 2006.).

Derivati – pratioći masti su masne tvari nastale hidrolizom pravih i složenih masti. U ovu skupinu spadaju slobodne masne kiseline nastale razgradnjom pravih masti i sterola. Jedino zajedničko svojstvo pratioća masti sa mastima je što se otapaju u istim otapalima: vitaminima topivim u mastima, eteričnim uljima, bojama topivim u mastima, smoli i karatenoidima. Biološki važne pratioće masti sterole čine: kolesterol, žučne kiseline, vitamin D i steroidni hormoni. Od životinjskog sterola najvažniji je kolesterol. On je osnovna građevna jedinica staničnih membrana, nalazi se u krvnoj plazmi, žuči i lipoproteinima. Značaj mu je da se pod utjecajem sunčevih zraka stvara vitamin D. Holna kiselina je proizvod metabolizma kolesterola. Struktura joj je slična strukturi žučne kiseline i predstavlja polaznu tvar u njenoj sintezi. Soli žučnih kiselina imaju velik značaj u probavi masti. Karatenoidi su prateće tvari u mastima koje imaju karakter boje, žute i crvene pigmentne tvari. Također imaju i karakter provitamina.

2.1.1. Biološko značenje masti

Masti u prirodi dobivaju boju od pigmenata, dok miris i okus dobivaju od razgrađenih tvari. Najvažnije masne depoe predstavlja područje potkožnog tkiva, okolina bubrega, crijeva te trbušne šupljine u kojima se sintetiziraju masti tijela iz masti, ugljikohidrata, a ponekad i iz

viška bjelančevina hrane. Deponirane masti (trigliceridi) nisu inertne, već su u stanju stalne mobilizacije i zamjene. Ovo je značajno kod mliječnih goveda gdje se karakteristikom masti hrane može utjecati na tvrdoću maslaca. Pošto su masni depoi slab provodnik topline, oni imaju ulogu toplinskog izolatora. Služe kao zaštita osjetljivih organa, te kao spremnik vitamina topivih u mastima. Manji dio masti u obliku fosfolipida i kolesterola izgrađuju stijenke stanice, aktivno tkivo, mozak i živce, gdje imaju strukturnu funkciju, važna su komponenta i u intermedijarnom metabolizmu hranjivih tvari. Masti kao hranjive tvari su bitna komponenta u obroku životinja. Najveća potreba za mastima kod životinja je tijekom velikih napora organizma, intenzivnog tova, te kod visoke mliječnosti.

2.1.2. Karakteristike masti

Mjera za ocjenu karaktera masti je točka topljenja. Kako se masti sastoje od jedne ili više masnih kiselina, to će konzistencija i točka topljenja ovisiti o karakteru zastupljenih masnih kiselina. Kako su zasićene i nezasićene masti u tekućem stanju, pravilo je da što veća količina ovi masnih kiselina u masti to će točka topljenja biti niža. Točka topljenja svinjske masti je od 36°C do 46°C, goveđeg loja od 42-49°C, a gušće masti od 26-34°C iz toga slijedi da s obzirom na tjelesnu temperaturu organizma životinje, dio masti svinja i gusaka je u tekućem stanju dok je kod goveda u krutom stanju (Domaćinović., 2006.).

Jodni broj je mjera za stupanj nezasićenosti masni kiselina. Na svaku dvostruku vezu nezasićenih masnih kiselina vežu se 2 atoma joda, te se s toga jodni broj povećava ili smanjuje ovisno o količini nezasićenih masnih količina, odnosno ovisno o broju dvostrukih veza. Jodni broj je količina joda u gramima apsorbirana na 100 g masti. Predstavlja najbolje mjerilo za ocjenu karaktera masti (Domaćinović., 2006.).

Saponifikacijski broj je izraz za srednju molekularnu masu masnih kiselina u mastima. Mjeri se utroškom NaOH potrebnog za hidrolizu 100 g masti. Kako su kiseline monohidroksilne, tako se na svaku masnu kiselinu veže po jedan ion Na stvarajući soli masnih kiselina – sapune. Što je manja molekula masnih kiselina, to je veći broj tih molekula u masi masti, pa je potrebna i veća količina alkalija za saponifikaciju (Domaćinović., 2006.).

Hidrogenizacijom se može povećati stupanj zasićenosti masnih kiselina u masti. Procesom hidrogenizacije vodik se dodaje na mjesta dvostrukih veza, pri čemu nezasićene masne kiseline bivaju prevedene u zasićene. U praksi se ovim postupkom od biljnih ulja dobivaju masti potrebne tvrdoće kao margarin. Na ovaj način se poboljšava stabilnost masti, što je bitno tijekom njenog skladištenja. Prirodan proces hidrogenizacije se dešava u

predželudcima preživača pomoću mikroorganizama, gdje prevode nezasićene masne kiseline u zasićene masti tijela, odnosno loj (Domaćinović., 2006.).

Užeglost masti karakterizira kvarenje masti, ona nastaje hidrolizom ili oksidacijom masti. Hidrolitičko kvarenje nastaje djelovanjem lipolitičkih enzima i mikroorganizmima za stvaranje slobodnih masnih kiselina, koje mijenjaju okus i miris masti. Javlja se kod masti sa većim udjelom nižih masnih kiselina. Oksidativna užeglost masti je češći oblik užeglosti. Nastaje vezanjem kisika na mjesta dvostrukih veza nezasićenih masnih kiselina stvarajući perokside. Peroksidi su hlapljivi aldehidi, ketoni i kiseline. Kvarenje masti potiče vlaga, svjetlost i toplina. Za sprječavanje kvarenja mast u organizmu koriste se prirodni antioksidansi, kao što su tokoferol i vitamin E , te sintetski antioksidansi poput fenola. Antioksidansi su tvari koje same lako oksidiraju te na taj način zaštićuju masti od oksidacije. Pod procesom užeglosti masti dolazi do razgradnje vitamina topivih u mastima A i E. Također pod utjecajem vlage, svjetla i topline dolazi do oksidacije masti, pri čemu se razlažu na masne kiseline i glicerol, a pri tome se stvara niz proizvoda koji mastima daju neugodan miris, te su zbog toga neupotrebljive za konzumaciju. Mjerenje stupnja užeglosti masti provodi se mjerenjem peroksidnog broja (Domaćinović., 2006.).

Stupanj kiselosti je način određivanja slobodnih masnih kiselina u mastima. To je količina KOH u miligramima, potrebnih za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina u 1 gramu masti. Ova mjera danas ima manji značaj jer se u hranu životinja dodaju čiste masne kiseline (Domaćinović., 2006.).

2.2. Masne kiseline

Početak 19. st Michel Eugene Chevreul, postavio je temelje proučavanja masnih kiselina, masti i ulja. Od tada se puno više saznalo o masnim kiselinama koje nastaju saponifikacijom prostih masti. Kao što je već i navedeno masne kiseline čine dugi i pravi ugljikovodični lanci sa parnim brojem ugljikovih atoma u molekuli. Sistematska imena masnih kiselina nastaju od imena ishodnih ugljikovodika. Ugljikov atom neposredno uz karboksilat nazivamo α , sljedeći ugljik β i tako dalje. Posljednji atom u lancu, metilni ugljik naziva se omega, te prema mjestu prve dvostruke veze od toga kraja govorimo o omega-3, omega 6 ili omega-9 masnim kiselinama (Bogut i sur., 2013.). Masne kiseline sa neparnim brojem C-atoma izgrađuju masti morskih životinja. masne kiseline sa malim brojem C-atoma (4-8) nazivaju se niže ili hlapljive masne kiseline, u prirodi se nalaze u tekućem stanju. Masne kiseline mogu biti zasićene i nezasićene .zasićene masne kiseline imaju sva vezna mjesta zauzeta

atomima vodika tj, nalaze se u maksimalno reduciranom obliku. Kod zasićenih masnih kiselina svi ugljikovi atomi su povezani jednostrukim vezama, dok su kod nezasićenih povezani sa jednom ili više dvostrukih veza. Zasićene masne kiseline nalaze se u krutom stanju, dok se nezasićene nalaze u tekućem. (Fruton i sur., 1970.) Skraćeni opisni naziv masnih kiselina sadrži samo broj atoma ugljika i broj dvostrukih veza u njima (napr. C18:0 ili 18:0 – starinska kiselina koja sadrži 18 atoma ugljika i 0 dvostrukih veza između atoma ugljika (Bogut i sur., 2013.).

Prepoznat je značajan broj zasićenih masnih kiselina, čija je opća formula $C_n H_{2n+1} COOH$, od svih je najrasprostranjenija palmitinska kiselina. Zasićene masne kiselina sa pravim lancem i parnim broje atoma ugljika nalaze se u životinjskim i biljnim uljima i mastima . U prirodi se nalaze mnoge nezasićene masne kiseline pravog lanca. Oleinska kiselina je obavezni sastojak prirodnih masti (Fruton i sur., 1970.).

Većina masnih kiselina se nalazi u cis obliku. Trans izomer oleinske kiselina i neke nezasićene masne kiseline u trans obliku nađene su u tragovima u prirodnim mastima. Zanimljivost je da se trans izomeri mogu naći u velikim količinama od oko 20% od ukupnih masnih kiselina u tjelesnim mastima preživača., smatra se da nastaju djelovanjem bakterija preživača na cis kiseline unjete hranom (Fruton i sur., 1970.).

Zbog svoje strukture masne kiseline imaju karakterističnu osobinu na površini vode ili između vode i organskih tvari. Masne kiseline dugog lanca su sastavljene od dijela sličnog ugljikovodiku, koji je ne topljiv u vodi a topljiv je u organskim otapalima, i polarne karboksilne grupe koja je topljiva u vodi. Zbog toga se na površini vode i benzena te molekule orijentiraju tako da su ugljikovodični lanci usmjereni u organski rastvarač, dok su karboksilne grupe privučene vodenim slojem. Ako se kap oleinske kiseline spusti na površnu vode, masna kiselina će se raspršiti po površini zbog afiniteta karboksilnih grupa prema vodi. Pošto je međusobno privlačenje ugljikovodičnih ostataka jače od afiniteta oleinske prema vodi, raspršivanje će prestati kada se formira jednomolekulski sloj (Fruton i sur., 1970.).

