

Kinetika probavljivosti škroba siliranog rehidriranog zrna kukuruza u ishrani svinja

Novaković, Klara

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:071456>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**Kinetika probavljivosti škroba siliranog
rehidriranog zrna kukuruza u ishrani svinja**

DIPLOMSKI RAD

Klara Novaković

Zagreb, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Hranidba životinja i hrana

**Kinetika probavljivosti škroba siliranog
rehidriranog zrna kukuruza u ishrani svinja**

DIPLOMSKI RAD

Klara Novaković

Mentor: prof.dr.sc. Darko Grbeša

Zagreb, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Klara Novaković**, JMBAG 0178097843, rođena dana 14.03.1995. u Virovitici, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

KINETIKA PROBAVLJIVOSTI ŠKROBA SILIRANOG REHIDRIRANOG ZRNA
KUKURUZA U ISHRANI SVINJA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE
O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Klare Novaković**, JMBAG 0178097843, naslova
KINETIKA PROBAVLJIVOSTI ŠKROBA SILIRANOG REHIDRIRANOG ZRNA
KUKURUZA U ISHRANI SVINJA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

1. prof.dr.sc. Darko Grbeša mentor
2. prof.dr.sc. Krešimir Salajpal član
3. prof.dr.sc. Zlatko Svečnjak član

Potpisi:

ZAHVALA

Ovim putem zahvaljujem svojoj obitelji na velikoj podršci i pomoći koju mi je pružila tijekom studiranja. Veliko hvala i docentici Kristini Kljak čiji su mi trud i savjeti omogućili da kvalitetno odradim analitički dio u laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja. Također zahvaljujem i ostalim djelatnicima laboratorija na pomoći pri provođenju analiza. Hvala mentoru, profesoru Darku Grbeši na prenošenju brojnih znanstvenih činjenica, ali i praktičnih znanja iz struke. Hvala i ostalim članovima povjerenstva, profesoru Krešimiru Salajpalu i Zlatku Svečnjaku, te ostalim zaposlenicima Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na pruženoj pomoći tijekom akademskog obrazovanja.

SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Hipoteza i cilj istraživanja.....	2
3. Pregled literature	3
3.1. Strukturne karakteristike zrna kukuruza	3
3.2. Osnovni kemijski sastav zrna kukuruza	4
3.3. Probavni sustav i probavljivost.....	4
3.4. Škrob i probavljivost škroba kukuruza	6
3.5. Kinetika probave škroba	8
3.5.1. Podjela frakcija škroba prema brzini probavljivosti	8
3.5.2. Povezanost strukture zrna kukuruza i kinetike probavljivosti škroba.....	10
3.6. Siliranje kao način konzerviranja krmiva	10
3.7. Silirano zrno kukuruza.....	12
3.7.1. VVZ – visokovlažno zrno kukuruza	13
3.7.2. Rehidrirano silirano zrno kukuruza.....	13
4. Materijali i metode	15
4.1. Istraživani hibridi.....	15
4.2. Rehidriranje i siliranje	16
4.3. Kemijske metode analize	17
4.3.1. Određivanje vlage	17
4.3.2. Određivanje škroba	17
4.3.3. Određivanje šećera.....	18
4.4. Kinetika probavljivosti	19
4.4.1. Određivanje <i>in vitro</i> probavljivosti škroba	19
4.4.2. Određivanje probavljivosti suhe tvari	21
4.4.3. Određivanje brzine probavljivosti škroba	22
4.5. Statistička obrada podataka	23
5. Rezultati i rasprava.....	24
5.1. Sadržaj vlage, škroba i šećera.....	24
5.2. Probavljivost suhe tvari	28
5.3. Kinetika <i>in vitro</i> probavljivosti škroba	30
5.4. Rezultati brzine probavljivosti škroba	36

5.4.1. Topljiva i probavljiva frakcija.....	38
6. Zaključak.....	41
7. Popis literature.....	42
8. Prilozi	45

SAŽETAK

Diplomskog rada studentice **Klare Novaković**, naslova

KINETIKA PROBAVLJIVOSTI ŠKROBA SILIRANOG REHIDRIRANOG ZRNA KUKURUZA U ISHRANI SVINJA

Zrno kukuruza najvažniji je izvor energije u obliku škroba i najzastupljenije krmivo u potpunoj hrani svinja. Kada se zbog vremenskih (ne)prilika i nedostatka mehanizacije zrno ubire poslije optimalnog roka ono gubi vodu i neprikladno je za siliranje. Rehidriranjem se podiže sadržaj vode na optimalnu koncentraciju za siliranje. S obzirom da je malo podataka o kinetici probavljivosti škroba rehidriranog pa siliranog zrna, cilj ovog istraživanja je bio, koristeći model za svinje, ispitati kinetiku *in vitro* ilealne probavljivosti škroba rehidriranog zrna različitih hibrida kukuruza tijekom siliranja i skladištenja (0., 21. i 95. dan). Zrno hibrida Bc 344, Bc 418b, Bc 424, Bc 525, Bc 572, Kekec i Pajdaš ubrano je nakon fiziološke zrelosti, rehidrirano do 32 % vlage i silirano uz dodatak komercijalnog inokulanta u vakuum vrećicama na sobnoj temperaturi. *In vitro* procedura provedena je u kontroliranim uvjetima u dva koraka koji oponašaju probavu u želucu i tankom crijevu svinja, a koeficijenti probavljivosti izračunati su za 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4 i 5 sati inkubiranja pri čemu je brzina probavljivosti škroba izračunata prema kinetici prvog reda. Koeficijenti probavljivosti i brzina probavljivosti škroba se razlikovala između hibrida te je rasla s vremenom siliranja ($P < 0,05$). Sav škrob svježe mase za siliranje probavio se nakon četiri sata dok je u silazama probavljen nakon tri sata i 21. i 95. dana siliranja. Brzina probavljivosti škroba kretala se u prosjeku od 0,5881 1/h (0. dan) do 1,1792 1/h (95. dan). Probavljivost suhe tvari prosječno je iznosila od 80,81 % (0. dan) do 89,57 % (95. dan). Siliranje značajno povećava brzinu probavljivosti što je potrebno uzeti u obzirom prilikom sastavljanja obroka.

Ključne riječi: kinetika probavljivosti škroba, silirano rehidrirano zrno kukuruza, *in vitro* probavljivost

SUMMARY

Of the master's thesis – student **Klara Novaković**, entitled

IN VITRO DIGESTIBILITY KINETICS OF STARCH FROM ENSILED REHYDRATED MAIZE GRAIN IN PIG NUTRITION

Maize kernel is the most important source of energy in the form of starch and most commonly used feed in complete pig diets. When grain is harvested after the optimal period due to the (un)favorable weather conditions and lack of mechanization, it loses water and is unsuitable for ensiling. Rehydrating increases water content to the optimal concentration for ensiling. Since data about digestibility kinetics of starch from rehydrated and ensiled grain is scarce, the aim of this study, using the pig model, was to investigate the *in vitro* ileal digestibility kinetics of starch in rehydrated kernel from different maize hybrids during ensiling and storage (0th, 21st and 95th day). Grain of hybrids Bc 344, Bc 418b, Bc 424, Bc 525, Bc 572, Kekec and Pajdaš was harvested after physiological maturity, rehydrated to 32% moisture content and ensiled with the addition of a commercial inoculant in vacuum bags at room temperature. The *in vitro* procedure was performed under controlled conditions in two steps mimicking digestion in the stomach and the small intestine of pigs, and the starch digestibility coefficients were calculated for 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4 and 5 hours of incubation and starch digestibility rate was calculated according to the first order kinetics. The starch digestibility coefficients and the starch digestibility rate differed between the hybrids and increased with the time of ensiling ($P < 0,05$). All starch of fresh silage mass was digested after four hours, while it was digested after three hours in silages from both 21st and 95th day of ensiling. Starch digestibility rate ranged from 0,5881 l/h (0th day) to 1,1792 l/h (95th day). Dry matter digestibility averaged from 80,81 % (0th day) to 89,57 % (95th day). Ensiling significantly increase starch digestibility rate which should be considered when formulating diets.

Keywords: starch digestibility kinetics, ensiled rehydrated corn kernel, *in vitro* digestibility

1. Uvod

Jedna od najznačajnijih ratarskih kultura u svijetu je kukuruz (*Zea mays* L.). Pripada porodici trava (*Gramineae/ Poaceae*) i jednogodišnja je biljka koja potječe iz Srednje Amerike. Nakon Columbova otkrića Amerike 1492. godine dospio je i u Europu. Prema statističkim podacima FAO-a (eng. *Food and Agriculture Organization*) iz 2016. godine, kukuruz se u Svijetu uzgaja na 187 959 116 ha, godišnja proizvodnja zrna iznosi 1 060 107 470 t, a prosječni prinos je 5 640,1 kg/ha (FAOSTAT, 2018.). Najveći proizvođači kukuruza u Svijetu su SAD, Kina i Brazil. U Europskoj Uniji kukuruz se uzgaja na 8 818 956 ha s godišnjom proizvodnjom od 62 667 522 t i prosječnim prinosom od 7 106 kg/ha, dok u Republici Hrvatskoj površine uzgoja iznose 250 072 ha, godišnja proizvodnja zrna je 2 154 470 t, a prosječni prinos 8 615,4 kg/ha (FAOSTAT, 2018.).

U Republici Hrvatskoj uvelike se koristi kako u prehrambenoj industriji tako i u hranidbi životinja. Njegov udio u hranidbi je visok zbog povoljnog kemijskog sastava, a njegov udio u krmnim smjesama može biti 40 – 80%. Zrno kukuruza najvažniji je izvor energije u obliku škroba i najzastupljenije krmivo u potpunoj hrani svinja. Svinje bolje iskorištavaju silirano od suhog zrna kukuruza jer se tijekom skladištenja u silosu povisuje visina probavljivosti škroba zbog otapanja zeinskog omotača granula škroba.

Hranidbena vrijednost krmiva se ispituje različitim analitičkim metodama, a određivanje probavljivosti važan je korak u njenoj procjeni. Postoje *in vivo* i *in vitro* metode određivanja probavljivosti škroba pri čemu *in vivo* pokusi na živim organizmima daju najrealnije rezultate, a za određivanje probavljivosti vrši se analiza izlučevina (urin, feces). U ovom istraživanju biti će određena *in vitro* ilealna probavljivost škroba, u laboratorijskim uvjetima u umjetno stvorenom sustavu probave, što je brža, manje zahtjevna i jeftinija metoda procjene probavljivosti u odnosu na *in vivo* metodu.

Kada se zbog vremenskih (ne)prilika i nedostatka mehanizacije zrno ubire poslije optimalnog roka ono gubi vodu i neprikladno je za siliranje. Rehidriranjem se podiže sadržaj vode na optimalnu koncentraciju za siliranje. Energetska vrijednost škroba ne ovisi samo o visini već i o kinetici probave škroba u tankom crijevu. Međutim, nije poznata kinetika probave škroba rehidriranog pa siliranog zrna kukuruza.

2. Hipoteza i cilj istraživanja

Na temelju pregleda literature postavljene su sljedeće hipoteze:

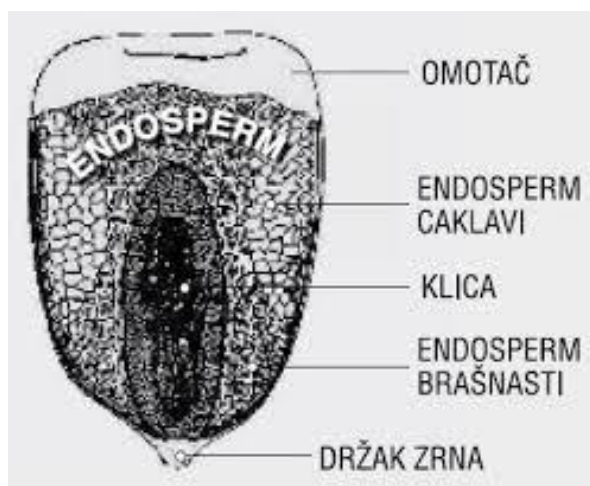
- Silirano rehidrirano zrno različitih hibrida kukuruza imati će različitu brzinu probavljivosti škroba.
- S vremenom siliranja, rasti će brzina probavljivosti škroba rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza.

Koristeći model za svinje, cilj ovog istraživanja je ispitati kinetiku *in vitro* ilealne probavljivosti škroba rehidriranog zrna različitih hibrida kukuruza tijekom siliranja i skladištenja (0., 21. i 95. dan) u hranidbi svinja.

3. Pregled literature

3.1. Strukturne karakteristike zrna kukuruza

Zrno kukuruza građeno je od endosperma, klice, tankog vanjskog omotača (perikarp ili košuljica sjemena) i drška zrna (Slika 1). Najveći dio suhe mase zrna čini endosperm (83%). Klica čini 11%, perikarp 5%, a drška 1% suhe mase zrna. Dva su tipa endosperma, caklavi i brašnjavi. Caklavi ili rožnati endosperm je tvrd i zbijen, a karakteriziraju ga sitnije višekutne granule škroba, veći udio ulja, karotenoida (provitamini vitamina A) i skladišnog proteina (prolamina) – zeina. Brašnjavi endosperm je pak mekan i rahao te najvećim dijelom sadrži škrob. Prema Grbeši (2016.), iz endosperma potječe 98% škroba zrna kukuruza pa što je viši udio endosperma, više je i škroba u zrnju. Građen je od krupnijih okruglih granula škroba koje su okružene zračnim džepovima. Tip i građa endosperma određuju koliko će neki hibrid kukuruza biti otporan na oštećenja od insekata i plijesni, na oštećenja pri berbi, manipulaciji i skladištenju, kolika će biti krupnoća mljevenja, te koje će biti mjesto i brzina probave škroba. Tip endosperma najviše je povezan s genotipom kukuruza, a zatim u manjoj mjeri i okolišnim čimbenicima i gnojidbom dušikom (Grbeša, 2016.). Sušne i vruće godine povisuju udio caklavog, dok kišne i hladnije godine povisuju udio brašnjavog endosperma. Nedostatak dušika (N) dovodi do smanjene sinteze zeina što naposljetku dovodi do smanjenog sadržaja sirovih proteina u zrnju, odnosno, smanjenog udjela caklavog endosperma i većeg udjela brašnjavog endosperma. Sama građa brašnjavog endosperma jasno ukazuje na njegovu manje kompaktnu strukturu u odnosu na caklavi endosperm, a koja ga naposljetku čini podložnijim oštećenjima i lomu zrna. S obzirom na omjer caklavog i brašnjavog endosperma, odnosno tvrdoću zrna, zrno kukuruza dijeli se na tvrdunce, polutvrdunce, kvalitetne zubane i zubane. Tipični tvrdunci sadrže 83%, polutvrdunci 69 – 83%, kvalitetni zubani 53 – 68%, a zubani $\leq 52\%$ caklavog endosperma (Grbeša, 2016.). Polutvrdunci i kvalitetni zubani sadržavaju više caklavog od brašnastog endosperma.



Slika 1. Građa kukuruznog zrna (Izvor: Grbeša, 2008.)

3.2. Osnovni kemijski sastav zrna kukuruza

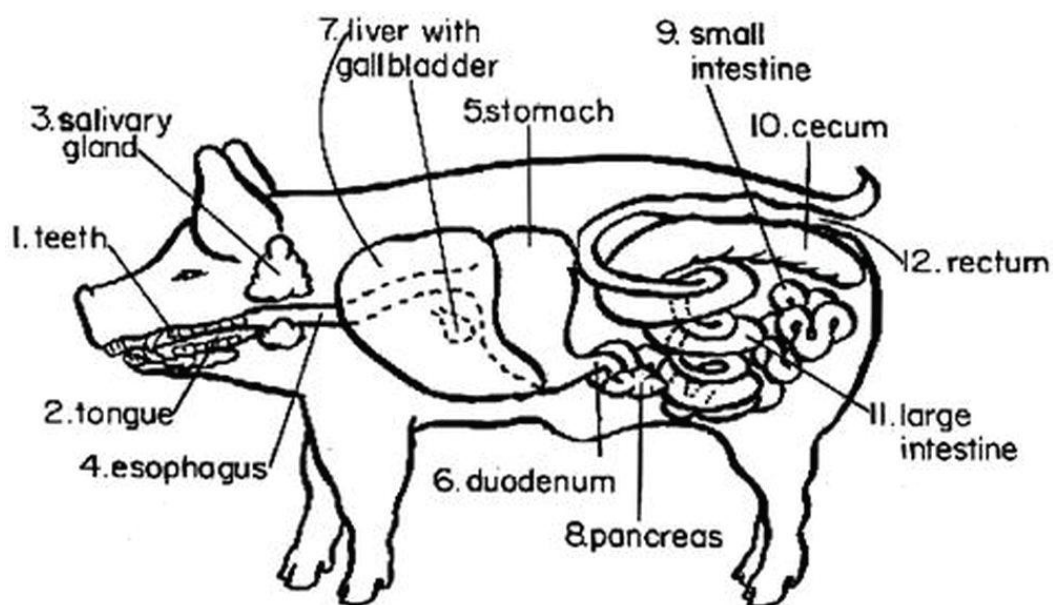
Kukuruz je žitarica koja pripada skupini ugljikohidratnih, koncentratnih ili krepkih - energetskih krmiva. Zrno kukuruza ne sadrži antinutritivne tvari (smanjuju konzumaciju i metabolizam tvari), ukusno je i primjereno za hranidbu svih vrsta domaćih životinja. Grbeša (2004.) navodi sljedeći prosječni kemijski sastav zrna kukuruza pri 12% vlage – 8,1% sirovih bjelancevina (SB), 3,7% sirovih masti (SM), 2,7% sirovih vlakana (SV), 12,8% neutralnih detergent vlakana (NDV – celuloza, hemiceluloza, lignin), 3,5% kiselih detergent vlakana (KDV – celuloza i lignin), 1,3% pepela te 72,2% nedušičnih ekstraktivnih tvari (NET) od kojih 61,9% škroba i 1,7% šećera.

Prema Grbeši (2016.) najveći dio (60 – 80%) pojedene količine hrane životinje koriste kao izvor energije. U kukuruza kao škrobastoj kulturi upravo je škrob glavni izvor energije za visokoproduktivne životinje. Među svim žitaricama on ima najviši sadržaj energije, a količina energije dobivena iz kukuruza razlikuje se ovisno o vrsti i kategoriji životinje. Zrnje kukuruza sadrži 13,6 MJ metaboličke energije (ME) po kilogramu suhe tvari (ST) za preživače, 16,1 MJ ME/kg ST [12,9 MJ neto energije (NE)/kg ST] za tovne svinje, 15,1 MJ ME/kg ST za brojlere, 15,4 MJ ME/kg ST za nesilice i 14,3 MJ ME/kg ST za kuniće (Feedipedia, 2018.). S obzirom da je škrob kukuruza najvažniji sastojak hrane za perad, svinje i visokoproduktivne preživače u Hrvatskoj, hrana za svinje u tovu treba sadržavati 38 – 40% škroba. Perad bolje iskorištava tvrde, caklavije hibride i preferira krupniju meljavu, a svinjama su takvi hibridi i ukusniji zbog višeg udjela ulja, no one energiju bolje iskorištavaju iz fino mljevenog zrna kukuruza.

3.3. Probavni sustav i probavljivost

Probavni sustav (*Systema digestorium/ Apparatus digestorius*) sastoji se od probavnog trakta (*Tractus alimentarius*) i pridruženih žlijezda – žlijezde slinovnice, jetra (*hepar*) i gušterača (*pancreas*). Probavni trakt monogastričnih životinja čine: 1.) usta, 2.) ždrijelo (*pharynx*), 3.) jednjak (*esophagus*), 4.) želudac (*gaster*), 5.) tanko crijevo (*intestinum tenue*) – dvanaesnik (*duodenum*), prazno crijevo (*jejunum*), vito crijevo (*ileum*), 6.) debelo crijevo (*intestinum crassum*) – slijepo crijevo (*caecum*), debelo crijevo (*colon*), ravno crijevo (*rectum*) i 7.) završni otvor (*anus*). Probavni sustav svinje prikazan je na Slici 2.

Slina svinja sadrži nisku koncentraciju enzima amilaze koji već u ustima započinje hidrolizu škroba. Glavno mjesto probave i apsorpcije hranjivih tvari, pa tako i škroba, je tanko crijevo svinje. U tanko crijevo se ulijevaju sokovi gušterače i jetre. Gušterača u duodenum luči pankreasni sok, bistru i bezbojnu alkalnu tekućinu koja sadrži vodu (H_2O), bikarbonatni pufer (HCO_3^-), proteazu, pankreasnu lipazu i pankreasnu amilazu, dok jetra izlučuje žuč važnu za emulzifikaciju masti.



Slika 2. Probavni sustav svinje (Izvor: Rowan i sur., 1997.)

Probava u svinja je proces enzimatske hidrolize kemijskih veza u složenim makrohranjivim tvarima (ugljikohidratima, proteinima i lipidima) na jednostavne apsorptivne sastojke u lumenu i luminalnim membranama želuca, tankog i debelog crijeva. Apsorpcija je proces kretanja produkata probave kroz mukozu crijeva u intersticijalnu tečnost te iz nje kapilarama u krvotok ili limfnim kapilarama u limfu (Guyton i Hall, 2006.). U hranidbi se striktna probava i apsorpcija nazivaju probavom. Stupanj ili visina probave je probavljivost hranjive tvari (0 – 100%) koja pokazuje koliki se dio hranjive tvari od pojedene količine ne izluči u fecesu, odnosno apsorbira se u krvotok. Kako hranu (digest) koja dođe iz tankog u slijepo i debelo crijevo fermentiraju mikroorganizmi kao izvor energije za vlastiti metabolizam, a ne za životinju, tako imamo prividnu i stvarnu probavljivost. Prividna probavljivost pokazuje dio konzumirane hranjive tvari koji se nije pojavio u fecesu, odnosno probavljen je u tankom i debelom crijevu. Dodatno, svinje u svom metabolizmu iskorištavaju hranjive tvari koje su se apsorbirale do kraja ileuma. Stvarna probavljivost pokazuje dio hranjive tvari koji se hidrolizirao i apsorbirao u organizam do kraja vitog crijeva (ileuma) i realni je izvor energije i građevnih tvari za životinju (Grbeša, 2014.). Zbog toga se energetska i proteinska (aminokiselinska) vrijednost krmiva za perad i svinje prikazuje u dvije jedinice – prividna i stvarna energetska vrijednost. Naime, Grbeša (2016.) navodi da se probavljivost škroba i proteina u svinja i peradi prikazuje kao ilealna probavljivost (%) jer se glukoza i aminokiseline apsorbiraju samo u tankom crijevu, a u debelom crijevu neprobavljeni škrob i protein mikroorganizmi pretvore u spojeve koji imaju 20% manje energije nego glukoza i aminokiseline.

Škrob je najzastupljeniji (42 – 62%) sastojak potpune hrane svinja i jedini polisaharid kojega mogu hidrolizirati enzimi svinje dok druge hidroliziraju samo enzimi

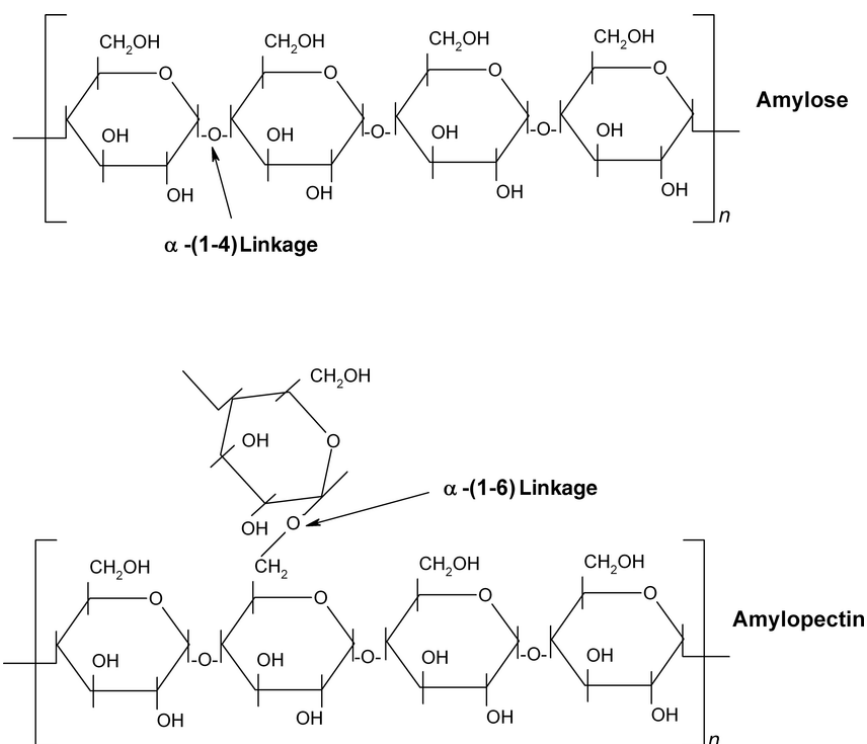
mikroorganizama (Wu, 2018.). Probava škroba započinje u ustima i završava u tankom crijevu. Malu količinu škroba hidrolizira α -amilaza sline (ptijalin) i želuca dajući male količine disaharida – dekstrina, te oligosaharide sa 3 do 9 molekula glukoze kao što su α – limitirani dekstrini, maltoza, maltotrioza i izomaltoza. U ustima čovjeka se probavi oko 5% škroba. U želucu se nastavlja aktivnost ptijalina 30 – 40% sve dok ga ne razori niski pH želuca, te se tako 30 – 74% škroba razgradi do maltoze. Iz želuca neprobavljeni škrob i dekstrini dolaze u tanko crijevo gdje se hidrolizira najveći dio pojedene količine škroba enzimima koji dolaze iz gušterače (α -amilaze) te iz stijenke crijeva. Amilaza gušterače je nekoliko puta aktivnija i izlučuje se u visokoj koncentraciji tako da se skoro sav škrob hidrolizira u maltozu i druge vrlo male molekule glukoze (Guyton i Hall, 2006.). Enterociti koji prekrivaju resice tankog crijeva izlučuju maltazu, laktazu, sukrozu i α -dekstrinazu. Posljednje dvije cijepaju maltozu i vrlo male polimere glukoze, a cijepaju se do α -D glukoze (Wu, 2018.).

Pravidna probavljivost škroba tipičnih žitarica u svinja je >95%, a škroba drugih krmiva u prosjeku oko 90%. Međutim, probavljivost se jako razlikuje između dijelova tankog crijeva ovisno o vrsti žitarice, građi škroba, obradi, preradi krmiva i dobi životinje (Bach Knudsen, 2001.).