Nezasićene masne kiseline su podložne oksidaciji na mjestu dvostrukih veza. Nezasićene masne kiseline dugog lanca se mogu pomoću prirodnih katalizatora kao što su metali, ili enzima lipoksidaze oksidirati u masne kiseline kratkih lanaca. To razlaganju prethodi stvaranje peroksida kao intermedijara. Za užeglost mast izloženih kisiku su odgovorne masne kiseline kratkog lanca, koje imaju karakterističan miris. Pošto je ovaj dio kemije vrlo bitan za industriju, velika pažnja se usmjerila na pronalasku antioksidansa koji bi spriječili

oksidaciju masti. Među mnogim supstancama koje djeluju kao antioksidansi najveći je broj fenola i supstanca koji se nalaze u prirodi kao tokoferoli, askorbinska kiselina itd. (Fruton i sur., 1970.).

Masti koje sadrže nezasićene masne kiseline mogu da se hidrogeniranjem na mjestu dvostrukih veza u prisustvu prirodnog katalizatora prelaze u odgovarajuće zasićene masne kiseline. Hidrogenizacijom oleinske, linolenske i linoleinske nastaje palmitinska kiselina (Fruton i sur., 1970.).

2.2.1. Zasićene masne kiseline

Zasićene masne kiseline se nazivaju tako jer ne sadrže dvostruke (kovalentne) veze ili druge funkcionalne skupine u molekularnom lancu. Sam pojam "zasićen" se odnosi na vodik koji se u maksimalnom mogućem broju veže na ugljikove atome u lancu (osim kod karboksilne skupine -COOH). Drugim riječima, zato što je ugljik 4-valentan, na svaki atom ugljika vežu se druga dva atoma ugljika i po dva atoma vodika, osim na drugom kraju lanca masne kiseline gdje je karboksilna skupina -COOH (a taj se kraj lanca naziva omega - ω) i gdje se vežu tri atoma vodika (CH₃-). Zasićene masne kiseline tvore ravne lance atoma i kao rezultat toga mogu se zgusnuto skladištiti u organizmu, dopuštajući veću količinu energije po jedinici volumena. Masno tkivo čovjeka i životinja sadrži velike količine dugolančanih zasićenih masnih kiselina.

Tablica 1. Primjeri zasićenih masnih kiselina (Fruton i sur.,1970.)

Zasićene masne kiseline		Izvori
Octena kiselina	CH_3COOH	Jabučni i vinski ocat
Maslačna kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Maslac, masti iz mlijeka
Kaprinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	Kokosov orah, palmino ulje
Kaprilna	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	Kokosov orah, palmino ulje
Kaprinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	Kokosov orah, palmino ulje
Laurinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Lovorovo ulje
Miristinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Maslac iz orašćića
Palmitinska	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Životinjske, biljne i bakterijske masti
Stearinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Životinjske, biljne i bakterijske masti
Arahinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Ulje kikirikija
Behenska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	Ulje kikirikija
Lignocerinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	Ulje kikirikija, ulje iz sjemena repice
Cerotinska kiselina	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{COOH}$	Lanolin-masti iz vune

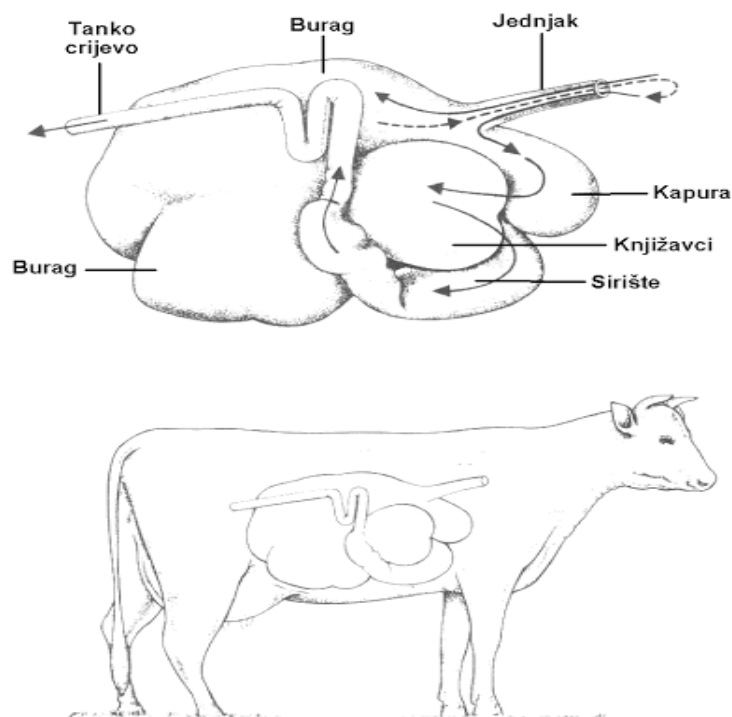
Ovaj proces im omogućava da u kratkom vremenu konzumiraju velike količine hrane koja će se kasnije iz buragu ponovno vratiti u usnu šupljinu. Nakon što životinja uzme hranu ona se natapa slinom. Slina goveda ne sadrži enzime, ali ima veliku pufernu sposobnost pH 8.1 i ulogu u održavanju optimalne pH vrijednosti buraga. Slina sadrži bikarbonate, te natrij i fosfate kojima se neutraliziraju kiseline buraga nastale probavnim procesima u predželudcima. Krava proizvede dnevno između 40 i 150 litara sline (Domaćinović i sur., 2015.). Količina sline ovisi o tipu hrane, gruba voluminozna krmiva povećavaju sekreciju sline dok je koncentrirana krma umanjuje. Normalno lučenje sline važno je za sprječavanje pojave nadma, jer dovoljna količina sline olakšava odvajanje plinova iz tekućega sadržaja buraga.

Nakon natapanja hrane slinom i žvakanja, hrana odlazi u jednjak. Jednjak je mišićna tvorba, koja se proteže od ždrijela i ulazi u kardijačni dio buraga. njegova je zadaća peristaltičkim kontrakcijama prenositi hrane prema predželudcima, isto tako služi za vraćanje hrane u usnu šupljinu prilikom akta preživanja. Kada hrana prođe ždrijelo, gornji ezofagealni sfinkter se zatvara i nastavlja se disanje. Centri gutanja iniciraju kontrakcije cirkularnih mišića koje se šire prema dolje pokrećući i progutanu hranu prema želudcu (Domaćinović i sur., 2015.).

Iz jednjaka hrana dolazi u složeni želudac. Najvažniji dio složenog želudca preživača čini burag. Burag zajedno s kapurom čini rumino retikularnu cjelinu. Knjižavac koji čini treći dio složenog želudca djeluje kao pumpa i zadatak mu je usisavanje djelomično probavljene hrane iz rumino retikularne cjeline. Ova tri dijela složenog želudca čine predželudce preživača. Četvrti dio, sirište odgovara pravom želudcu kao i kod nepreživača. U buragu se nalaze bakterije, protozoa i gljivice koje imaju funkciju razraditi hranjive tvari stvarajući specifične produkte. Djelomično probavljena hrana iz rumino-retikularnog sustava dopijeva u knjižavac. Uloga knjižavca je u prosijavanju hrane pri čemu manje čestice prolaze u sirište. Dakle, uloga mu je reguliranje pasaže hrane. U knjižavcu također dolazi do resorpcije vode. Iz knjižavca hrana dopijeva u sirište, koji odgovara pravom želudcu nepreživača po svojim karakteristikama probave. Glavna odlika sirišta je prisutnost kloridne kiseline zbog niskog pH koja stvara uvjete za degradiranje mikroorganizama i neprobavljenog dijela hrane koja iz predželudca dopijeva u sirište. U sirištu se luče i dva enzima, pepsin i renin. Pepsin sudjeluje u razgradnji bjelancevina, dok renin luče samo mladi preživači, uloga mu je probavljanje mlijeka.

Nakon sirišta djelomično razgrađena hrana odlazi u tanko crijevo, čija je glavna uloga enzimatska razgradnja hranjivih tvari. Tanko crijevo se dijeli u tri razložita dijela: dvanaesnik (duodenum), prazno crijevo (jejunum) i vito crijevo (ileum). Prvi dio tankog crijeva sadrži izlaze za pankreasni sok i žuč. Žučne soli se produciraju u jetri i čuvaju se u žučnoj vrećici odakle se ulijevaju u dvanaesnik. Glavna im je funkcija neutralizacija kiselog dijela humusa koji dolazi u tanko crijevo. Služe za emulgiranje masti tako da ju čine pogodnom za daljnju razgradnju. Pankreasni sok sadrži enzime koji sudjeluju u probavi bjelančevina, masti i ugljikohidrata. U jejunumu i ileumu se događa daljnja enzimatska probava hrane. U tankom crijevu se luči veliki broj enzima koji ugljikohidrate, masti i bjelančevine razgrađuju do krajnjih produkata metabolizma (monosaharida, masnih kiselina i glicerola). Tanko crijevo je i glavno mjesto resorpcije hranjivih tvari, koja se odvija uz pomoć crijevnih resica.

Zadnji dio probavnog sustava čini debelo crijevo, koje se dijeli na: coecum (slijepo crijevo), colon (ravno crijevo) i rectum. Osnovna funkcija ravnog crijeva je resorpcija vode, te razgradnja teško lignificiranih polisaharida pomoću bakterija. U rektumu se formira izmet te se transportira do rectuma.



Slika 2. Probavni sustav krave

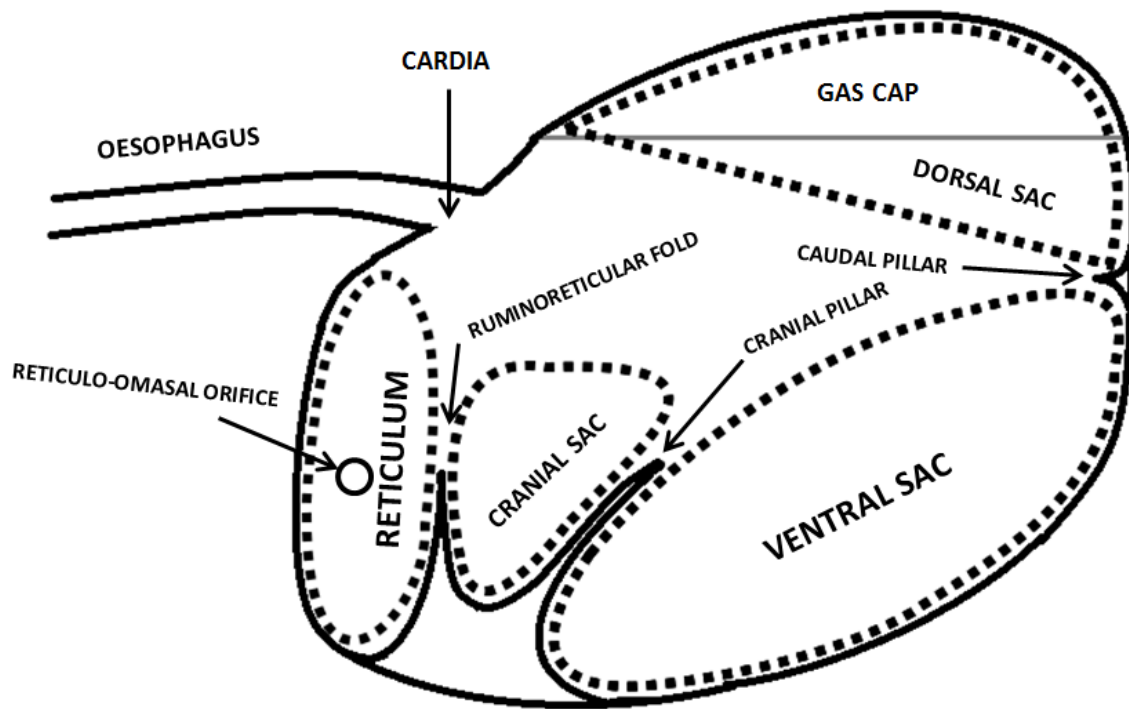
Izvor : <http://e-skola.biol.pmf.unizg.hr/odgovori22.htm>

2.3.1. Burag

Kao što je već i navedeno, za razliku od drugih životinja, preživači imaju složeni želudac koji se sastoji od četiri dijela: buraga (rumen), kapure (retikulum), knjižavca (omasus) i pravog želuca (abomasus). Burag, kapura, knjižavac čine predželudce, dok sirište čini pravi želudac koji odgovara želudcima svejeda i mesojeda.

Burag spada pod najrasprostranjeniji dio probavnog trakta preživača. Njegov volumen kod goveda je 120 do 220 litara. Ispunjava cijelu lijevu stranu trbušne šupljine, ima oblik spljoštene vreće. Može se napipati pritiskom šake na lijevu gladnu jamu, odmah iza zadnjeg rebra. Pruža se od ošita do zdjelice, te od dorzalnog do ventralnog dijela trbuha. Na njemu se uočava lijeva i desna postrana površina. Na lijevoj i desnoj postranoj površini pruža se po jedan buragov žlijeb. Lijevi uzdužni žlijeb i desni uzdužni žlijeb s prednje i stražnje strane spajaju se s dubokim prednjim buragovim žljebom i stražnjim buragovim žljebom. Ti žljebovi zajedno dijele burag na dorzlanu i ventralnu buragovu vreću. Prednja buragova vreća otvara se u kapuru, kroz koju prolazi sadržaj iz buraga u kapuru i obratno. Taj otvor ima važnu ulogu u preživljanju kao i „katapult-želudca“, koji hranu ponovno vraća u kapuru. Razdvajanje buraga i kapure prepoznaje se prema položaju širokoga buražnog kapularnog žljeba.

Buragove grede se nalaze s unutarnje strane buraga prekrivene su sluznicom i prevučene mišićnim gredama. Uloga im je u motorici buraga. Kutana sluznica je prekrivena mnogoslojnim pločastim oroženim epitelom koji tvori bradavičaste izrasline koje su različitog oblika i veličine. Zbog toga je unutrašnja površina buraga hrapava i gruba. Papile buraga imaju važnu ulogu da povećavaju površinu buraga za 7 puta te su važne za apsorpciju hlapljivijih masnih kiselina, vitamina K i vitamina B skupine. Veličina papila ovisi o načinu hranidbe, preživači koje se hrane koncentriranim krmivima imaju veće papile za razliku od preživača koji se hrane voluminoznom hranom.



Slika 3. Burag

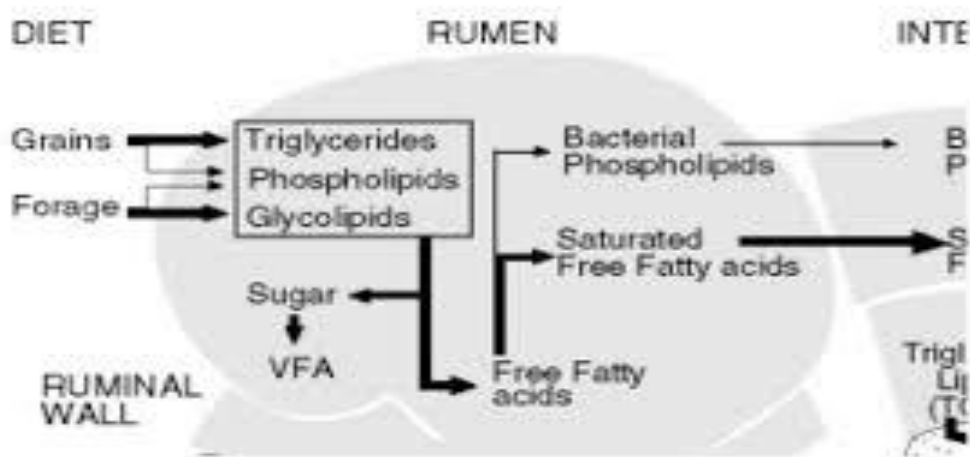
Izvor: <https://ecow.co.uk/biology-of-the-rumen/>

2.3.2. Mikropopulacija buraga

Hranjive tvari i voda koje se hranidbom unose u burag služe za rast i razmnožavanje mikroorganizama. Neke vrste mikroorganizama se za hranidbu koriste proizvodima drugih mikroorganizama, dok praživotinje žive od bakterija. Anaerobni uvjeti buraga koji ima temperaturu od 39°C do 40°C u potpunosti odgovaraju mikroorganizmima. Oko 75% energetskog materijala koji je potreban za održavanje života i za proizvodne potrebe preživači osiguravaju djelovanjem mikropopulacije. Bakterije koje su priljubljene uz epitel buraga troše kisik koji iz krvi difundira kroz epitel. Na taj način se u buragu stvaraju anaerobni uvjeti. Kada dođe do nedostatka kisika sprječava se razgradnja hranjivih tvari. Brojčano gledajući u buragu i kapuri ima najviše bakterija. Međutim, protozoe su veće i teže, te jednako pridonose mikrobnjoj masi kao i bakterije. Uvjeti života u buragu su stabilni, pa je kod uobičajene hranidbe brojčana i masena zastupljenost mikropopulacije ujednačena. Međutim, mikroorganizmi vrlo brzo odgovaraju brojnošću i masom na promjenu sastava i količinu hrane (Bogut i sur., 2013.).

2.4. Probava i resorpcija masti

Prema navodima Domaćinović (2006.), hrana preživača sadrži masne tvari kao što su: trigliceridi, fosfatidi mono- i digliceridi, galaktogliceridi i razne estere sterola. Masti u buragu podliježu procesu hidrolize i biohidrogenizacije.



Slika 4. Razgradnja masnih kiselina u buragu

Izvor: <http://docplayer.rs/181038236-Sveu%C4%8Dili%C5%A1te-u-zagrebu-veterinarski-fakultet.html>

Pomoću bakterija buraga odvija se hidroliza, a obim u kojem masti podliježu hidrolizi iznosi više od 85 %, što ovisi o većem broju čimbenika koji uključuju količinu konzumirane masti, pH vrijednost buraga, te prisutnost ionofora (Domaćinović i sur., 2015). U buragu je izražena lipolitička aktivnost mikroorganizama koji razgrađuju masne tvari na njihove sastavne elemente. Bakterijska lipaza cijepa trigliceride na glicerol i više masne kiseline. U višim masnim kiselinama se ne nalaze žučne kiseline koje sa njima u vodi stvaraju topive komplekse pa se s toga one ne razlažu niti resorbiraju. U tanko crijevo odlaze nastale masne kiseline i uz pomoć žuči bivaju resorbirane u tankom crijevu. Od slobodnih zasićenih masnih kiselina, žučnih soli i lizolecitina prije resorpcije se formiraju micelle, gdje posljednji ima funkciju emulgatora. Galaktoza i glicerol koji su nastali razgradnjom neutralnih masti i galaktoglicerida, bakterije dalje razgrađuju do nižih masnih kiselina, najviše propionske. Lecitin koji se nalazi u biljnoj hrani mikroorganizmi razlažu na lizolecitin i masne kiseline. Mikroflora ima uz probavu aktivnu ulogu i u metabolizmu masti. Sposobnost mikroflora je da sintetizira više masnih kiselina sa neparnim brojem C- atoma u lancu, kao i masne

kiseline s razgranutim lancem. Pomoću mikroorganizama mijenja se prostorna konfiguracija viših masnih kiselina, cis- konfiguracija se mijenja u trans-konfiguraciju.

Pomoću mikroflore dolazi do aktivne hidrogenizacije. Nezasićene masne kiseline se hidrogenizacijom prevode u zasićene. Bakterijska hidrogenaza je odgovorna za hidrogenizaciju nezasićenih masnih kiselina. Zbog toga prilikom dodavanja ulja bogatog nezasićenim masnim kiselinama ne dolazi do promjene u sastavu tjelesnih masti. Prema Domaćinoviću., (2006.), nezasićene masne kiseline podliježu u velikoj mjeri hidrogenizaciji kod preživača nije evidentiran njihov manjak u organizmu jer oko 10% nezasićenih masnih kiselina bivaju protektirane u pravi želudac i tanko crijevo, što je dostatno i preživačima za podmirenje ovih polinezasićenih esencijalnih masnih kiselina. Dakle, resorpcija razgrađenih masnih tvari kod preživača se odnosi na zasićene masne kiseline, uz manju količinu mononezasićenih i polinezasićenih masnih kiselina i masti mikroorganizama.

Resorpcija masti odvija se u tankome crijevu. Resorpcija se odvija tako da veći dio triglicerida biva hidroliziran, dok se monogliceridi koji ostaju nepromijenjeni mogu resorbirati. Kroz stijenku tankoga crijeva glicerol se vrlo brzo resorbira, gdje odmah služi i za resintezu masti koja se limfnim putem dalje resorbira po organizmu. Jedan se dio emulgiranih masnih kapljica, čiji polumjer nije veći od 0.5 um, se resorbira kroz stijenku crijeva bez prethodnog razlaganja (Domaćinović., 2006.).