Sadržaj škroba je ujednačen među hibridima kukuruza (npr. Bc 418b 63,48%, Bc 424 63,45%, Bc 572 63,33%, Pajdaš 64,79% škroba; Grbeša, 2016.), a njihove male razlike ne objašnjavaju vrlo različite proizvodne rezultate goveda, svinja i peradi hranjene istim udjelima škrob iz različitih hibrida. Grbeša (2016.) tvrdi kako je bolji pokazatelj iskoristivosti škroba ne njegova probavljivost u cijelom probavnom traktu već ona u tankom crijevu (ilealna probavljivost škroba) u kojem se on hidrolizira do glukoze iz koje odrasle monogastrične životinje dobivaju najviše energije. Prema tome, razlike u probavljivosti značajno utječu na količinu energije koju će životinje dobiti iz zrna kukuruza.

3.4. Škrob i probavljivost škroba kukuruza

Škrob pripada skupini nestrukturnih ugljikohidrata te je skladišni polisaharid biljaka. Građen je od 2 polimera molekula glukoze – amiloze i amilopektina. Dona i sur. (2010.) navode da postoje različiti varijeteti prirodnih škrobova koji se razlikuju u sadržaju amiloze, amilopektina, proteina i masti zajedno s drugim strukturnim razlikama, pa tako kukuruz može sadržavati nisko ili visoko amilozni škrob. U pravilu, normalan kukuruz sadrži 25% škroba u formi amiloze, a 75% u formi amilopektina pa porast jedne smanjuje udio druge forme škroba (Grbeša, 2016.). Amiloza je ravni lanac u kojemu su molekule povezane α -1,4-glikozidnim vezama, a amilopektin je razgranata molekula koju povezuju α -1,4-glikozidne veze i α -1,6-glikozidne veze (Slika 3). Enzimi životinje u mogućnosti su razdvojiti α -1,4-glikozidnu vezu, dok β -1,4-glikozidnu vezu koja povezuje molekule celuloze (vlakna) mogu razgraditi samo enzimi mikroorganizama buraga i debelog crijeva. Razgranata struktura amilopektina omogućuje enzimima veću površinu za djelovanje te je stoga i probavljiviji u odnosu na amilozu.



Slika 3. Struktura molekula amiloze i amilopektina (Izvor: www.researchgate.net)

Kukuruz sadrži visok udio škroba (63 – 65%) koji je visoko probavljiv (90 – 97%). Međutim, građa škroba razlikuje se između hibrida kukuruza te bitno djeluje na obujam i brzinu probave škroba odnosno ravnomjernost dotoka glukoze u tvorne organe, a time i na proizvodnju životinja i iskorištenje hrane (Grbeša, 2016.). U probavnom sustavu životinja caklavi endosperm zrna kukuruza je sporije probavljiv. Prema Grbeši (2016.), na probavljivost škroba djeluje udio caklavog endosperma viši od 60%. Probavljivost može biti pod utjecajem fizikalnih i kemijskih svojstava hrane, kao i pod utjecajem razine hranidbe te utjecajem životinje (Wilfart i sur., 2008.). Za svinje i perad, škrob treba činiti 30 – 40% obroka. U istraživanju Wilfart i sur. (2007.), tovnje svinje hranjene su obrocima s niskim (LF, eng. *Low fiber*), srednjim (MF, eng. *Medium fiber*) i visokim (HF, eng. *High fiber*) udjelom obročnih vlakana koji su sadržavali, redom, 52,1%, 45,4% i 38,2% škroba. Ilealna probavljivost škroba u LF obroku iznosila je prosječno 99,1%, u MF obroku 99,1%, a u HF obroku 98,9%. Probavljivost škroba bila je visoka bez obzira na njegov udio u obroku.

3.5. Kinetika probave škroba

Kinetika probave bavi istraživanjem brzina kemijskih reakcija u probavnom sustavu kako ljudi tako i životinja. Veličina koja se najčešće koristi kako bi se opisala kinetika probave određene hrane je brzina probavljivosti – veličina koja opisuje napredovanje probave tijekom vremena. Brzina probavljivosti (%/h) time predstavlja udio probavljive tvari koji se probavi u određenom vremenu. Prilikom određivanja brzine probavljivosti postoji cijeli niz kinetičkih modela koji se mogu pripisati određenoj hranjivoj tvari ovisno o sadržaju probavljive, neprobavljive i topljive frakcije, te različitim probavnim sustavima. Sve češća su istraživanja o kinetici probavljivosti škroba kod svinja s obzirom na njezin mogući utjecaj na probavljivost i iskorištenje drugih hranjivih tvari, te veću proizvodnost životinja i kvalitetu animalnih proizvoda.

In vitro metode procjene probavljivosti oponašaju probavu u laboratorijskim uvjetima, a probava se vrši pomoću smjese komercijalnih enzima – enzimatske metode. Za određivanje kinetike ilealne probavljivosti škroba (monogastrične životinje) koristi se model u kojemu se u 2 koraka prati probavljivost: 1.) želudac – klorovodična kiselina (HCl) + enzim pepsin, 2.) tanko crijevo – smjesa enzima amilaze, lipaze i proteaze (pankreatin). Probavljivost se prati putem produkata razgradnje škroba, molekula glukoze, koje se određuju kolorimetrijski. Spektrofotometrijski se mjeri apsorbancija koja je u ovisnosti s koncentracijom produkta u otopini, odnosno koncentracija glukoze se kvantificira. *In vitro* metode procjene probavljivosti škroba vrlo su precizne, a korišteni enzimi poznate aktivnosti omogućuju usporedbu rezultata različitih istraživanja s rezultatima često skupih *in vivo* istraživanja kod kojih je prisutan utjecaj varijabilnosti jedinki.

Sporija i ujednačenija razgradnja (hidroliza) škroba hrane osigurava ravnomjerniju razinu glukoze u krvi, a što takvu hranu čini kvalitetnijom i energetski iskoristivijom za organizam i proizvodnost životinje. Glikemijski indeks hrane je mjera brzine pri kojoj je sadržaj ugljikohidrata hidroliziran u probavnom sustavu i apsorbiran putem aktivne i olakšane difuzije preko enterocitnih membrana u krvotok (Dona i sur., 2010.). Drew i sur. (2011.) u svome istraživanju predstavili su novi pristup hranidbe svinja baziran na klasifikaciji glikemijskog indeksa (GI) kako bi se ispitala kinetika probave škroba obroka na bazi žitarica. Probavljivost škroba određivana *in vivo* metodama je dugotrajan i skup proces koji zahtijeva veliki uzorak (mnogo jedinki određenih karakteristika). *In vitro* predikcija GI mogla bi se koristiti kao pouzdana alternativa kompleksnim i skupim *in vivo* određivanjima GI na životinjama (Giuberti i sur., 2011.a).

3.5.1. Podjela frakcija škroba prema brzini probavljivosti

Prema brzini probave u crijevima monogastričnih životinja škrob se dijeli na: brzo probavljivi (RDS – eng. *Rapidly Digestible Starch*), sporo probavljivi (SDS – eng. *Slowly*

Digestible Starch) i rezistentni škrob (RS – eng. *Resistant Starch*). Prema Englyst i sur. (1999.), frakcija brzo probavljivog škroba obuhvaća RDS i RAG (brzo dostupnu glukozu, eng. *Rapidly Available Glucose*), frakcija sporo probavljivog škroba SDS i SAG (sporo dostupnu glukozu, eng. *Slowly Available Glucose*), a frakcija neprobavljivog/rezistentnog škroba izbjegne probavu u tankom crijevu. Brzo probavljivi škrob se probavi za manje od 2 sata, a sporo probavljivi škrob za 2 – 4 sata u tankom crijevu svinja. Glukozu oslobođenu probavom brzo probavljivog škroba najprije iskoriste crijeva za vlastitu opskrbu energijom i tek kada ona podmire svoje potrebe propuštaju je u metabolizam gdje se ostatak apsorbira u krvotok. Tanko crijevo potroši oko 75% energije održanja crijeva, te ono ima prednost u opskrbi energijom pred tijelom (Grbeša, 2016.). Prvi dio tankog crijeva (duodenum i jejunum) troši više energije nego drugi dio crijeva (ileum). Ukoliko su životinje hranjene obrokom s puno brzoprobavljivog škroba one sporije rastu, jer se sva glukoza oslobođena u gornjem dijelu tankog crijeva ne može iskoristiti u metabolizmu, čime je manja sinteza proteina. Sporoprobavljivi škrob daje energiju donjem dijelu tankog crijeva pa štedi aminokiseline koje se u slučaju manjka glukoze koriste kao izvor energije (Grbeša, 2016.). Sporija probavljivost škroba pozitivno utječe na priraste zbog postupnog otpuštanja glukoze, čime se postiže ujednačenija opskrba životinje proteinima i energijom. Glikemijskim indeksom opisujemo brzinu kojom glukoza u krvi (GUK) poraste nakon konzumacije određene žitarice ili proizvoda. Pa tako Dona i sur. (2010.) navode da RDS uzrokuje brzo povećanje koncentracije glukoze u krvi nakon ingestije, a da je SDS frakcija škroba probavljena polako, ali potpuno u tankom crijevu. Rezistentni škrob nakon 4 sata probave u tankom crijevu dolazi u debelo crijevo gdje služi kao prebiotik poželjnim mliječno-kiselim bakterijama koje ga fermentiraju do kratkolančanih ili hlapljivih masnih kiselina (HMK) – octene, propionske i maslačne. Rezistentni škrob sastoji se od amiloze i neprobavljenog amilopektina (Grbeša, 2016.). Poželjno je da 82% škroba kukuruza bude brzo probavljiv škrob, 14% sporo probavljiv škrob i da se 4% ne probavi te služi kao hrana poželjnim bakterijama u debelom crijevu peradi i svinja (Grbeša, 2016.).

Grbeša (2016.) navodi da spora brzina probavljivosti <70 %/h pokazuje da se škrob nije potpuno probavio do glukoze, da velika brzina probavljivosti >150 %/h pokazuje da se škrob potpuno probavio, ali da je u metabolizmu neučinkovito iskorišten za sintezu proteina, te da optimalna ili umjerena brzina probavljivosti 100 – 135 %/h pokazuje da se gotovo sav škrob postupno probavio do glukoze i da je ona gotovo potpuno iskorištena za sintezu proteina čime su i veći prirasti. U istraživanju Weurding i sur. (2003.), brojleri hranjeni obrokom koji sadrži sporoprobavljivi škrob (brzina probavljivosti škroba = 1,18 1/h) konzumirali su više hrane, brže su rasli, a konverzija hrane je bila niža, u odnosu na one hranjene s obrokom koji sadrži brzoprobavljivi škrob (brzina probavljivosti škroba = 3,23 1/h). Hranidba sporoprobavljivim škrobom poboljšala je iskorištenje proteina i energije kod brojlera (Weurding, 2003.). Istraživanje Giuberti i sur. (2012.) pokazalo je da frakcije škroba utječu na predikciju GI, te je tako procijenjeni GI pozitivno povezan s udjelom glukoze i brzoprobavljivog škroba, a negativno povezan s udjelom sporoprobavljivog i rezistentnog škroba. Prema tome, za svinje su poželjni obroci s nižim glikemijskim indeksom, odnosno da sadrže više sporoprobavljivog škroba koji će ih postupno opskrbljivati energijom, što omogućava više priraste i štednju energije.

3.5.2. Povezanost strukture zrna kukuruza i kinetike probavljivosti škroba

Tip endosperma te sadržaj i struktura zeina u njemu najviše utječu na brzinu i probavu škroba. Prema tome, škrob mekših hibrida (zubani) brže se probavlja od škroba tvrdih hibrida kukuruza (tvrđunci). Grbeša (2016.) navodi da caklavi endosperm sadrži više amiloze, zeina (proteina), karotenoida i ulja, no nešto manje škroba u odnosu na brašnjavi endosperm. Sitnije i okrugle granule sadrže manje amiloze, a više amilopektina, dok krupnije granule obratno. Sve ove razlike u građi škroba, veličini granula i proteinsko-škrobnoj matrici endosperma, uzrok su različitih hranjivih vrijednosti zrna sa sličnim sadržajem i probavljivosti škroba. Amiloza s jedne strane ograničava probavljivost, a s druge je strane izvor sporo probavljivoga i neprobavljivoga (rezistentnog) škroba. Amilopektin je potpunije, lakše i brže probavljiv u crijevima. Zein koji izvana obavija granule škroba polagano se probavlja pa smanjuje neophodan kontakt između enzima i unutarnjeg škroba (Grbeša, 2016.). Dakle, hibridi s većim sadržajem zeina i caklavog endosperma imaju sporiju probavu škroba. Zhang i sur. (2015.) na temelju svoga istraživanja zaključuju da gusto pakirane molekularne matrice imaju najveći utjecaj na kinetiku probave škroba pomoću enzima amilaze, te da takvo gusto pakiranje ograničava vezanje enzima i/ili usporava katalizu (razgradnju) škroba. Općenito, probavljivost škroba do glukoze je brža nego što je to probavljivost proteina do aminokiselina, a što je veća brzina probave škroba od brzine probave proteina to je lošije iskorištenje hrane (konverzija) – potrebno je više hrane za jedinicu proizvoda.

3.6. Siliranje kao način konzerviranja krmiva

Cilj siliranja je postizanje anaerobnih uvjeta u kojima bakterije mliječno-kiselinskog vrenja mogu nesmetano rasti i razmnožavati se. Da bi se postigli anaerobni uvjeti, masu za siliranje vrlo je bitno dobro zbiti kako bi se iz silosa uklonila većina zraka. Bakterije mliječno-kiselinskog vrenja vrše fermentaciju biljnih ugljikohidrata (ugl. vodotopljivih ugljikohidrata – glukoze, fruktoze, saharoze) u organske kiseline (dominira mliječna kiselina) što dovodi do povećanja kiselosti supstrata i njegovog konzerviranja u obliku silaže. Pad pH vrijednosti ispod 5 onemogućava rast i razvoj nepoželjnih mikroorganizama (mo. kvarenja). Prozračivanjem (aeracijom) silosa aktiviraju se aerobni mikroorganizmi, a kvaliteta silaže može opasti do nejestivog i često toksičnog proizvoda (Vranić, 2012.). Poželjni uvjeti za rast i razvoj mliječno-kiselih bakterija su temperatura od 5 do 50 °C (optimalno 25 – 40 °C), a optimalna pH vrijednost 5 – 6 (smanjuju pH ispod 5 ili 4). Škrob se, kao složeni ugljikohidrat, prilikom procesa siliranja samo djelomično razgrađuje zbog nedostatka enzima za njegovu razgradnju (amilaza). Za postizanje dovoljne količine mliječne kiseline masa koja se silira mora sadržavati minimalno 3 – 3,5% šećera u ST. Potrebna koncentracija vodotopljivih šećera u biljci prije siliranja je 1 – 4% za silažu visokovlažnog zrna i klipa kukuruza, 4 – 6% za silažu trava i leguminoza, a 6 – 8% za silažu cijele biljke kukuruza (Vranić, 2012.).

- Mikrobiološke i biokemijske promjene u masi za siliranje tijekom siliranja pa sve do hranidbe se mogu podijeliti u nekoliko faza siliranja (Vranić, 2012.):

1. **aerobna ili respiracijska faza** – traje sve dok u zbijenoj biljnoj masi ima kisika (O_2)

Uz prisutnost kisika aktivne su aerobne bakterije, gljivice i plijesni koje troše topive ugljikohidrate, oslobađaju vodu, ugljikov dioksid (CO_2) i toplinu. Aktivni su i enzimi oslobođeni kidanjem (sjeckanjem, gnječenjem, mljevenjem) biljnih stanica. Oni razgrađuju vrijedne sastojke silaže, vrše hidrolizu proteina na peptide i slobodne aminokiseline, a ugljikohidrate razgrađuju na jednostavne šećere. Prva faza završava kada se potroši sav prisutan kisik u biljnoj masi i kada pH vrijednost padne na otprilike 5,5 pa se smanjuje aktivnost biljnih enzima, razgradnja proteina i vodotopljivih šećera.

2. **početak aktivne faze** – počinje zakiseljavanjem silirane biljne mase nakon što je potrošen sav kisik

Aktivni su anaerobni mikroorganizmi koji proizvode octenu kiselinu, nešto mliječne kiseline, alkohol i CO_2 . Iako je octena kiselina slabija od mliječne, ona prva počinje snižavati pH vrijednost silirane mase. Opadanje pH pogoduje rastu i razvoju bakterija mliječno-kiselinskog vrenja.

3. **aktivna faza** – počinje kada pH padne na oko 5 (smanjuje se aktivnost bakterija octene kiseline, a istovremeno se ubrzava aktivnost bakterija mliječno-kiselinskog vrenja)

Bakterije mliječno-kiselinskog vrenja aktivne su dok pH vrijednost ne padne na oko 3,4 – 5,0. Osim mliječne kiseline, u ovoj se fazi oslobađa alkohol etanol, manitol, te jantarna i mravlja kiselina. Aktivnost bakterija postepeno prestaje, temperatura se smanjuje, a silaža je dobro konzervirana i stabilna.

4. **stabilna faza** – započinje nakon prestanka anaerobne mikrobiološke aktivnosti kada se postigne dovoljno niska pH vrijednost ili ako se potroši sav šećer

U ovoj fazi ostaju aktivni samo enzimi tolerantni na kiselu sredinu koji dovode do spore hidrolize strukturnih i rezervnih ugljikohidrata čime se omogućuje stalna opskrba biljne mase ugljikohidratima topivima u vodi, te se tako kompenzira njihovo smanjenje ako je period punjenja silosa bio prolongiran. Nekoliko vrsta gljivica visoko tolerantnih na kiselu sredinu tijekom tog perioda ostane u neaktivnom stanju, zajedno s bacilima i klostridijama, te prijeđu u oblik endospora.

5. **izuzimanje silaže i hranidba** – prozračivanje silaže

Kisik prodire u silažu u dubinu od oko 1 metar od površine i potiče rast i razvoj nepoželjnih mikroorganizama (aerobnih mo.) koji dovode do sekundarne fermentacije koja može bitno povisiti temperaturu, povećati naknadne gubitke suhe tvari, te dovesti do zdravstvenih problema životinja.

3.7. Silirano zrno kukuruza

Siliranjem se mijenja sastav i probavljivost zrna kukuruza. Mikroorganizmi svojim djelovanjem razaraju strukturu škroba, uzrokuju otapanje i razgradnju zeina, te se udio zeina i škroba smanjuje. Međutim, povisuje se probavljivost škroba i postiže viša energetska vrijednost. Škrob postaje dostupniji bakterijama čime je i probavljiviji. Mliječno-kisele bakterije stvaraju poželjnu mliječnu kiselinu, koja povećava kiselost (pad pH) te otapa zein koji smanjuje probavljivost škroba (Grbeša, 2016.). Prednost siliranja visokovlažnog zrna žitarica su smanjeni gubici i veća fleksibilnost tijekom žetve (Pieper i sur., 2011.). Za pripremu kvalitetne silaže neophodni su anaerobni uvjeti pri kojima će kiselost silaže porasti i time onemogućiti razvoj plijesni čiji toksini mogu dovesti do intoksikacija životinja i pojava zdravstvenih problema (tetanija).

Kod siliranja nerijetko je prisutna i upotreba aditiva (dodaci) kako bi se poboljšala kvaliteta silaže. Aditivi kod siliranja su inokulanti ili organske kiseline. Korištenje mliječno-kiselinskih inokulanata koji proizvode velike količine mliječne kiseline je široko prihvaćeno u većini zemalja EU gdje je promet takvih preparata pod strogim nadzorom (Vranić, 2012.). U zemljama Sjeverne Europe u trenutku skidanja usjeva vrijeme je vlažno i hladno, fermentacija silažne mase teče sporije, te je veća mogućnost pojave kvarenja takve mase zbog presporog pada pH vrijednosti. Stoga, u tim zemljama za siliranje se često koriste mješavine organskih kiselina (mliječna, octena, propionska kiselina). U istraživanju Hoffman i sur. (2011.), vrijeme siliranja i dodatak inokulanta su smanjili pH vrijednost i povećali sadržaj laktata (mliječne kiseline) i acetata (octene kiseline) u visokovlažnom zrnu kukuruza (VVZ). Također, silaža stara 240 dana u odnosu na svježu masu imala je niži sadržaj zeina. Inokulacija koja je doprinijela većoj koncentraciji laktata i acetata u VVZ nije utjecala na degradaciju hidrofobnih zeinskih proteina VVZ, a tu degradaciju najbolje objašnjava proteolitička aktivnost enzima bakterija (Hoffman i sur., 2011.).

Na biljkama se prirodno nalazi izuzetno velika količina mikroorganizama (bakterija, gljivica, pljesni) koji su odgovorni za spontanu fermentaciju silažne mase. Njihovim djelovanjem fermentacija nerijetko krene krivim putem, te dolazi do trošenja velike količine hranjivih tvari i stvaranja nepoželjnih tvari koje negativno djeluju na konzumaciju i zdravlje životinje. Kako bi se to izbjeglo, potrebno je koristiti korisne bakterije koje će ubrzati početak fermentacije, preduhitriti i zaustaviti razmnožavanje štetnih bakterija, u najmanjoj mjeri iskoristiti hranjive tvari i proizvesti one kiseline koje će konzervirati silažu i povoljno djelovati na ješnost (Fanon, 2018.). Kako bi se iskoristile sve prednosti siliranja, uz korištenje inokulanta, potrebno je pridržavati se pravila za spremanje dobre silaže tijekom svih faza pripreme – od brzog punjenja silosa, odgovarajućeg zbijanja, prekrivanja silaže (najbolje s dvije plastične folije) do odgovarajućeg izuzimanja silaže (što više smanjiti aeraciju silosa).

3.7.1. VVZ – visokovlažno zrno kukuruza

Visokovlažno zrno kukuruza se sa 30 – 35% vlage tijekom branja silira ili na neki drugi način konzervira (dodavanjem ugljikova dioksida, kiselina). Vlažno zrno je probavljivije te njegova suha tvar ima najmanje 5% više energije za preživače i svinje od suhe tvari osušenog zrna kukuruza (Grbeša, 2016.). Poljoprivreda.info (2010.) preporuča obavljanje berbe kada je vlaga zrna između 24 i 32%. Međutim, vlaga niža od 30% pri berbi u pitanje dovodi kasnije čuvanje silažne mase. Zbijanje mase pri nižoj vlazi biti će lošije, u masi će ostati zraka, te će se stvoriti uvjeti pogodni za razvoj nepoželjnih mikroorganizama kvarenja. Berba se vrši pomoću kombajna s uređajem za krunjenje, a zrno je mljeveno na veličinu čestica od 1,5 do 2 mm. Pieper i sur. (2011.) navode da je moguće uspješno siliranje žitarica pri 25% vlage uz dodatak bakterija mliječno-kiselinskog vrenja. Zbog boljeg iskorištenja škroba u VVZ manji je njegov udio u obroku u odnosu na udio suhog zrna kukuruza.

Visokovlažno zrno kukuruza koristi se u hranidbi tovne prasadi i junadi, te mliječnih krava i rasplodnih krmača. Ovisno o proizvodnji i dobi životinje, goveda u dnevnom obroku mogu dobiti od 2 do 6 kg visokovlažnog zrna kukuruza, odnosno udio VVZ u obroku može biti od 15 do 50%. Udio siliranog visokovlažnog zrna kukuruza u obroku svinja može biti i 70%, uz dodatak dopunske visokoproteinske krmne smjese (Jones i sur., 1970.). U istraživanju Jones i sur. (1970.), tova prasada tjelesne mase 25,5 kg hranjena obrokom koji sadrži 70% VVZ i 30% superkoncentrata (dopunska proteinska smjesa) s 38% proteina imala je dnevni prirast od 0,63 do 0,70 kg. Pravilno silirana, zdrava i kvalitetna silaža visokovlažnog zrna kukuruza privlačnog je mirisa i dobre ješnosti, što omogućuje njezinu upotrebu u hranidbi svinja.

3.7.2. Rehidrirano silirano zrno kukuruza

Globalno zatopljenje doprinijelo je današnjoj sve češćoj pojavi vremenskih neprilika. Uz nepovoljne agroklimatske uvjete i nedostatak mehanizacije smanjuje mogućnost berbe kukuruza u optimalnom roku. Kada je zrno ubrano poslije optimalnog roka, ono gubi vlagu i nije prikladno za siliranje. Rehidriranjem se podiže sadržaj vode na optimalnu koncentraciju za siliranje. Poznato je da svinje bolje iskorištavaju silirano od suhog zrna kukuruza zbog više probavljivosti škroba koja se javlja djelovanjem mikroorganizama u silosu. Energetska vrijednost škroba ovisi i o visini probavljivosti i o kinetici probave škroba u tankom crijevu, međutim, kinetika probave škroba rehidriranog pa siliranog zrna kukuruza nije dovoljno istraživana. Takva činjenica nije iznenađujuća budući rehidriranje i siliranje zrna nakon fiziološke zrelosti nije česta praksa jednostavno iz ekonomskih razloga.

U istraživanju Junges i sur. (2017.) zrno polutvrđunaca (eng. *Flint corn*) za siliranje rehidrirano je do 32% vlage, a autori su pokazali da je proteolizi (otapanju bjelancevina

tijekom fermentacije) najviše doprinijela aktivnost bakterija (60%), zatim enzimi zrna kukuruza (30%), dok su gljivice i krajnji produkti fermentacije (glavne kiseline – mliječna, octena; i etanol) imali tek manji doprinos (svaki ~5%).