2.4.1. Metabolizam masti

Iz mukoznih stanica crijeva se resorbirana mast uz pomoć hilomikrona, lipoproteina i slobodnih masnih kiselina krvlju transportira do perifernih tkiva u organizmu. Hilomikroni su transportni oblik masnih tvari koji su zaštićeni tankim bjelančevinastim slojem, veličine 0,5 – 1 mikrona. Njihov sastav čine trigliceridi, bjelančevine i manji dio drugih masnih tvari poput fosfatida, kolesterina i masnih kiselina (Domaćinović., 2006.). Na sastav hilomikrona izravno utječe hranidba. Masti se kao nepolarne tvari da bi im se olakšao transport u krvi moraju vezati sa nekom polarnom hranjivom tvari. Masne komponente koje se nalaze još u krvi osim hilomikrona su lipoproteini i masne kiseline. Lipoproteini su bjelančevine kojima je priključena masna tvar poput triglicerida, fosfatida i kolesterina. Koncentracija masnih kiselina u krvi ovisi o metaboličkim procesima organizma kao i o obujmu hranjenja. U uvjetima gladovanja mast služi kao izvor energije. Masti imaju veliku ulogu u organizmu životinje, sudjeluju u građi stanice i stanične koncentracije masnih kiselina. Prema Domaćinoviću., (2006.) metabolička aktivnost masnih kiselina je kratka, te poluživot masne

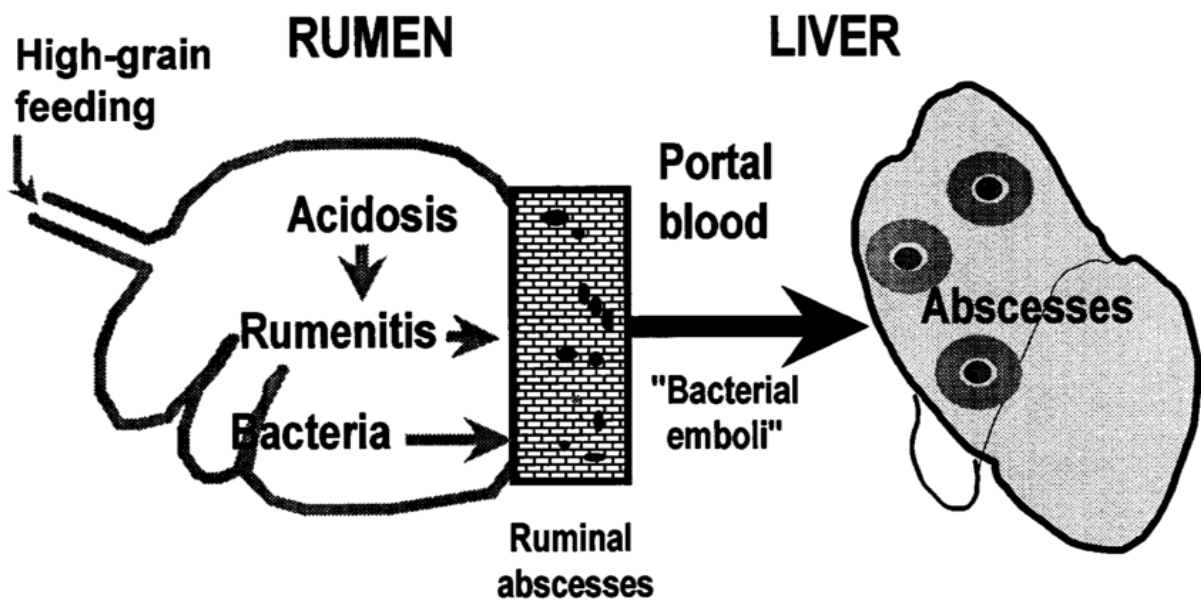
kiselina traje svega oko dvije minute. Masti se u krvi također zadržavaju kratko vrijeme, te u kontaktu sa stijenkom stanice perifernih tkiva, hidrolizu triglicerida do sastavnih komponenti katalizira enzim lipoprotein lipaza.

Trigliceridi se mobilizacijom spremišne masti razlažu na: glicerol i više masne kiseline. U različitim tkivima glicerol se može razgraditi glikolizom do CO_2 i H_2O . Potpuna oksidacija masnih kiselina se odvija u jetri. U slučaju velikih napora i nedostatne količine energije obroka, organizam pojačano troši rezerve masti, kompenzirajući nastali nedostatak energije. U tom slučaju se koncentracija masnih kiselina povećava i do pet puta. Istovremeno se zbog nepotpune razgradnje ugljikohidrata i povećale količine ACoA koja je nastala razgradnjom masti, ne može doći do sagorijevanja u trikarbonskom ciklusu te se pretvaraju u ketonska tijela (acetooctena kiselina, β -oksimaslačna kiselina i aceton) (Domaćinović., 2006.).

Za metabolizam masti jetra je najbitniji organ u kojoj se odvijaju svi metabolički procesi. Vršiti lipolizu i lipogenezu, transformaciju ugljikohidrata u masti, sintezu kolesterina i fosfatida, razgradnju viših masnih kiselina i stvaranje ketonskih tijela (Domaćinović., 2006.). Da bi se sačuvala kvalitativna i kvantitativna konstanta masnih tvari u krvi, deponima i cijelom organizmu, sve ove biokemijske reakcije organizam nastoji održavati u ravnoteži. U manjoj mjeri sinteza masti je moguća u masnim tkivu i mliječnoj žlijezdi.

Slobodne masne kiseline se u organizmu iskoriste potpunom oksidacijom do CO_2 i H_2O uz oslobađanje energije. Energija koja je dobivena oksidacijom hranjivih tvari prvenstveno podmiruje potrebe trenutne energije, zatim ponovnu biosintezu triglicerida ili deponiranje masti u adipoznom tkivu. Nusproizvodi oksidacije poput CO_2 i H_2O se izlučuju iz organizma putem pluća, kože i bubrega.

Primarna uloga masti je izvor energije, a zatim izvor masnih kiselina i holina. Masne tvari imaju funkciju i fizioloških aktivnih strukturnih tvari na osnovi metaboličke aktivnosti složenih lipida i esencijalnih masnih kiselina. Pozitivan učinak masnih tvari je i poboljšana resorpcija drugih hranjivih tvari poput karotena i vitamina C i A.



Slika 5. Metabolizam masti

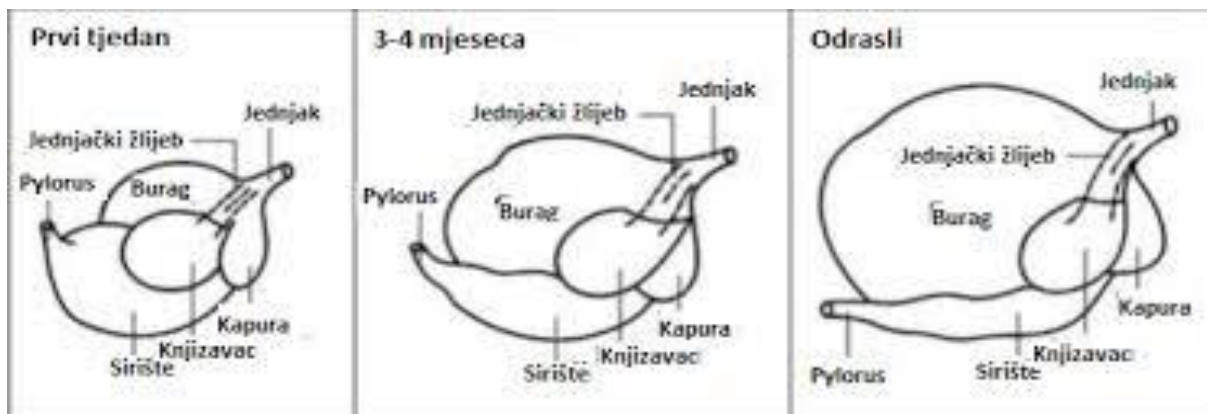
Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Pathogenesis-of-liver-abscesses-in-cattle-fed-a-high-grain-diet_fig3_13765783

2.5. Razvoj probavnog sustava i probave hrane kod teladi

Najveći fiziološki izazov mladim preživačima je razvoja buraga. To ne samo da podrazumijeva rast i staničnu diferencijaciju buraga, nego također rezultira velikim promjenama u uzorku hranjivih tvari koje se isporučuje se u crijeva i jetru, a time i u periferna tkiva životinje. Epitel buraga odgovoran je za nekoliko fiziološki važnih funkcija, uključujući apsorpciju, transport, metabolizam masnih kiselina kratkog lanca i zaštitu (Galfi i sur., 1991.). Za razliku od ostalih organa koji snabdjevaju organizam hranjivim tvarima, koji se smanjuju u postotnom udjelu tjelesne mase kako preživač sazrijeva, burag se povećava s 30 na 70% obujma probavnog sustava tijekom privikavanja na krutu hranu (odbijanja) (Warner i sur., 1956.). Zbog potrebe za probavom i apsorpcijom hranjivih sastojaka iz majčinog mlijeka crijevno tkivo podvrgava se poliferaciji tijekom fetalnog razvoja i u neposrednom postnatalnom razdoblju (Morisset, 1993.). Kod mladih, rastućih preživača, vrste i oblik hranjivih sastojaka koji se isporučuju u gastrointestinalni trakt može promijeniti staničnu proliferaciju, ukupnu upotrebu hranjivih sastojaka crijeva i na kraju hranjive tvari dostupne za potporu rast. Jetra je zadužena da su hranjive tvari dostupne za rast i apsorpciju buraga. U predruminalnom razdoblju jetra služi kao primarno mjesto ketogeneze i glikolize, te za regulaciju glukoneogeneze. Suprotno tome, kod preživača, ketogena funkcija jetre je smanjena.