Poznato je da je korištenje antibiotika u stočarskoj proizvodnji kroz godine uzelo maha, no danas se u svijetu oni iz iste nastoje ukloniti. Bakterije stvaraju sojeve sa sve većom rezistencijom na antibiotike što preko rezidua antibiotika u hrani za ljude značajno utječe i na humanu medicinu. Ricke (2017.) kao alternative antibioticima u hrani za životinje navodi probiotike i prebiotike koji preusmjeravaju gastrointestinalnu mikrobiotu prema mikroorganizmima antagonistima razvoja patogenih. Probiotici i prebiotici utječu na stvaranje određenih mikroorganizama u crijevima koji će posljedično napraviti mikrobnu selekciju u korist domaćinu. Probiotici su poželjne bakterije koje u gastrointestinalnom traktu proizvode produkte fermentacije kao što su kratkolančane hlapljive masne kiseline (acetat, propionat i butirat) koje mogu inhibirati stvaranje patogenih bakterija. Ricke (2017.) navodi da propionska kiselina ograničava kolonizaciju *Salmonella* u gastrointestinalnom traktu pilića. Prebiotici su obično spojevi kao što su složeni ugljikohidrati – fruktooligosaharidi, galaktooligosaharidi, derivati manana i drugi. Neprobavljivi su za domaćina, ali ih mogu iskoristiti bakterije kao što su bifidobakterije i bakterije mliječne kiseline (Ricke, 2017.). Ranije je navedeno kako rezistentni škrob također služi kao prebiotik. Stoga bi silirano rehidrirano zrno kukuruza moglo povoljno utjecati na razvoj poželjne crijevne mikrobiote koja pozitivno utječe na zdravlje i performanse životinje. Rezultati istraživanja Wang i sur. (2012.) upućuju da hranidba s probiotski fermentiranim, visokovlažnim zrnima kukuruza može modulirati crijevnu mikrofloru, te da inokulacija s *L. acidophilus* može utjecati na performanse rasta svinja.

4. Materijali i metode

4.1. Istraživani hibridi

U istraživanju je korišteno 7 hibrida kukuruza – Bc 344, Bc 418b, Bc 424, Bc 525, Bc 572, Kekec i Pajdaš. Karakteristike ovih hibrida su (Bc Institut, 2018.):

- **Bc 344**

Hibrid Bc 344 (FAO 300 – kvalitetan zuban) namijenjen je ranijoj sjetvi, ima velik, nisko nasaden klip i krupno crvenkasto zrno.

- **Bc 418b**

Hibrid Bc 418b (FAO 460 – kvalitetan zuban) ima poboljšanu kvalitetu zrna, te osim u proizvodnji zrna daje izvrsne rezultate i u proizvodnji silaže.

- **Bc 424**

Bc 424 (FAO 460 – kvalitetan zuban) je hibrid koji najbolje rezultate postiže u intenzivnoj agrotehnici, a prednost mu je tolerancija na sušu. U 2017. godini ostvario je najbolje prinose u Hrvatskoj. Klip mu je srednje velik, ujednačen i valjkast, zrno je krupno, narančasto-žute boje.

- **Bc 525**

Hibrid Bc 525 (FAO 510 – kvalitetan zuban) odlikuje visoka klijavost i energija klijanja sjemena, krupno zrno s velikim udjelom caklavog endosperma i velik klip sa 16 do 18 redova. Njegove su najveće prednosti mogućnost proizvodnje na različitim razinama agrotehnike te lagana berba i kombajniranje.

- **Bc 572**

Hibrid Bc 572 (FAO 500 – kvalitetan zuban) ima odličnu kvalitetu zrna, iz zrna brzo otpušta vodu, ima velik klip, te daje odličan prinos u grupi.

- **Kekec**

Hibrid Kekec (FAO 330 – polutvrđunac) pogodan je za rane rokove sjetve, brzo otpušta vodu i nudi visok prinos uz odličnu kvalitetu zrna. Daje vrhunske rezultate u hranidbi svinja i peradi.

- **Pajdaš**

Pajdaš (FAO 490 – kvalitetan zuban) se odlikuje velikim klipom, te krupnim, crvenim zrnom. Bc Institut (2018.) posebno ističe i njegovu tolerantnost na kukuruznog moljca.

4.2. Rehidriranje i siliranje

Kukuruz je ubran nakon fiziološke zrelosti s pet unaprijed određenih mjesta svake parcele (pet repeticija svakog hibrida). Pri tome nisu ubrani klipovi iz dva rubna reda svake parcele. Prilikom branja klipovi su okrunjeni na kombajnu.

Zrno svake repeticije svakog hibrida je zatim rehidrirano do 32% dodatkom potrebne mase destilirane vode u plastične vreće zapremnine 50 L. Plastične vreće su zatvorene i nekoliko puta dnevno okretane kako bi se zrno rehidriralo tijekom 2 dana na sobnoj temperaturi. Zrno iz svake vreće je zatim samljeveno na mlinu čekičaru (Ino Brežice d.o.o.) sa sitom veličine pora od 5 mm. Za siliranje je korišten inokulant BIO-SIL® (Slika 4). U meljavu za siliranje dodana je pripremljena otopina BIO-SIL® inokulanta s liofiliziranim kulturama *Lactobacillus plantarum* DSM 8862 i DSM 8866 (DSM – njem. Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) u koncentraciji 300 000 CFU/g svježe mase. Koncentracija korištene otopine pripremljena je prema uputama proizvođača. Nakon miješanja meljave i aplicirane otopine inokulanta, uzet je uzorak koji predstavlja 0. dan.

Zatim je oko 1 kg mase vakuumiran je u vakuum vrećice (Status, 280 × 360 mm, Status d.o.o.; Slika 5) i siliran na temperaturi 20 – 25 °C. Vakuum vrećice zatvorene su na uređaju za vakumiranje i varenje (SmartVac, Status d.o.o.). Vakumiranjem su postignuti anaerobni uvjeti. Svaka repeticija istraživanih hibrida silirana je u 2 vrećice pri čemu je svaka vrećica predstavljala određeno vrijeme siliranja i skladištenja (21. i 95.). Nakon otvaranja vrećica, sadržaj je sušen na 40 °C 24 sata kako bi se mogao pripremiti laboratorijski uzorak. Uzorci su zatim samljeveni na mlinu Cyclotec (Tecator, Švedska) na veličinu čestica ≤ 1 mm te čuvani u zamrzivaču na -20 °C do provođenja kemijskih analiza.



Slika 4. Inokulant BIO-SIL®: liofilizirane mliječno-kisele homofermentativne bakterije *Lactobacillus plantarum* DSM 8862 i *Lactobacillus plantarum* DSM 8866

Izvor: www.dr-pieper.com



Slika 5. Aplikacija otopine inokulanta sprej načinom, vaganje i vakumiranje uzoraka za siliranje

Izvor: Kljak, K. – prilagođena slika

4.3. Kemijske metode analize

Kako bi se izračunali kinetički parametri probavljivosti škroba istraživanih hibrida, u svim je uzorcima određen sadržaj škroba i šećera te vlage.

4.3.1. Određivanje vlage

Vlagu određuje gubitak mase uzorka nakon sušenja na povišenoj temperaturi (103 ± 2 °C) u određenom vremenskom razdoblju do konstantne mase. Za određivanje vlage u posudicu za sušenje izvagano je oko 3 g uzorka. Nakon 4 sata sušenja u sušioniku Memmert (UFE 400, Njemačka), posudice s uzorkom ohlađene su u eksikatoru, te izvagane. Maseni udio vlage (%) izračunat je na temelju mase uzorka i mase vlage, a koje su rezultat razlika masa posudica prije i nakon sušenja. Određivanje vlage u uzorcima izvedeno je prema HRN ISO 6496:2001 normi (Državni zavod za normizaciju i mjeriteljstvo, 2001.).

4.3.2. Određivanje škroba

Sadržaj škroba određen je enzimskom metodom (Megazyme, Irska – Total starch assay, amyloglucosidase/ α -amylase method, K-TSTA) pri čemu se škrob djelovanjem enzima α -amilaze prevodi do dekstrina, a zatim djelovanjem amiloglukozidaze do glukoze koja se detektira spektrofotometrijski. Za određivanje škroba izvagano je 0,1 g uzorka u staklenu epruvetu od 15 mL pri čemu je u jednu od epruveta izvagano i 0,1 g standarda škroba, dodano 0,2 mL 80%-tnog etanola, a smjesa je vorteksirana. Zatim je u smjesu dodano 3 mL otopine

termostabilne α -amilaze u natrij acetatnom puferu, a sadržaj epruvete je dobro promiješan vorteksiranjem. Epruvete su inkubirane 6 minuta u kupelji s vodom pri vrenju, te vorteksirane nakon 2 i 4 minute. U epruvete je dodano 0,1 mL amiloglukozidaze, smjesa je vorteksirana i 30 minuta inkubirana u vodenoj kupelji na 50 °C. Volumen epruveta kvantitativno je prenesen u odmjerne tikvice od 100 mL, a alikvot otopine je centrifugiran 10 minuta na 3000 rpm (Centric 322A, Tehnica, Slovenija). U staklene kušalice u duplikatu je odpipetiran alikvot od 0,1 mL otopine uzorka, 0,1 mL destilirane vode za blank (slijepu probu), te 0,1 mL standarda glukoze u triplikatu. U sve kušalice je zatim otpipetirano 3 mL selektivnog GOPOD reagensa, smjesa je vorteksirana i inkubirana u kupelji 20 minuta na 50 °C. Nakon hlađenja kušalice, izmjerena je apsorbancija pri 510 nm na UV/VIS apsorpcijskom spektrofotometru (Helios γ , Thermo Electron Corporation, UK), a na temelju dobivenih vrijednosti apsorbancija izračunat je maseni udio (%) škroba u uzorku.

4.3.3. Određivanje šećera

Za određivanje šećera u ovom istraživanju korištena je Nelson-Somogyijeva metoda (Somogyi, 1945.). Šećeri se u uzorku određuju kao reducirajući šećeri koji zbog svoje strukture imaju sposobnost redukcije drugih spojeva. Za analizu je u odmjernu tikvicu od 250 mL izvagano oko 1,5 g uzorka i dodano oko 50 mL destilirane vode. Tikvice sa smjesom mućkane su na tresilici 30 minuta. Zatim je u tikvice dodano 2 mL Carrez (I) i 2 mL Carrez (II) otopine, smjesa je promiješana, a volumen nadopunjen destiliranom vodom do oznake. Sadržaj tikvica je profiltriran, te je uzet alikvot od 25 mL filtrata u odmjernu tikvicu od 50 mL. U odmjerku je dodano 15 mL 7,2%-tne otopine kloridne kiseline (HCl) nakon čega je smjesa inkubirana 5 minuta u vodenoj kupelji na 65 – 70 °C. Nakon što je odmjerena tikvica sa sadržajem brzo ohlađena, dodan je fenoltalein (indikator), a sadržaj tikvice neutraliziran je 28%-tnom otopinom natrijeve lužine (NaOH). Tikvica je nadopunjena destiliranom vodom do oznake, sadržaj dobro promiješan i profiltriran. U epruvete s čepom u duplikatu je odpipetiran alikvot od 0,5 mL otopine s uzorkom kojem je dodano 0,5 mL destilirane vode, zatim 1 mL destilirane vode za slijepu probu, te 0,5 mL standarda glukoze kojem je dodano 0,5 mL destilirane vode u triplikatu. Nadalje, u sve epruvete dodan je 1 mL bakrene otopine, a začepljene epruvete inkubirane su 10 minuta u vodenoj kupelji. Za pripremu bakrene otopine 28 g dinatrij-hidrogenfosfata (Na_2HPO_4) i 40 g kalij-natrij-tartarata ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \times 4\text{H}_2\text{O}$) je otopljeno u 700 mL destilirane vode. Nakon brzog hlađenja epruveta dodan je 1 mL arsenomolibdatne otopine, te je omogućeno 5 minuta za razvijanje boje. Za pripremu arsenomolibdatne otopine 25 g amonijmolibdata-tetrahidrata $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}]$ je otopljeno u 450 mL destilirane vode, a otopini je zatim dodan 21 mL koncentrirane sulfatne kiseline (H_2SO_4) i 3 g $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ otopljenog u 25 mL vode; otopina je zatim inkubirana u tamnoj boci 24 sata na 37 °C. Nakon razvoja boje, u smjesi je dodano po 15 mL destilirane vode, sadržaj epruveta je promiješan, te je izmjerena apsorbancija pri 540 nm na UV/VIS apsorpcijskom spektrofotometru. Maseni udio (%) ukupnih šećera u uzorku izračunat je na temelju dobivenih vrijednosti apsorbancija.

4.4. Kinetika probavljivosti

Za određivanje kinetike probavljivosti škroba korištena je *in vitro* metoda provedena u kontroliranim uvjetima u dva koraka koji oponašaju probavu u želucu i tankom crijevu svinja.

4.4.1. Određivanje *in vitro* probavljivosti škroba

Za određivanje *in vitro* ilealne probavljivosti škroba korištena je metoda koju u svome istraživanju opisuju Giuberti i sur. (2012.). Za inkubaciju uzoraka korištena je vodena kupelj Memmert (WB 22, Njemačka) prikazana na Slici 7. U kupelji se istovremeno u Erlenmeyerovim tikvicama od 100 mL inkubiralo 12 uzoraka te slijepa proba u plastičnoj Falcon epruveti od 50 mL. Određivanje *in vitro* ilealne probavljivosti za sve uzorke provedeno je u duplikatu. U svaku tikvicu je izvagano 0,75 g uzorka (Slika 6) i dodano 10 staklenih kuglica za lakše miješanje, dok su u plastičnu epruvetu za slijepu probu dodane samo kuglice. U tikvice je zatim dodano 5 mL pripremljene otopine 0,05 M HCl koja sadrži 5 mg/mL pepsina i 0,5 mL kloramfenikola, kako bi se spriječio rast gljivica i nepoželjnih mikroorganizama. Tikvice su začepljene pripadajućim šlifanim čepovima i stavljene u vodenu kupelj na inkubaciju 30 minuta na 37 °C uz kontinuirano miješanje.



Slika 6. Vaganje uzorka za analizu. **7.** Inkubacija uzoraka u vodenoj kupelji pri 37°C prilikom određivanja probavljivosti

Izvor: Novaković, K. – vlastiti izvor

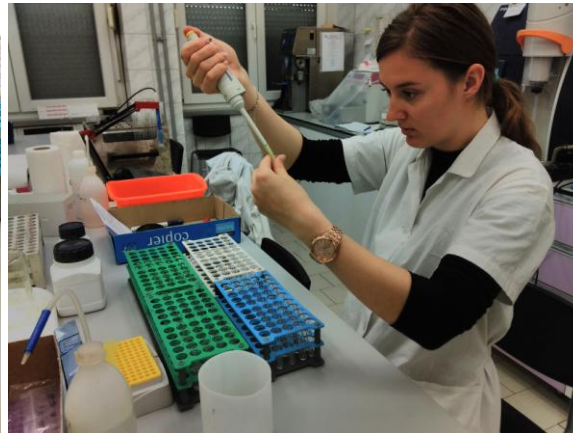
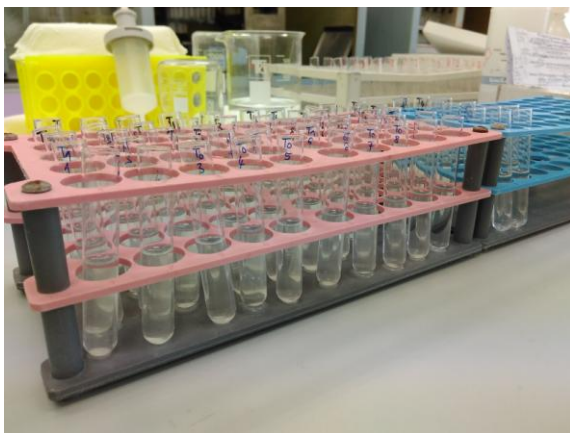
Nakon pola sata inkubacije u svaku tikvicu i u epruvetu sa slijepom probom je dodano 50 mg guar gume (Slika 8) i 20 mL acetatnog pufera pH 5,2. Provjerena je pH vrijednost sadržaja u tikvicama, te po potrebi namještena na 5,2 dodatkom 0,1 M otopine natrijeve lužine

(NaOH). Nakon što je trešnjom cijelog stalka sve dobro promiješano, u razmacima od 20 sekundi dodano je po 5 mL pripremljene otopine smjese enzima u svaku tikvicu/epruvetu. Za pripremu otopine smjese enzima, u 4 Falcon epruvete izvagano je po 2,28 g pankreatina, te je u svaku dodano po 18 mL destilirane vode, a sadržaj epruveta miješan je 10 minuta na magnetskoj miješalici. Nakon miješanja, epruvete su centrifugirane 10 minuta na 3500 rpm, a potom je u čašu iz svake epruvete otpipetirano 13,5 mL otopine pankreatina, te dodano 2,93 mL amiloglukozidaze (AMG aktivnosti A300) i 10,07 mL destilirane vode. Otopina smjese enzima dobro je promiješana na magnetskoj miješalici prije dodavanja. Smjesa uzorka kukuruza, enzima i pufera inkubirana je na 37 °C, a alikvot smjese od 100 µL uzorkovan je nakon 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4 i 5 sati od početka inkubacije u istim vremenskim intervalima i istim redoslijedom kako je dodavana otopina smjese enzima. Alikvoti su otpipetirani u staklene kušalice na stalku uronjenom u ohlađenu vodu (Slika 9) kako bi se prekinulo djelovanje enzima u razgradnji škroba, a do određivanja glukoze kušalice su začepljene čuvane u zamrzivaču.

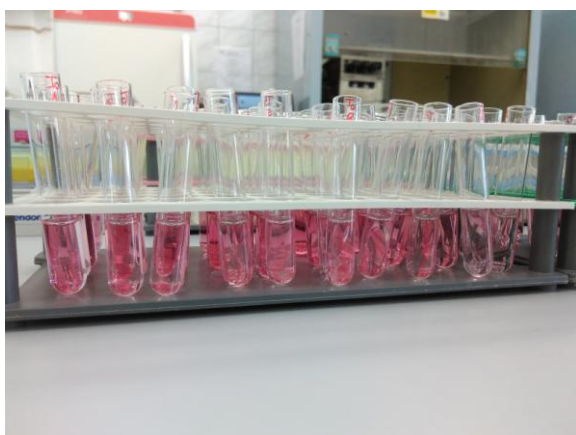


Slika 8. Vaganje guar gume. **9.** Kušalice s alikvotima na stalku uronjenom u ohlađenu vodu
Izvor: Novaković, K. – vlastiti izvor

U alikvotima je spektrofotometrijski određen sadržaj otpuštene glukoze metodom glukoza-oksidadze (Megazyme, Irska – D-glucose assay (GOPOD format), K–GLUC). Kako bi se priredilo razrjeđenje za detekciju glukoze u kušalice s alikvotima dodano je 3 mL destilirane vode, a smjesa vorteksirana (Slika 10). Za detekciju glukoze uzeti su sljedeći alikvoti: 70 µL iz pripremljenog razrjeđenja (Slika 11), 70 µL standarda glukoze i 70 µL destilirane vode za slijepu probu. Alikvotima u novim kušalicama dodano je 2 mL GOPOD reagensa, te je smjesa vorteksirana (Slika 12). Kušalice su inkubirane 20 minuta u kupelji na 50 °C. Nakon hlađenja epruveta, smjesa je promiješana vorteksiranjem (Slika 13) i izmjerena je apsorbancija pri 510 nm na UV/VIS apsorpcijskom spektrofotometru.



Slika 10. Priređena razrjeđenja alikvota. **11.** Odpipetiravanje alikvota pripremljenih razrjeđenja za detekciju glukoze
Izvor: Novaković, K. – vlastiti izvor



Slika 12. Kušalice za detekciju glukoze prije inkubacije. **Slika 13.** Kušalice za detekciju glukoze nakon inkubacije (sadrže GODOD reagens)
Izvor: Novaković, K. – vlastiti izvor

4.4.2. Određivanje probavljivosti suhe tvari

Reakcija razgradnje suhe tvari u tikvicama zaustavljena je dodatkom otopine DMSF nakon 5 sati inkubacije. Sav volumen tikvica profiltriran je kroz ranije izvagani prosušeni filter papir. Nakon što je sadržaj tikvica kvantitativno prenesen i kada su maknute staklene kuglice, filter papiri su dva puta isprani destiliranom vodom, zatim etanolom i na posljetku acetonom. Filter papiri su nakon zadnjeg ispiranja prosušeni u sušioniku, te nakon hlađenja u eksikatoru izvagani. Na temelju razlika masa uzorka prije i nakon inkubacije izračunata je masa probavljene suhe tvari koja je potrebna za kasniji izračun ilealne probavljivosti suhe tvari.

Probavljivost suhe tvari (%) izračunata je prema sljedećim formulama:

$$m_{\text{neprobavljeno}} = m_{\text{filtrar papira nakon filtracije i sušenja}} - m_{\text{prazni prosušeni filtrar papir}}$$

Masa suhe tvari uzorka (m_{ST}) je suha tvar mase podvrgnute je *in vitro* metodi probavljivosti.

$$P_{ST} = [(1 - m_{\text{neprobavljeno}}) / m_{ST}] \times 100$$

4.4.3. Određivanje brzine probavljivosti škroba

Na temelju izmjerenih vrijednosti apsorbancija alikvota uzorkovanih u određenim vremenima, te sadržaja škroba i šećera u uzorku, izračunati su koeficijenti probavljivosti.

Koeficijent probavljivosti škroba za određeno vrijeme t (DC_t – eng. *Digestion Coefficient*) izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$DC_t = [(G_t - FG) \times 0,9] / TS$$

u kojoj G_t predstavlja količinu glukoze u vremenu t (15, 30, 45, 60, 120, 180, 240 i 300 minuta), FG (eng. *Free Glucose*) sadržaj slobodne glukoze, odnosno ukupnih šećera u uzorku, a TS (eng. *Total Starch*) sadržaj ukupnog škroba u uzorku.

Brzina probavljivosti škroba izračunata je prema kinetici prvog reda na temelju koeficijenata probavljivosti. Jednadžba kinetike prvog reda korištena za izračun *in vitro* probavljivosti škroba prikazana je u nastavku:

$$DC_t = S + D \times (1 - e^{-k_d \cdot t}), \text{ pri čemu je } D \leq 100,$$

a gdje DC_t predstavlja količinu škroba probavljenog u vremenu t , S predstavlja topljivu frakciju, a D predstavlja količinu potencijalno probavljenog škroba koji će se probaviti pri brzini k_d (h).

Za obradu podataka nelinearne krivulje korištena je NLIN procedura statističkog alata SAS (Statistical Analysis System 9.3, 2011.). Pri tome je korištena Marquardtova metoda

(procedura iterativne prilagodbe krivulji) za najmanju sumu kvadrata ostatka povezanu s regresijskim modelom (Weurding, 2002.). Statističkom procedurom NLIN, određeni su parametri nelinearne krivulje razgradnje škroba koja prati kinetiku prvog reda – potencijalna probavljivost škroba i brzina *in vitro* probavljivosti škroba.

4.5. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka provedena je pomoću statističkog paketa SAS 9.3 (Statistical Analysis System, 2011.). Pokus je bio postavljen prema nasumičnom blok rasporedu s pet repeticija. Rezultati istraživanja su obrađeni kao ponovljena mjerenja s fiksnim utjecajem hibrida, vremena siliranja i njihove interakcije korištenjem MIXED procedure sa SP(POW) kao strukturom kovarijance za vremenske intervale. Srednje vrijednosti i standardne greške su određene korištenjem LSMEANS naredbe dok su razlike srednjih vrijednosti određene korištenjem PDIFF naredbe. Statistička signifikantnost bila je postignuta ako je $P \leq 0,05$.

5. Rezultati i rasprava

5.1. Sadržaj vlage, škroba i šećera

Optimalan sadržaj vlage u silaži visokovlažnog zrna kukuruza je 30%. Ukoliko silažna masa sadrži premalo vlage teže će se zbijati i istjerivati zrak iz nje, te će joj biti potrebno više vremena za siliranje čime je veća mogućnost pojave kvarenja. Obrnuto, masa s previše vlage proizvodi puno silažnog soka kojim se gube šećeri potrebni za fermentaciju. Sadržaj vlage istraživanih hibrida 0., 21. i 95. dan siliranja prikazan je u Grafikonu 1.

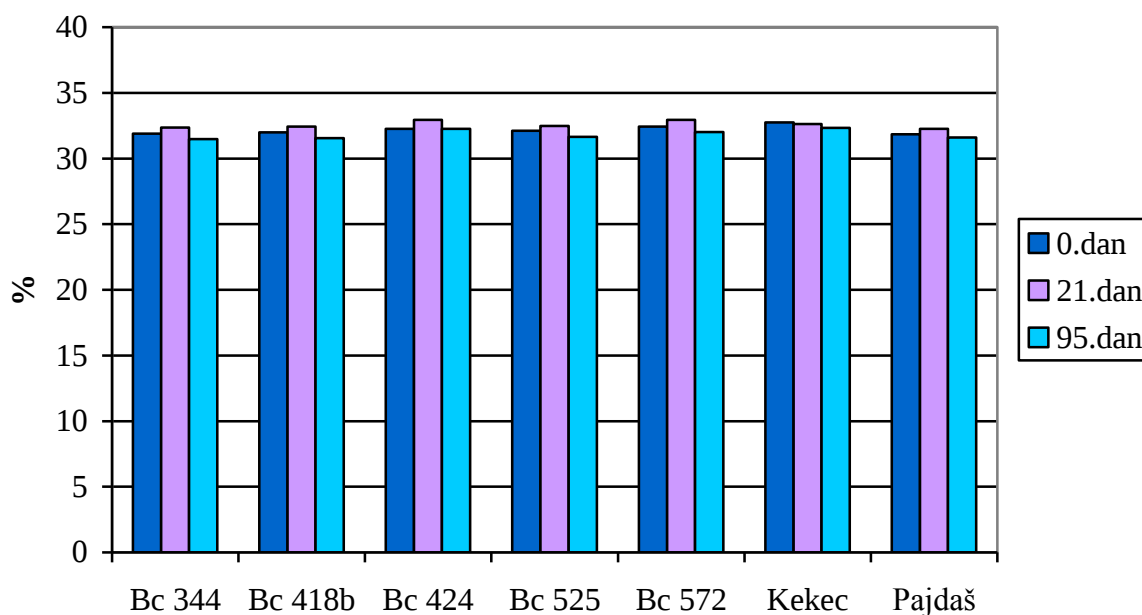
Prosječni sadržaj vlage svih hibrida za 0. dan siliranja iznosio je 32,18%, za 21. dan 32,58%, a za 95. dan 31,84%. S obzirom da je zrno istraživanih hibrida rehidrirano, utjecaj hibrida na sadržaj vlage nije očekivan kako je i utvrđeno (Tablica 1). Međutim, vrijeme siliranja je utjecalo na udio vlage u uzorcima ($P < 0,05$) – udio vlage 21. dana siliranja prosječno je viši od onog 95. dana. Navedeno smanjenje vlažnosti silaža najvjerojatnije je pokazatelj mikrobne aktivnosti tijekom produženog vremena siliranja. U Prilogu 1 prikazane su sve brojčane vrijednosti sadržaja vlage 0., 21. i 95. dana siliranja analiziranih uzoraka.