Nakon teljenja, način dobivanja hranjivih tvari u organizmu se značajno mijenja. Tele je nakon teljenja nepreživač te ovisi o tekućoj hrani, odnosno mlijeku i mliječnim zamjenicama. Gledajući sa ekonomske strane, zadaća svakog tehnologa je što prije prevesti tele u razdoblje preživanja. Telad s mliječne farme se odlučuje vrlo rano, čak i s jednim mjesecom starosti, dok telad sa farmi za proizvodnju mesa se odlučuje tek poslije 3 mjeseca starosti. Prema Domaćinović i sur., (2015.) u vrlo kratkom periodu tele je u pogledu hranidbe suočeno s tri vrste fizioloških i probavnih adaptacija: ekstrauterini život, predruminalno razdoblje i ruminalno razdoblje nakon odbića. Tijekom perinatalnog perioda dolazi do anatomskih i funkcionalnih promjena probavnog sustava. Te promjene se odgledaju u rastu organa, žlijezdi, mukoznog tkiva te pokretljivosti probavnog sustava.

Burag, kapura i knjižavac su nakon teljenja nerazvijeni, nefunkcionalni i u usporedbi sa sirištem neproporcijonalni predželudcima odrasle životinje. Fizički i funkcionalni razvoj buraga ovise o čimbeniku hrane. Poliferacija i rast epitelnih stanica nakon teljenja uzrokuje povećanje dužine i širine ruminalnih papila te zadebljanje unutarnjih zidova. (Domaćinović i sur., 2015).



Slika 6. Morfološke promjene složenog želudca kod teladi tijekom starosti

Izvor: Domaćinović i sur.,2015.

Kao što je već i navedeno mlijeko i mliječne zamjenice su primarna hrana tek oteljene teladi. Kemijski sastav mlijeka i uloga jednjačkog žlijeba kojem mlijeko zaobilazi burag i kapuru te odlazi direktno u sirište, ograničava učinak hranidbe mlijekom na razvoj buraga. Probava čvrste hrane se događa u buragu i kapuri. Čvrsta hrana stimulira rast mikroflore i nastajanje mikrobioloških produkata hlapljivih masnih kiselina. Prisutnost i resorpcija hlapljivih

masnih kiselina stimulira metabolizam u epitelnim stanicama buraga što je presudno za razvoj buražnog epitela. Maslačna kiselina ima najveći utjecaj na ovaj proces, propionska kiselina ima nešto manje, dok octena ima najmanji utjecaj na proces. Zbog toga su kemijske karakteristike hrane od velike važnosti. Krepka krmiva povećavaju produkciju butirata i propionata na račun acetata te time imaju jači utjecaj od voluminoznih krmiva. Voluminozna krmiva s druge strane u buragu povećavaju pH vrijedost što potiče mikrobiološku populaciju za razgradnju vlakana, a posljedica je promjena obrasca produkcije od hlapljivih masnih kiselina. Povećana produkcija i resorpcija maslačne i propionske kiselina ima utjecaj za razvoj epitela buraga .



Slika 7. Epitel buraga kod hranidbe mliječnom zamjenicom, mlijekom i sijenom i žitaricama

Izvor: <https://repozitorij.fazos.hr/islandora/object/pfos%3A1261/datastream/PDF/view>

Razvoj epitela buraga počinje s razvojem keratinskog omotača koji predstavlja fizičku barijeru te umanjivanjem resorptivne površine usporava resorpciju hlapljivih masnih kiselina. Krepka krmiva s finijom strukturom čestica zbog abrazivnog potencijala koji je manji, povećavaju produkciju hlapljivih masnih kiselina, te smanjuju puforni kapacitet i s time pH vrijednost buraga. Veće i grublje čestice hrane poput voluminoznih krmiva održavaju integritet epitela kroz abrazivnu sposobnost da odstranjuju keratinski omotač, povećavaju pokretljivost buraga i proces preživljanja. Grublje čestice također povećavaju stvaranje sline te s time stvaraju neophodne preduvjete za uspostavljanje normalne funkcije buraga, odnosno prelazak teleta u preživača. Jak utjecaj na muskularizaciju i povećanje volumena buraga imaju voluminozna krmiva. Grubo mljevena krepka krmiva su najbolji stimulator ukupnih razvoja buraga zbog svog pozitivnog utjecaja na razvoj epitela, te povećanje volumena i muskularizaciju buraga (Domaćinović i sur., 2015.).

2.5.1. Promjene funkcionalnosti i strukture intestinalnog dijela probavnog sustava

Razvoj intestinalnog dijela probavnog sustava počinje već u prvoj trećini fetalnog života i neposredno pred partus ovaj razvoj se ubrzava. Prema Domaćinović i sur., (2015.), između 175 i 280 dana starosti porast tankog crijeva fetusa goveda je za oko 2 puta brži u odnosu na porast tijela. Masa sirišta se ne mijenja mnogo tijekom posljednjeg dijela gravidnosti, ali se za do 25 % povećava muskozno tkivo. To povećanje se nastavlja i tijekom prvih 7 dana ekstrauterinog života nakon čega nastupa stagnacija, a nakon 21 dana i opada.

Masa gušterače se povećava nakon teljenja čak i do 30%, da bi kasnije ostala stabilna. Ako se telad održavaju u predruminalnom razdoblju do 42. dana života masa probavnih organa se povećava posebno predželudci, tanko i debelo crijevo, dok masa sirišta opada. Kripte i crijevne resice se prvo pojavljuju u duodenumu te se progresivno pojavljuju prema distalnijim dijelovima tankog crijeva. U jejunumu se povećava dubina krpiti, a u duodenumu se povećava visina resica. Odbićem teladi smanjuje se visina resica u ileumu, dok se u jejunumu visina resica i čak povećava, što je vrlo bitno zbog toga jer je ovo glavno mjesto za resorpciju hranivih tvari (Domaćinović i sur., 2015).

Tijekom prvih dana ekstrauterinog razdoblja aktivnost želudčanih enzima poput kimozina se povećava, dok se aktivnost proteolitičkih pankreasnih enzima smanjuje. Visok pH sirišta i niskog pH proksimalnog dijela duodenuma uvjetuje resorpciju imunoglobulina mlijeka tijekom prvih dana života.

Aktivnost enzima gušterače u predruminalnom razdoblju se povećava za 50-60 %, a povećanje aktivnosti amilaze iznosi čak 24 % (Guilloteau., 2009). Mlijeko je jedina hrana mladog teleta od posebne važnosti su enzimi kimozin, elastaza II i laktaza. Nakon teljenja koncentracija ovih enzima je visoka, te sa starošću otpada. Kimozin i pepsin u manjoj mjeri u sirištu koaguliraju bjelančevine mlijeka što je bitan preduvjet uspješne probave u tankom crijevu. Gušterača koja luči enzim elastaza II je od posebne važnosti za probavu kod teladi hranjene mliječne zamjenicama jer cijepa globularne bjelančevine mlijeka. Laktaza koju luči crijevna sluzokoža je vrlo bitna za probavu imunoglobulina. Maksimalna aktivnost je u prvih nekoliko dana života.

Kada tele prijede u ruminalno razdoblje ukupni procesi probave dobivaju na intezivnosti. U buragu djeluju mikrobiološki enzimi za razgradnju hranjivih tvari hrane. Lučenje pankreasnog soka vrlo je značajnije nego u predruminalnom razdoblju. Preživači uspješno razgrađuju ugljikohidrate zbog lučenja pankreasne amilaze, maltaze i izomaltaze. Aktivnost

pepsina i lizozima u sirištu i ribnokleaze u gušterači se smatraju markeri razvoja buraga. Lizozimi se sintetiziraju odmah nakon teljenja, njihovo pojačano lučenje i aktivnost raste nakon odbića, a uloga im je u degradaciji peptidoglikana staničnog zida buražnih bakterija. Ribonukleaza koja je gušteračin enzim ima vrlo bitnu ulogu u probavi nukleinskih kiselina mikroorganizma buraga.