Tablica 1. Rezultati statističke analize varijance za sadržaj vlage, škroba i šećera u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

	Hibrid (H)			Vrijeme siliranja (V)			H × V		
	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F
Vlaga	6	1,00	NS	2	3,67	*	12	0,09	NS
Škrob	6	60,01	***	2	36,19	***	12	5,39	***
Šećer	6	13,90	***	2	864,48	***	12	10,35	***

Značajno za navedenu P vrijednost: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; NS = nije signifikantno ($P \geq 0,05$)

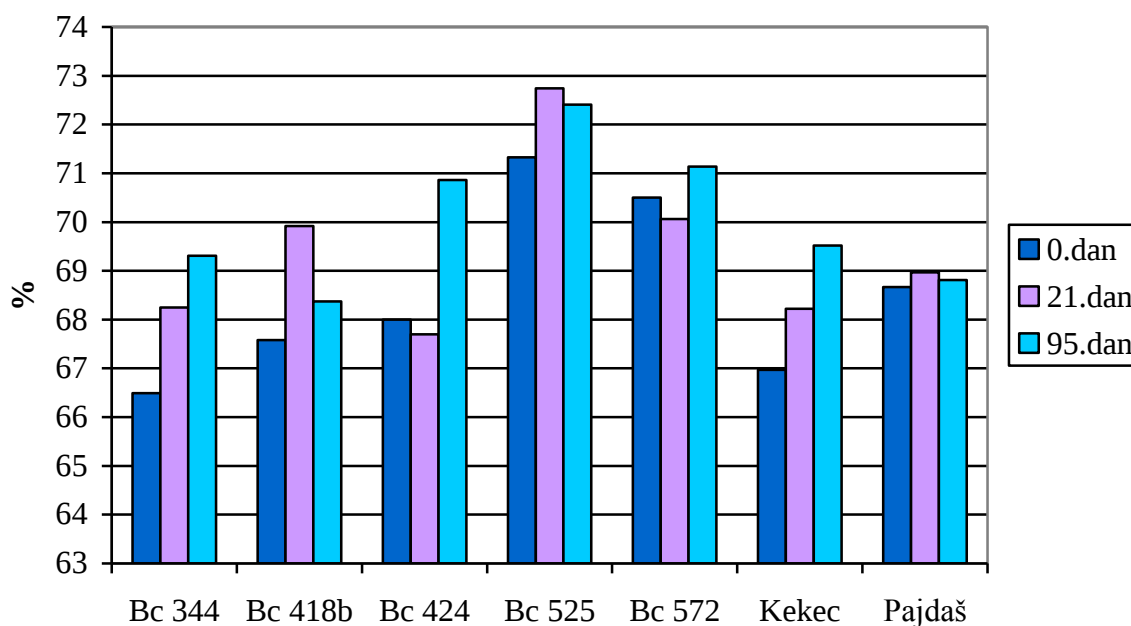
Grafikon 1. Sadržaj vlage (%) u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja



Sadržaj škroba u uzorcima silaža istraživanih hibrida uzorkovanih 0., 21. i 95. dan siliranja prikazan je u Grafikonu 2 dok Prilog 2 sadrži sve brojčane vrijednosti sadržaja škroba svih uzoraka. Prosječni sadržaj škroba svih hibrida početne mase za siliranje iznosio je 68,50%, za 21. dan siliranja 69,27%, te za 95. dan siliranja 70,06% ST što je u skladu s utvrđenim utjecajem vremena siliranja (Tablica 1; $P < 0,001$), a pri čemu su se razlikovala sva vremena siliranja. Blagi porast sadržaja škroba najvjerojatnije je rezultat djelovanja proteolitičke aktivnosti enzima bakterija pri čemu je opadao sadržaj proteina, što je u skladu s rezultatima rada Junges i sur. (2017.). Prema navedenim autorima, proteolizi je najviše doprinijela aktivnost bakterija (60%), zatim enzimi zrna kukuruza (30%), dok su gljivice i krajnji produkti fermentacije (glavne kiseline – mliječna, octena; i etanol) imali tek manji doprinos (svaki ~5%).

Istraživani hibridi su se razlikovali u sadržaju škroba (Tablica 1; $P < 0,001$). Među hibridima se posebno ističu hibridi Bc 525 (72,16% ST) i Bc 572 (70,57% ST) čija silaža zrna ima prosječno najviši sadržaj škroba. S obzirom na prosječne vrijednosti sadržaja škroba sva tri vremena siliranja najmanje škroba sadrži hibrid Bc 344 s 68,02% ST. Iako je s vremenom siliranja polako rastao sadržaj škroba kod većine hibrida, ovaj trend nije zabilježen kod hibrida Bc 418b i Bc 525 gdje 95. dana dolazi do opadanja sadržaja škroba, a u skladu je s utvrđenom interakcijom hibrid×vrijeme siliranja (Tablica 1). Pad sadržaja škroba u navedenim uzorcima nije brojčano visok, ali upućuje da u tim uzorcima došlo do amilolitičke aktivnosti prisutnih mikroorganizama.

Grafikon 2. Sadržaj škroba (% ST) u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

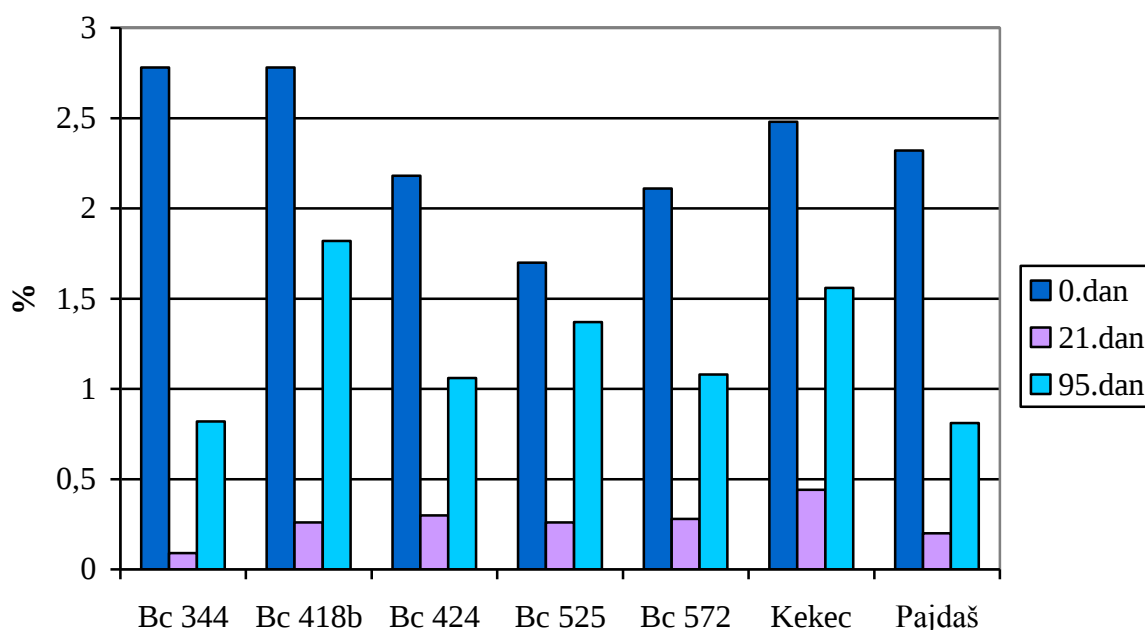


Svježa masa za siliranje istraživanih hibrida sadržavala je škrob usporediv s drugim istraživanjima. Hibrid Pajdaš imao je gotovo identičan sadržaj kao i uzorak u istraživanju Jurkas (2014.; 68,67 u usporedbi sa 68,88%) dok je Bc 572 imao sličan sadržaj vrijednosti koju navodi Grbeša (2016.; 71,09 u usporedbi sa 70,50%). Nadalje, prema rezultatima istraživanja Obućina (2017.), a s obzirom na sadržaj škroba visokovlažnog zrna različitih tipova kukuruza, najviše škroba imao je zuban (73,57% ST), zatim polutvrdunac (66,37% ST) pa kokičar (64,11% ST). U ovome istraživanju korišteni su kvalitetni zubani i polutvrdunac, te su dobiveni rezultati u skladu s navedenim vrijednostima u istraživanju Obućine (2017.). Sadržaj škroba u visokovlažnom znu kukuruza konzerviranom organskim kiselinama u istraživanju Xu i sur. (2016.) iznosio je 65% ST dok su u istraživanju Giuberti i sur. (2012.) uzorci suhog visokoamiloznog zrna kukuruza sadržavali 70,3% škroba, a uzorci visokovlažnog zrna kukuruza 66,7% škroba. U odnosu na ovo istraživanje, navedeni udio škroba u uzorcima visokovlažnog zrna kukuruza nešto je niži, što može biti rezultat različitih hibrida korištenih za pripremu silaža.

Sadržaj šećera u siliranom rehidriranom zrnju različitih hibrida kukuruza tijekom različitih razdoblja siliranja prikazan je u Grafikonu 3 a u Prilog 2 prikazane su sve brojčane vrijednosti. Rezultati statističke analize pokazali su značajan utjecaj hibrida, vremena siliranja, te njihove interakcije ($P < 0,001$), na udio šećera u uzorcima siliranog rehidriranog zrna kukuruza (Tablica 1). Prosječni sadržaj šećera svih hibrida za 0. dan siliranja iznosio je 2,34%, za 21. dan 0,26%, a za 95. dan 1,22% ST. Tijekom siliranja bakterije najviše koriste vodotopljive šećere kao izvor energije, stoga je pad sadržaja šećera između 0. i 21. dana siliranja očekivan. Ponovni porast sadržaja šećera u silazama siliranim 95 dana ukazuje na hidrolizu škroba uzrokovanu mikrobnom aktivnošću što potvrđuje pad sadržaja škroba. Međutim, rast sadržaja škroba u silazama nije istog obujma za sve istraživane hibride što je u skladu s utvrđenom interakcijom hibrid×vrijeme siliranja. Najviši rast su imale silaze hibrida Bc 418b i Kekec (1,82 i 1,56%), a najniži hibridi Bc 344 i Pajdaš (0,82 i 0,81%).

Istraživani hibridi razlikovali su se u sadržaju šećera ($P < 0,001$). S obzirom na prosječne vrijednosti sadržaja šećera sva tri razdoblja siliranja, najmanje šećera sadržavao je hibrid Bc 525 u iznosu od 1,11% ST. Kao hibridi s najvećim udjelom šećera ističu se hibrid Bc 418b (1,62% ST) i hibrid Kekec (1,49% ST).

Grafikon 3. Sadržaj šećera (% ST) u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja



Grbeša (2016.) navodi da suho zrno hibrida Kekec (2,7% šećera) ima viši sadržaj šećera od prosjeka zrna Bc hibrida koji iznosi $1,5 \pm 0,5\%$ u 88% ST. Hibrid Kekec je u ovome istraživanju 0. dana siliranja imao 0,22 % niži sadržaj šećera (2,48%) od onoga koji u svome

radu navodi Grbeša (2016.). U istraživanju Jurkas (2014.) sadržaj šećera u uzorcima suhog zrna hibrida Bc 572 iznosio je 2,09%, a hibrida Pajdaš 3,14%, a što je slično rezultatima svježe mase za siliranje u ovome istraživanju. U istraživanju Giuberti i sur. (2012.) zrno visokoamiloznog kukuruza sadržavalo je 1,3% ST šećera, a uzorci visokovlažnog zrna kukuruza 0,4% ST šećera. Navedeni udio šećera u uzorcima visokovlažnog zrna kukuruza sličan je rezultatima dobivenim u ovome istraživanju za 21. dan uzorkovanja silaže. Prema Vranić (2012.), za optimalno siliranje visokovlažnog zrna kukuruza svježa masa treba sadržavati od 1 do 4% vodotopivih šećera. S obzirom na tu činjenicu, rehidrirano zrno različitih hibrida kukuruza pripremljeno za siliranje u ovom istraživanju sadržavalo je optimalnu koncentraciju šećera za siliranje i za postizanje dovoljne količine mliječne kiseline koja će silažu konzervirati.

5.2. Probavljivost suhe tvari

U odnosu na suho zrno, silirano zrno kukuruza je probavljivije i njegova suha tvar sadrži najmanje 5% više energije za preživače i svinje (Grbeša, 2016.). Rezultati statističke analize pokazali su značajan utjecaj hibrida, vremena siliranja, te njihove interakcije ($P < 0,001$) na probavljivost suhe tvari silaža istraživanih hibrida (Tablica 2). U Grafikonu 4 prikazana je probavljivost suhe tvari rehidriranog siliranog zrna različitih hibrida kukuruza tijekom različitih razdoblja siliranja, a u Prilogu 4 prikazane su sve brojčane vrijednosti. Silaže zrna istraživanih hibrida razlikovale su se u probavljivosti suhe tvari ($P < 0,001$).