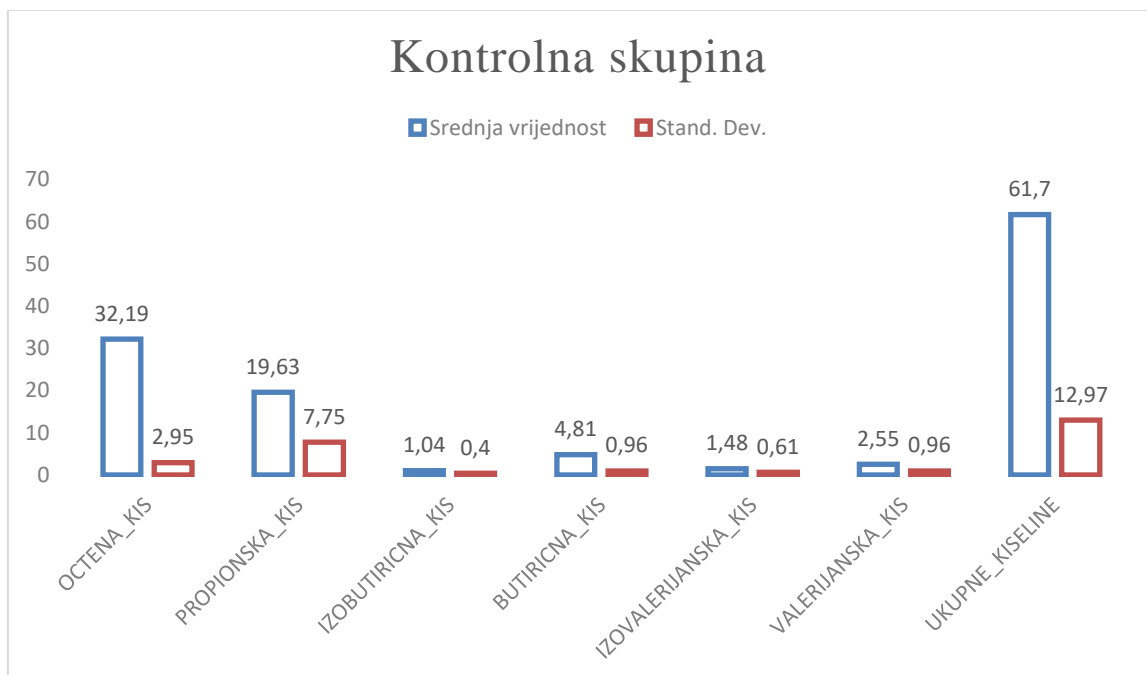
3.MATERIJAL I METODE

Istraživanje se provodilo na govedarskoj farmi Mitrovac, koja je sastavni dio poduzeća Belje plus d.o.o. na 20 teladi Holštajn pasmine, od kojih su 10 muške, 10 ženske teladi. Telad je podijeljena u 2 skupine po 10 teladi (5 muških + 5 ženskih), starosti 3 dana, ravnomjerno raspoređene prema porodnoj masi. Pokus je trajao do prosječne dobi od 56 dana za mušku telad i za žensku telad 91 dan starosti. Svako tele nakon poroda je pomoću sonde koja ide izravno u sirište dobilo 4 L kolostruma. Tijekom prva tri dana telad je bila smještena u staji za telad u individualnim boksovima za telad, zatim u individualnim IGLU boksovima na dubokoj stelji. Prva tri dana telad se napajala nepasteriziranim kravljim mlijekom u dva obroka po 3 L, od četvrtog dana telad je konzumirala mliječnu zamjenicu Kalvostart Energy, u koncentraciji 125g/L otopine 2 puta na dan sa po 3 L otopine mliječne zamjenice (ukupno 6 L dan), sve do 35. dana pokusa. Od 36. dana do 42. dana pokusa telad je bila napajana sa dva obroka po 2 L otopine mliječne zamjenice (ukupno 4 L/dan), a od 43. dana do 49.dana je telad napajana jednom dnevno s 2 L otopine mliječne zamjenice (samo ujutro). Ova metoda napajanja teladi se zove „step down metoda“. Peletirana starter smjesa i voda su teladi ponuđena ad libitum od 4. dana starosti. Kontrolna skupina je hranjena starter smjesom. Pokusna skupina hranjena je starter smjesom u kojoj se sojina sačma i uljana repica zamijenila drugim izvorom proteina (nukleotidi kvasca, sojin proteinski koncentrat, te dvije limitirajuće amino kiseline – metionin i lizin). Obje grupe teladi su zalučene 49. dan pokusa. Muška telad je nakon zalučenja, pa do slanja na klanje bila hranjena samo smjesom koju je jela do zalučenja.. Konzumacija otopine mliječne zamjenice i starter smjese je praćena svaki dan, na način da se za svako tele računa razlika između ponuđene količine hrane i ostatka hrane.

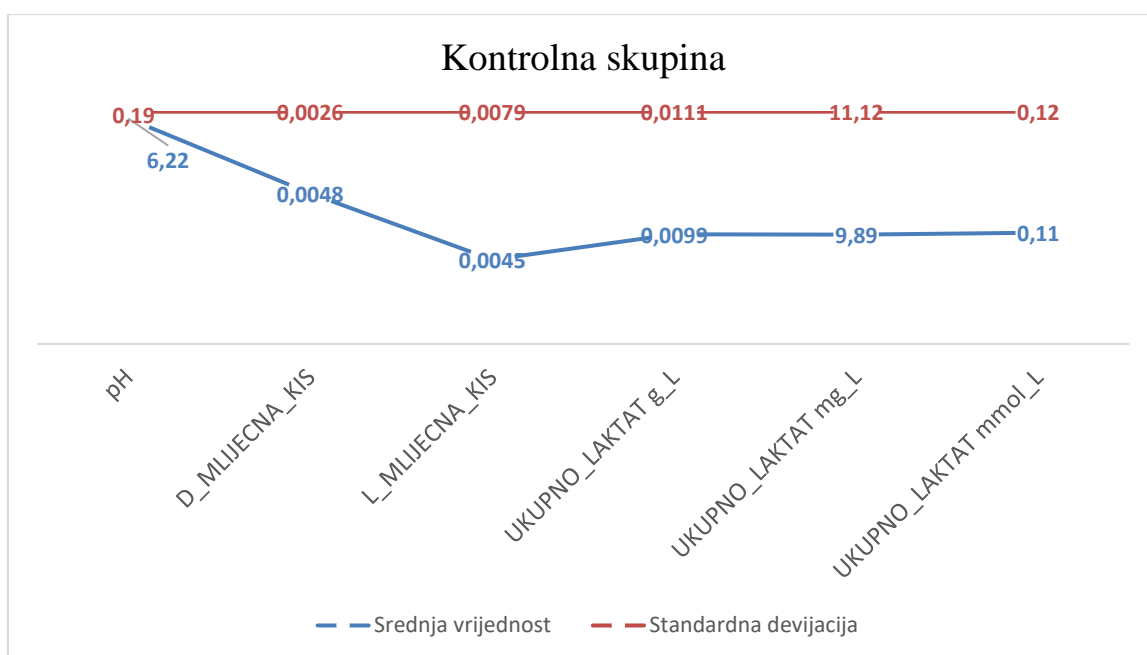
Kemijske analize hrane se obradila u laboratoriju nutralSCA – C.P. Laboratorio Quimico i u laboratoriju TSH Darda. Iz obje grupe se nasumično odabralo po 5 životinja od 61 dana prosječne starosti i odvelo se na klanje. Uzeli su se uzorci buraga iz kaudalnog dijela ventralne buragove vreće, te uzorci duodenuma, jejunuma i ileuma iz kojih su se napravili histološki preparati iz kojih se uzimaju mjere. Tijekom uzimanja uzorka buraga se odradilo mjerenje pH vrijednosti sadržaja buraga pomoću pH metra, te su se uzeli uzorci buražnog sadržaja za analizu hlapljivih masnih kiselina (octena, propionska, maslačna, izomaslačna, valerijanska, izovalerijanska te mliječna).

4. REZULTATI

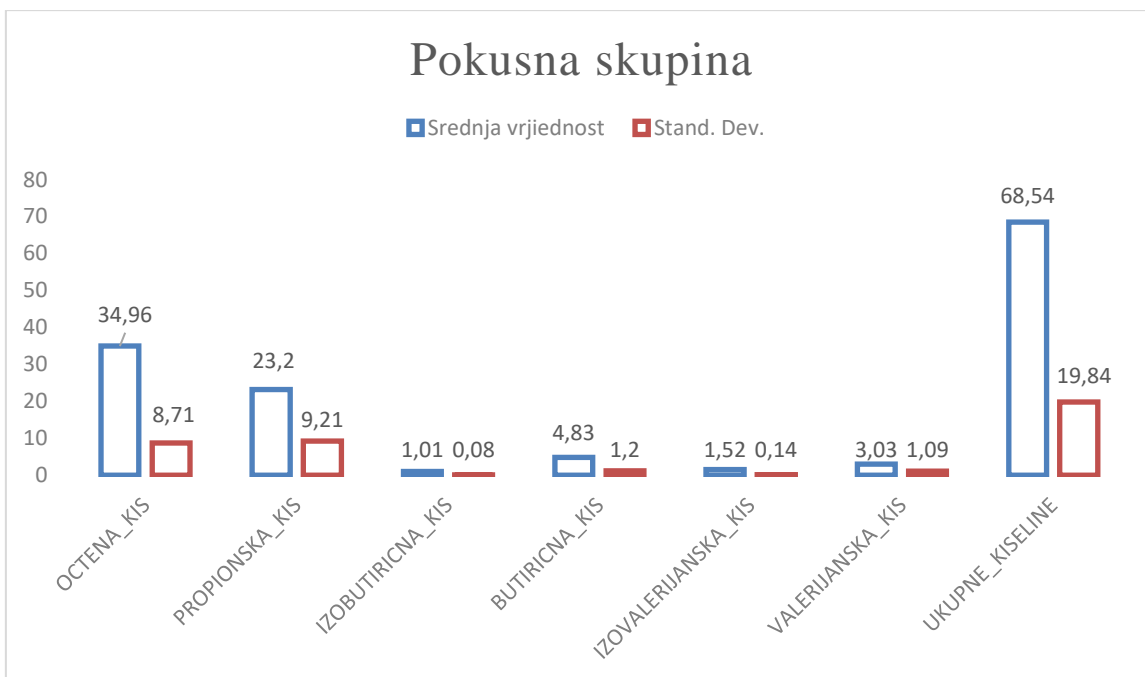
Dobiveni rezultati pokusa prikazani su u slijedećim grafikonima; 1-4. U prvom i trećem grafikonu prikazane su vrijednosti octene, propionske, izobutirične, butirične, valerijanske, izovalerijanske kiseline, te ukupne kiseline. Također u drugom i trećem grafikonu su prikazane vrijednosti pH, mliječne kiseline i laktata.



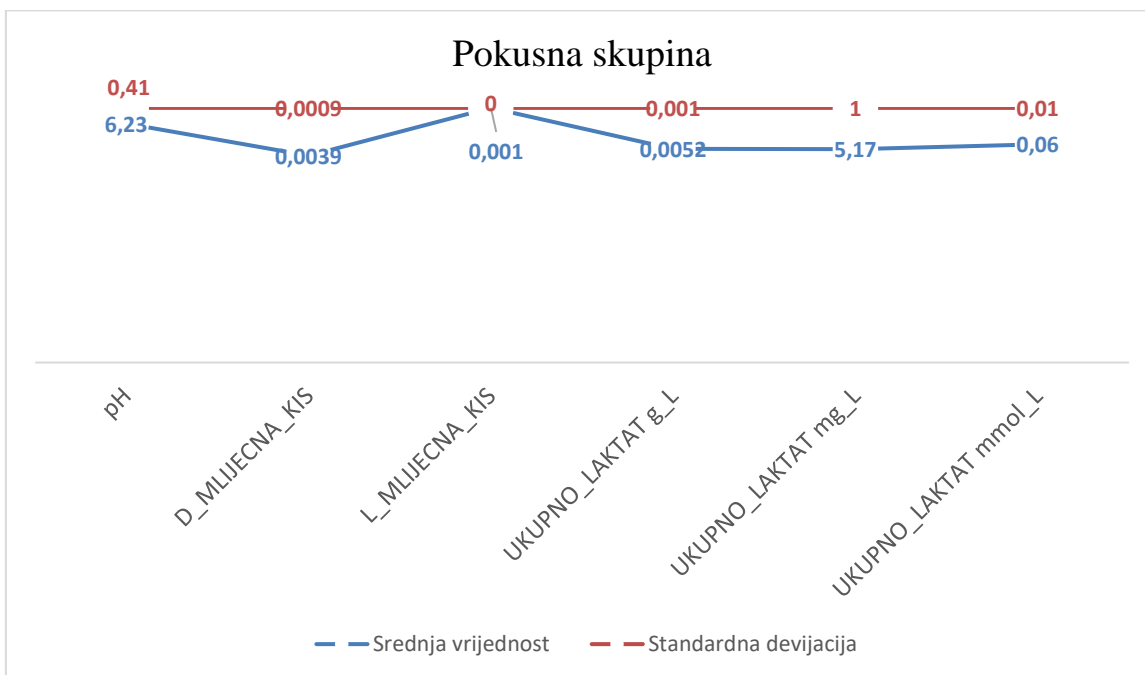
Grafikon 1. Razina kiselina kod kontrolne skupine



Grafikon 2. Razina pH, mliječne kiseline i laktata kod kontrolne skupine



Grafikon 3. Razina kiselina kod pokusne skupine



Grafikon 4. Razina pH, mliječne kiseline i laktata kod pokusne skupine.

Uspoređujući grafikone iz kontrolne i pokusne skupine vidljivo je da je kod srednje vrijednosti octene kiseline mala razlika, odnosno veća je vrijednost kod pokusne skupine,

dok kod standardne devijacije octene kiseline su najveća odstupanja od ostalih kiselina, razlika je 5,76. Udio propionske kiseline je nešto veća kod pokusne skupine, dok je količina izobutrične kiseline veća kod srednje vrijednosti u kontrolnoj skupini za 0,4, dok je kod standardne devijacije veća u pokusnoj skupini. Količina butrične kiselina je veća kod pokusne skupine, dok je količina izovalerijanske kiseline veća u kontrolnoj skupini kod standardne devijacije u odnosu na pokusnu skupinu, dok je kod srednje vrijednosti kontrolne skupine obrnuto. Rezultati mjerenja količine valerijanske kiseline su pokazali da je kod kontrolne skupine srednja vrijednost manja u odnosu na mjerenja pokusne skupine, dok je standardna devijacija veća kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu. Razlika između razine ukupni kiselina u srednjim vrijednostima je veća kod pokusne skupine za 6,84, dok je kod standardne devijacije razlika 6,87. pH u srednjim vrijednostima između kontrolne i pokusne skupine je gotovo isti, dok je kod standardne devijacije manja razlika.

5. RASPRAVA

Prema istraživanjima Esdale i sur. (1968.), uzete su dvije skupine krava, gdje se jedna skupina hranila silažom kukuruza, a druga lucerninim sijenom. Na dan kada je krava konzumirala dnevno 3,5 kg suhe tvari kukuruzne silaže, neto proizvodnja hlapljivih masnih kiselina je bila 30,9 mola na dan, dok je prilikom hranjenja sa 3,9 kg lucerne dnevno, neto proizvodnja hlapljivih masnih kiselina bila 26,7 mola na dan, što je znatno manje nego u našem pokusu.

Leng and Leonard (1968.) su u svojim istraživanjima hranili životinje lucerninim sijenom te su ustanovili da je proizvodnja acetat bila 70%, propionata 17% te butirata 13%. Također Bergman 1965. je provodio isto istraživanje gdje je životinjama dato lucernino sijeno te je proizvodnja acetat bila 68%, propionata 19% i butirata 13%.

Leng i Brett (1966.) su životinje također hranili lucerninim sijenom te je proizvodnja acetata bila 74% što prikazuje najveći postotak između ova tri istraživanja, količina propionata je bila 18%, dok je količina butirata kiseline bila najmanja odnosno, 8%. Leng i Brett su također životinjama ponudili da konzumiraju 400 g kukuruza te je proizvodnja acetata bila 79% što prikazuje najveću vrijednost u ova tri istraživanja, količina propionata je iznosila 15%, te butirata 6% što je najmanja vrijednost.

Prema istraživanjima Khan i sur., (2007.) koncentracija slobodnih masnih kiselina, octene, propionske i maslačne kiseline ($\mu\text{mol/L}$) u tekućini buraga je signifikantno veća kod teladi koja je zalučena s 49 dana s metodom postepenog smanjivanja tekuće hrane u usporedbi s konvencionalnom metodom zalučenja. Prema prijašnjim istraživanjima utvrđeno je da maslačna i propionska kiselina najviše stimuliraju razvoj papila buraga (Tamate i sur. 1962. i Sander i sur., 1959.).

Galfi i sur. (1989.) su u svojem istraživanju zaključili da maslačna i propionska kiselina imaju direktan utjecaj na ekspresiju gena odgovornih za proliferaciju papila buraga.

Lundouist i sur. (1985.) su proveli istraživanje na muznim kravama o utjecaju DL-metionina na koncentraciju hlapljivih masnih kiselina u buragu, pri čemu su utvrdili da je koncentracija maslačne, izomaslačne i izovalerijanske kiseline bila veća kod krava koje su hranjene DL-metioninom u usporedbi s kravama iz kontrolne skupine. Koncentracija hlapljivih masnih kiselina u buragu teladi je ovisna o brzini fermentacije organske tvari i adsorpciji nastalih hlapljivih masnih kiselina i što telad ima bolje razvijen epitel buraga i veću adsorptivnu

površinu uz bržu fermentaciju organske tvari, veća je i koncentracije hlapljivih masnih kiselina u buragu (Lesmeister and Heinrichs, 2004).

DePeters i sur. (1986.) su proveli istraživanje u kojem su telad podijelili u četiri grupe, gdje su telad hranili sa smjesom koja sadrži 0 ili 24,5% suhe slatke sirutke, te su telad zalučili rano sa 35 dana starosti i kasno sa 70 dana starosti. Zaključili su da je dodavanje suhe slatke sirutke u količini od 24% u peletirani starter negativno djelovalo na konzumaciju hrane i na prirast teladi.

Fisher i Buckley (1985.) telad hranili sa smjesom evaporirane sirutke i sačme uljane repice, koju su dodavali uz peletirani starter. Zaključili su da je u buražnom soku teladi hranjenih dodatkom ovog proizvoda bio povećan udio maslačne i valerijanske kiseline za 40% i za 15% od ukupnih proizvedenih hlapljivih masnih kiselina.

6.ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih istraživanja i obrađenih rezultata može se zaključiti da je :

- Koncentracija octene kiseline veća kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu, te je standardna devijacija octene kiseline znatno veća kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu.
- Udio propionske kiseline je veći kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu skupinu.
- Količina izobutrične kiseline je veća kod pokusne skupine.
- Količina butrične kiseline je veća kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu skupinu.
- Udio izovalerijnske je veći u kontrolnoj skupini u odnosu na pokusnu skupinu.
- Rezultati mjerenja količine valerijnske kiseline su pokazali da je kod kontrolne skupine srednja vrijednost manja u odnosu na mjerenja pokusne skupine.
- Razlika između razine ukupnih kiselina u srednjim vrijednostima je veća kod pokusne skupine za 6,84, dok je kod standardne devijacije razlika 6,87.
- pH mjerenja u srednjim vrijednostima između kontrolne i pokusne skupine je gotovo isti, dok je kod standardne devijacije manja razlika.

Uspoređujući rezultate istraživanja sa drugim autorima, u ovom pokusu je veća proizvodnja ukupnih kiselina u odnosu na ostale rezultate. Hranidba u pokusnoj skupini sa starter smjesom gdje su se sojina sačma i uljana repica zamijenile drugim izvorom proteina poput nukleotidima kvasca, sojinim proteinskim koncentratom, te dvjema limitirajućim amino kiselinama – metioninom i lizinom je pokazala bolje rezultate u odnosu na kontrolnu skupinu gdje je telad hranjena starter smjesom.

7. POPIS LITERATURE

1. Baldwin, R., L., McLeod, K., R., Klotz, J., L., Heitmann, R., N. (2004): Rumen Development, Intestinal Growth and Hepatic Metabolism In The Pre- and Postweaning Ruminant. *J.Dairy Science*, 87: 55-65.
2. Berg, J., M., Tymoczko, J., L., Stryer, L. (2013): *Biokemija*. Školska knjiga Zagreb.
3. Bogut, I., Grbavac, J., Križek, I. (2013) : *Morfologija probavnog sustava domaćih životinja i riba*. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet u Mostaru. Osijek, Mostar.
4. DePeters, E. J., Fisher, L. J., Stone J. L. (1986): Effect of Adding Dried Whey to Starter Diet of Early and Late Weaned Calves. *Journal of dairy science*, 69:181—186.
5. Domaćinović, M (2006): *Hranidba domaćih životinja*. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek.
6. Domaćinović, M., Antunović, Z., Džomba, E., Opačak, A., Babam, M., Mužic, S. (2015): *Specijalna hranidba domaćih životinja*. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek
7. Esdale. W., J., Broderick. G., A., Satter. L., D., (1968): Measurement of Ruminant Volatile Fatty Acid Production from Alfalfa Hay or Corn Silage Rations Using a Continuous Infusion Isotope Dilution Technique 2. *Department of Dairy Science* :1823-1829.
8. Fruton, Dž., S., Simonds, S. (1970): *Opšta Biohemija*, Drugo izdanje. Vuk Karadžić, Beograd.
9. Galfi, P., Neogrady, S., Sakata, T. (1989): Effects of volatile fatty acids on the epithelial cell proliferation of the digestive tract and its hormonal mediation. In *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism, Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*, Sendai, Japan, 28 August–1 September 1989.
10. Galfi, P., S. Neogrady, and T. Sakata. (1991): Effects of volatile fatty acids on the epithelial cell proliferation of the digestive tract and its hormonal mediation, 49–59.
11. Guilloteau, P., Savary, G., Jaguelin-Peyrault, Y., Rome, V., Le Normand, L., Zabielski, R. (2009): Dietary sodium butyrate supplementation increases digestibility and pancreatic secretion in young milk-fed calves. *Journal of Dairy Science*, 93: 5842-5850.

12. Khan, M.A., Lee, H.J., Lee, W.S., Kim, H.S., Kim, S.B., Ki, K.S., Park, S.J., Ha, J.K., Choi, Y.J., (2007): Starch source evaluation in calf starter: I. Feed consumption, body weight gain, structural growth, and blood metabolites in Holstein calves. *Journal of dairy science* 90, 5259–68.
13. Lesmeister, K. E., A. J. Heinrichs. (2004): Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development and rumen parameters in neonatal dairy calves. *Journal of dairy science*, 87:3439–3450.
14. Lundquist, R. G., Stern, M. D., Otterby, D. E., Linn, J. G. (1985): Influence of Methionine Hydroxy Analog and DL-Methionine on Rumen Protozoa and Volatile Fatty Acids. *Journal of dairy science*, 68:3055-3058
15. Morisset, J. (1993): Regulation and growth and development of the gastrointestinal tract. *J. Dairy. Sci.* 76:2080–2093.
16. Sander, E. G., R. G. Warner, H. N. Harrison, and J. K. Loosli. (1959): The stimulatory effect of sodium butyrate and sodium propionate on the development of rumen mucosa in the young calf. *Journal of Dairy Science* 42: 1600-1605.
17. Stilinović, Z. (1993): Fiziologija probave i resorpcije u domaćih životinja. Školska knjiga Zagreb. Zagreb.
18. Tamate, H., A. D. McGilliard, N. L. Jacobson, and R. Getty. (1962): Effect of various dietaries on the anatomical development of the stomach in the calf. *Journal of Dairy Science* 45: 408-420
19. Vidyarhi, V., K., Kurar, C., K. (2001): Influence of Dietary Butyrate on Growth Rate, Efficiency of Nutrient Utilization and Cost of Unit Gain in Murrah Buffalo (*Bubalus bubalis*) Male Calves. *Animal Nutrition Department* 485 331: 474-478.
20. Warner, R. G., W. P. Flatt, and J. K. Loosli. (1956): Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *Agric. Food Chem.* 4:788–801.
21. Bergman, E. H., R. S. Reid, Moira G. Murray, J. M. Brockway, and F. G. Whitelaw. (1965): Interconversion and production of volatile fatty acids in the sheep rumen. *Biochem. J.*, 97: 53.
22. Leng, R. A., and D. J. Brett. (1966): Simultaneous measurement of the rates of production of acetic, propionic and butyric acids in the tureen of sheep on different diets and the correlation between production rates and concentration of these acids in the rumen. *Brit. J. Nutrition*, 20: 541.
23. Leng, R., A., Leonard. G., J., (1965): Measurement of the rates pf production of acetic, propionic, and butyric acids in te rumen of sheep. *Brit. J. Nutrition*, 19:469.

8. SAŽETAK

Istraživanje je provedeno na farmi Mitrovac koji je sastavni dio poduzeća Belje plus d.o.o. Cilj istraživanja je utvrditi utjecaj dodavanja sirutke, te izvora aminokiselina i proteina s niskim antinutritivnim faktorima u peletiranu starter smjesu ujednačenih nutritivnih vrijednosti u hranidbi muške teladi na proizvodnju hlapljivih masnih kiselina u sadržaju buraga. Kemijske analize krmiva su se obradile u laboratoriju nutralSCA – C.P. Laboratorio Quimico i u laboratoriju TSH Darda. U pokusu je sudjelovalo 20 životinja koje su se podijelile u dvije skupine po 10 životinja. Prva, kontrolna skupina se hranila peletiranom starter smjesom. Druga, pokusna skupina hranjena je također peletiranom starter smjesom u kojoj se sojina sačma i uljana repica zamijenila drugim izvorom proteina (nukleotidi kvasca, sojin proteinski koncentrat, te dvije limitirajuće amino kiseline – metionin i lizin). Iz obje grupe se nasumično odabralo po 5 životinja od 61 dana prosječne starosti i odvelo se na klanje. Uzeli su se uzorci buraga iz kaudalnog dijela ventralne buragove vreće, te uzorci duodenuma, jejunuma i ileuma iz kojih su se napravili histološki preparati iz kojih se uzimaju mjere. Tijekom uzimanja uzorka buraga se odradilo mjerenje pH vrijednosti sadržaja buraga pomoću pH metra, te su se uzeli uzorci buražnog sadržaja za analizu hlapljivih masnih kiselina (octena, propionska, maslačna, izomaslačna, valerijanska, izovalerijanska te mliječna). Iz dobivenih rezultata je bila vidljiva razlika kod udjela kiselina između kontrolne i pokusne skupine.

Ključne riječi : hlapljive masne kiseline, telad, burag

9. SUMMARY

The research was conducted on the farm Mitrovac, which is an integral part of the company Belje plus d.o.o. The aim of the study was to determine the effect of adding whey and sources of amino acids and proteins with low antinutritive factors in the pelleted starter mixture of uniform nutritional values in male calves on the production of volatile fatty acids in the rumen content. Chemical analysis of food was processed in the laboratory of nutralSCA - C.P. Laboratorio Quimico and in the laboratory of TSH Darda. The experiment involved 20 animals that were divided into two groups of 10 animals each. First, the control group was fed a pelleted starter mixture. The second, experimental group was fed a starter mixture in which soybean meal and oilseed rape were replaced by another source of protein (yeast nucleotides, soy protein concentrate, and two limiting amino acids - methionine and lysine). From both groups, 5 animals of 61 days of average age were randomly selected and taken for slaughter. Samples of rumen were taken from the caudal part of the ventral rumen sac, and samples of duodenum, jejunum and ileum were made from which histological preparations were made from which measures were taken. During the sampling of the rumen, the pH value of the rumen content was measured using a pH meter, and samples of the rumen content were taken for analysis of volatile fatty acids (acetic, propionic, butyric, isobutyric, valeric, isovaleric and lactic). The obtained results showed a difference in the acid content between the control and experimental groups.

Key words : volatile fatty acids, calves, rumen

10. POPIS TABLICA

1. Tablica 1. Zasićene masne kiseline. Izvor : Fruton, Dž., S., Simonds, S. (1970):
Opšta Biohemija, Drugo izdanje. Vuk Karadžić, Beograd.

11. POPIS SLIKA

Slika 1. Razlika između zasićenih i nezasićenih masnih kiselina

Slika 2. Probavni sustav krave

Slika 3. Burag

Slika 4. Razgradnja masnih kiselina u buragu

Slika 5. Metabolizam masti

Slika 6. Morfološke promjene složenog želuca kod teladi tijekom starosti

Slika 7. Epitel buraga kod hranidbe mliječnom zamjenicom, mlijekom i sijenom i žitaricama

12. POPIS GRAFIKONA

Grafikon 1. Razina kiselina kod kontrolne skupine

Grafikon 2. Razina pH, mliječne kiseline i laktata kod kontrolne skupine

Grafikon 3. Razina kiselina kod pokusne skupine

Grafikon 4. Razina pH, mliječne kiseline i laktata kod pokusne skupine.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Diplomski rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij, smjer Hranidba domaćih životinja

Udio zasićenih hlapljivih masnih kiselina u buragu teladi ovisno o hranidbi

Lara Stojanović

Sažetak: Istraživanje je provedeno na farmi Mitrovac koji je sastavni dio poduzeća Belje plus d.o.o. Cilj istraživanja je utvrditi utjecaj dodavanja sirutke, te izvora aminokiselina i proteina s niskim antinutritivnim faktorima u peletiranu starter smjesu ujednačenih nutritivnih vrijednosti u hranidbi muške teladi na proizvodnju hlapljivih masnih kiselina u sadržaju buraga. Kemijske analize hrane se obradila u laboratoriju nutralSCA – C.P. Laboratorio Quimico i u laboratoriju TSH Darda. U pokusu je sudjelovalo 20 životinja koje su se podijelile u dvije skupine po 10 životinja. Prva, kontrolna skupina se hranila peletiranom starter smjesom. Druga, pokusna skupina hranjena je starter smjesom u kojoj se sojina sačma i uljana repica zamijenila drugim izvorom proteina (nukleotidi kvasca, sojin proteinski koncentrat, te dvije limitirajuće amino kiseline – metionin i lizin). Iz obje grupe se nasumično odabralo po 5 životinja od 61 dana prosječne starosti i odvelo se na klanje. Uzeli su se uzorci buraga iz kaudalnog dijela ventralne buragove vreće, te uzorci duodenuma, jejunuma i ileuma iz kojih su se napravili histološki preparati iz kojih se uzimaju mjere. Tijekom uzimanja uzorka buraga se odradilo mjerenje pH vrijednosti sadržaja buraga pomoću pH metra, te su se uzeli uzorci buražnog sadržaja za analizu hlapljivih masnih kiselina (octena, propionska, maslačna, izomaslačna, valerijanska, izovalerijanska te mliječna). Iz dobivenih rezultata je bila vidljiva razlika kod udjela kiselina između kontrolne i pokusne skupine.

Rad je izrađen pri: Fakultet agrobiotehničkih znanosti u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Zvonimir Steiner

Broj stranica: 37

Broj slika: 7

Broj tablica: 1

Broj grafikona: 4

Broj literaturnih navoda: 23

Broj priloga: 12

Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: hlapljive masne kiseline, telad, burag

Datum obrane: 29.09.2020.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. prof. dr. sc. Pero Mijić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Zvonimir Steiner, mentor
3. prof. dr. sc. Vesna Gantner, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Graduate thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

University Graduate Studies, course Feeding domestic animals

Proportion of saturated volatile fatty acids in calf rumen depending on feeding

Lara Stojanović

Abstract: The research was conducted on the farm Mitrovac, which is an integral part of the company Belje plus d.o.o. The aim of the study was to determine the effect of adding whey and sources of amino acids and proteins with low antinutritive factors in the pelleted starter mixture of uniform nutritional values in male calves on the production of volatile fatty acids in the rumen content. Chemical analysis of food was processed in the laboratory of nutralSCA - C.P. Laboratorio Quimico and in the laboratory of TSH Darda. The experiment involved 20 animals that were divided into two groups of 10 animals each. First, the control group was fed a pelleted starter mixture. The second, experimental group was fed a starter mixture in which soybean meal and oilseed rape were replaced by another source of protein (yeast nucleotides, soy protein concentrate, and two limiting amino acids - methionine and lysine). From both groups, 5 animals of 61 days of average age were randomly selected and taken for slaughter. Samples of rumen were taken from the caudal part of the ventral rumen sac, and samples of duodenum, jejunum and ileum were made from which histological preparations were made from which measures were taken. During the sampling of the rumen, the pH value of the rumen content was measured using a pH meter, and samples of the rumen content were taken for analysis of volatile fatty acids (acetic, propionic, butyric, isobutyric, valeric, isovaleric and lactic). The obtained results showed a difference in the acid content between the control and experimental groups.

Theises performed at: Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Zvonimir Steiner

Number of pages: 37

Number of figures: 7

Number of tables: 1

Number od charts: 4

Number of references: 23

Number of appendices: 12

Original in: Croatian

Key words: volatile fatty acids, calves, rumen

Theises defended on date: 29.09.2020.

Reviewers:

1. prof. dr. sc. Pero Mijić, president
2. prof. dr. sc. Zvonimir Steiner, mentor
3. prof. dr. sc. Vesna Gantner, memeber

Theises deposited at: Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, J.J. Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1.