Tablica 2. Rezultati statističke analize varijance probavljivosti suhe tvari u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

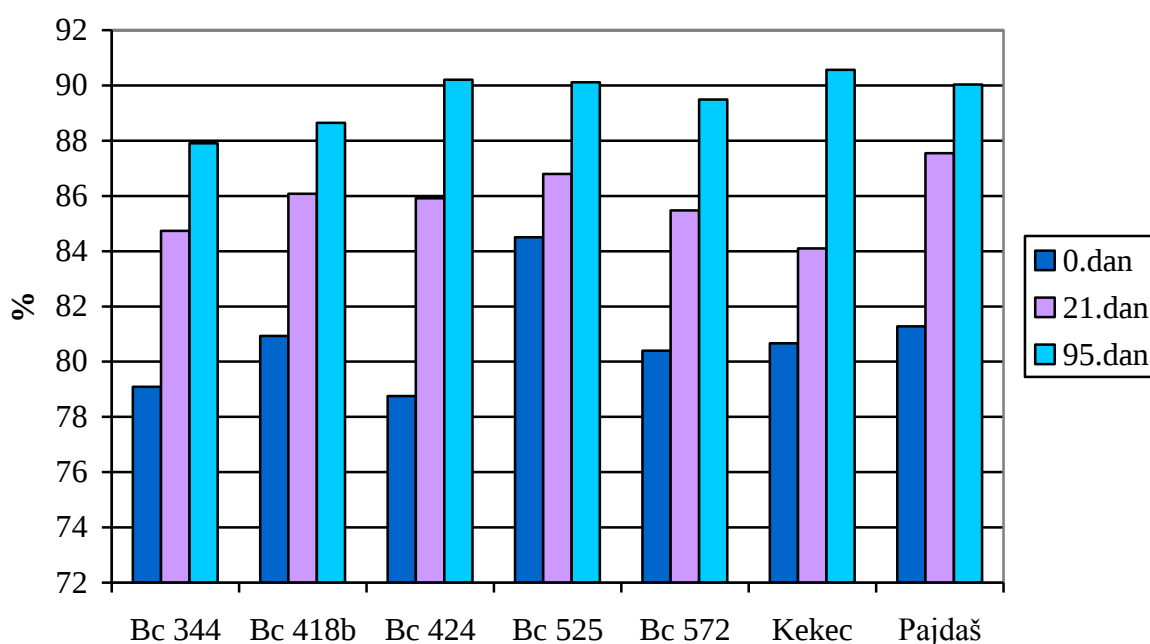
	Hibrid (H)			Vrijeme siliranja (V)			H × V		
	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F
Probavljivost suhe tvari	6	10,97	***	2	461,35	***	12	4,50	***

Značajno za navedenu P vrijednost: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; NS = nije signifikantno ($P \geq 0,05$)

Prosječna probavljivost suhe tvari silaža svih istraživanih hibrida 0. dana iznosila je 80,81%, 21. dana 85,81%, a 95. dana 89,57%. Rezultati ovoga istraživanja ukazuju da se s produžetkom vremena siliranja povećava i probavljivost suhe tvari siliranog rehidriranog zrna kukuruza. Povećanje probavljivosti suhe tvari s vremenom siliranja upućuje na povećanje broja bakterija mliječne kiseline čijom aktivnošću se povećava dostupnost hranjivih tvari, a u skladu s radom Junges i sur. (2017.) na isto utječu i enzimi zrna kukuruza (protease epifitnih bakterija), dok samo manji utjecaj imaju gljivice (kvasci i plijesni), te krajnji produkti fermentacije (uglavnom kiseline). Međutim, probavljivost suhe tvari s vremenom siliranja nije

rasla jednako kod svih istraživanih hibrida što je u skladu s utvrđenom interakcijom hibrid×vrijeme siliranja (Tablica 2). Najveće razlike su kod hibrida Bc 424 i Bc 525: unatoč najnižoj probavljivosti suhe tvari svježe mase siliranja između istraživanih hibrida, Bc 424 je imao najveći rast (od 78,76 do 85,91%) dok je Bc 525 s najvišom vrijednošću imao najviši (od 84,51 do 90,12%). Ove razlike između probavljivosti suhe tvari svježe mase za siliranje i siliranog zrna između istraživanih hibrida upućuju na razlike u strukturi zrna pri čemu mikroba aktivnost prilikom siliranja može značajno utjecati na dostupnost hranjivih tvari probavnim enzimima.

Grafikon 4. Probavljivost suhe tvari (%) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja



S obzirom na prosječne vrijednosti sva tri razdoblja siliranja posebno se ističu hibridi Bc 525 i Pajdaš s najvišim vrijednostima (87,14 i 86,29%) te hibrid Bc 344 s najnižom vrijednosti probavljivosti suhe tvari (83,91%). Probavljivost suhe tvari visokovlažnog zrna zubana i polutvrđunaca u istraživanju Obućina (2017.) iznosila je 83,87 i 89,37%, a što je u rasponima vrijednosti dobivenih u ovome istraživanju. U istraživanju Jurkas (2014.) probavljivost suhe tvari suhog zrna kukuruza kretala se od 86,30 do 87,26%. Niže vrijednosti dobivene 0. dana siliranja u ovome istraživanju upućuju na razlike istraživanih hibrida kukuruza. U radu Tadić (2018.), probavljivost suhe tvari u uzorcima silaže VVZ kretala se od 88,55 do 91,06% što je slično vrijednostima u ovome istraživanju.

5.3. Kinetika *in vitro* probavljivosti škroba

Kinetika probavljivosti škroba siliranog rehidriranog zrna kukuruza određena je *in vitro* metodom koja oponaša sustav probave u želucu i tankom crijevu svinja. Stupanj razgradnje škroba pratio se tijekom 5 sati probave putem produkata razgradnje (molekula glukoze). Važnost kinetike probavljivosti škroba je u tome što ona određuje mjesto probave škroba, odnosno apsorpcije glukoze, a što utječe na njegovo krajnje iskorištenje. Glukoza se apsorbira u tankom crijevu, dok neprobavljeni dio škroba biva podvrgnut fermentaciji u debelom crijevu. Osim što je važno da se što više škroba probavi u tankom crijevu, važno je i koliko ga se probavi u pojedinim dijelovima tankog crijeva. Poželjna je sporija i ujednačenija hidroliza škroba koja osigurava ravnomjerniju razinu glukoze u krvi čime organizam dobiva više energije, te se na taj način energija i štedi, odnosno veće je iskorištenje i aminokiselina proteina i energije u metabolizmu životinje.

Statističkom analizom utvrđen je značajan utjecaj hibrida, vremena siliranja, te njihove interakcije, na koeficijente probavljivosti škroba dobivene nakon 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4 i 5 sat inkubacije ($P < 0,05$) (Tablica 3). Svi dobiveni rezultati analize varijance koeficijenata probavljivosti škroba nalaze se u Tablici 3. Silaže zrna istraživanih hibrida, nakon 3, 4 i 5 sati inkubacije razlikovale su se u koeficijentima probavljivosti škroba pri $P < 0,05$. Nakon 5 sati inkubacije nije utvrđen značajan utjecaj interakcija hibrid×vrijeme siliranja na koeficijente probavljivosti škroba s obzirom da je probavljivost škroba u tom satu oko 100%.

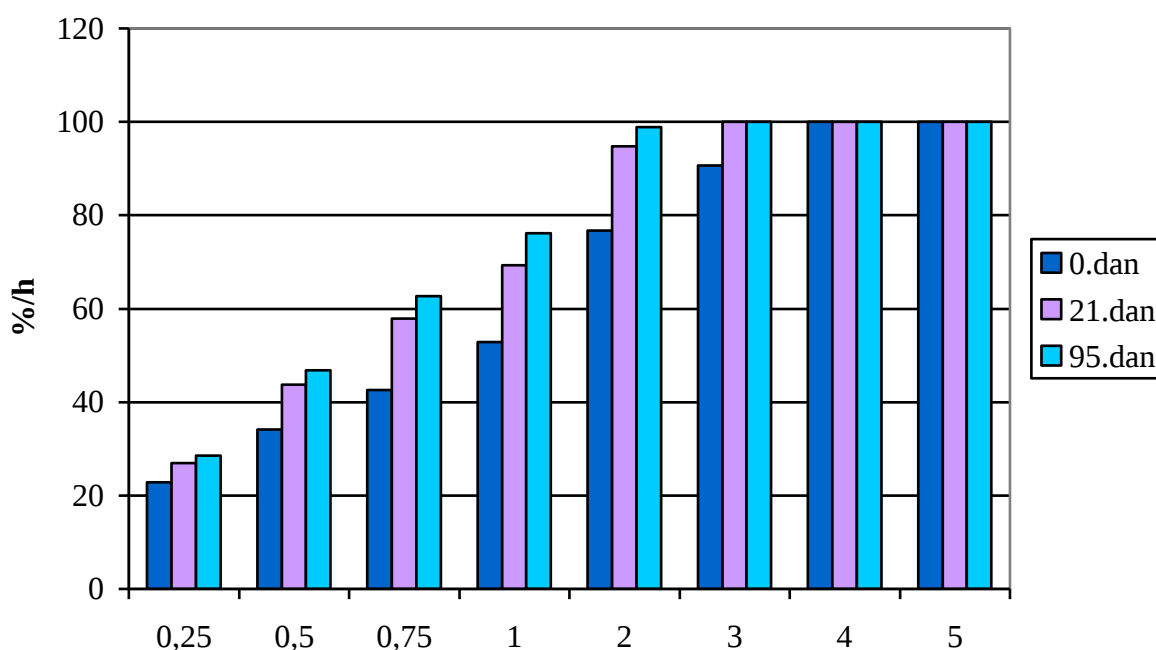
Tablica 3. Rezultati statističke analize varijance koeficijenata probavljivosti škroba uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Koeficijenti probavljivosti	Hibrid (H)			Vrijeme siliranja (V)			H × V		
	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F
0,25	6	37,05	***	2	375,14	***	12	14,91	***
0,5	6	43,44	***	2	1096,82	***	12	31,29	***
0,75	6	43,29	***	2	1880,95	***	12	21,58	***
1	6	47,89	***	2	1317,97	***	12	10,70	***
2	6	7,84	***	2	1198,07	***	12	13,15	***
3	6	2,99	*	2	247,07	***	12	8,10	***
4	6	3,32	**	2	49,31	***	12	2,69	**
5	6	2,93	*	2	8,47	***	12	1,31	NS

Značajno za navedenu P vrijednost: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; NS = nije signifikantno ($P \geq 0,05$)

Prosječne vrijednosti koeficijenata probavljivosti škroba siliranog rehidriranog zrna kukuruza svih istraživanih hibrida tijekom petosatne inkubacije u tri različita razdoblja siliranja prikazani su u Grafikonu 5. Dužom inkubacijom tj. izloženosti djelovanju probavnih enzima povećavali su se koeficijenti probavljivosti škroba tj. udio probavljenog škroba, a udio probavljenog škroba još više se povećao s vremenom siliranja. S obzirom da su vrijednosti koeficijenata probavljivosti škroba 21. i 95. dana siliranja bile su više od onih svježe mase za siliranje, dobiveni rezultati potvrđuju činjenicu da se siliranjem povećava probavljivost škroba (Grbeša, 2016.). Unutar prva 2 sata inkubacije probavilo se 90,14%, odnosno gotovo sav škrob siliranog rehidriranog zrna kukuruza sva tri razdoblja siliranja. Slične rezultate nakon 2 sata inkubacije dobili su i drugi autori, npr. 90,99% (Obućina, 2017.) i 90,65% (Tadić, 2018.). U istraživanju Giuberti i sur. (2012.), u prva 2 sata inkubacije probavilo se oko 85% škroba visokovlažnog zrna kukuruza, te je u odnosu na ovo istraživanje probavljivost škroba bila sporija. Niža vrijednost probavljivosti škroba u navedenom istraživanju može biti posljedica razlika između istraživanih tipova/hibrida kukuruza. Zamjetno povećanje probavljivosti škroba silaža 95. dana, u odnosu na 21. dan siliranja, vidljivo je nakon pola sata inkubacije. Škrob u uzorcima silaža 21. i 95. dana siliranja u potpunosti se razgradio nakon 3 sata dok u svježoj masi za siliranje sat vremena kasnije.

Grafikon 5. Koeficijenti probavljivosti (%/h) škroba siliranog rehidriranog zrna svih istraživanih hibrida kukuruza (n=7) u određenim vremenskim točkama inkubacije za sva 3 razdoblja siliranja (0., 21. i 95. dan)



Koeficijenti probavljivosti škroba siliranog rehidriranog zrna kukuruza različitih hibrida tijekom petosatne inkubacije i tri različita razdoblja siliranja prikazani su u Tablicama 4 i 5. U sljedećim točkama navedene su minimalne i maksimalne vrijednosti koeficijenata probavljivosti škroba tijekom različitih vremena uzorkovanja prilikom *in vitro* određivanja probavljivosti škroba. Tijekom svih vremenskih točaka inkubacije, hibrid Bc 344 najčešće je imao najniže koeficijente probavljivosti škroba, a hibrid Bc 572 najviše.

- Kao hibridi s najvišim prosječnim koeficijentima probavljivosti škroba sva tri razdoblja siliranja nakon 15 minuta inkubacije ističu se hibridi Bc 572 (28,17%) i Pajdaš (27,64%). Hibrid Bc 344 nakon 15 minuta probave ima prosječno najniže koeficijente probavljivosti škroba s 24,48%. U istraživanju Obućina (2017.) koeficijenti probavljivosti škroba visokovlažnog zrna zubana i polutvrđunaca, siliranog 182 dana, nakon 15 minuta inkubacije iznosili su 27,95 i 29,65%. S rasponom od 26,03 do 33,23% za silažu nakon 95. dana siliranja, neki od hibrida u ovom istraživanju imaju nešto više koeficijente probavljivosti škroba u odnosu na vrijednosti iz rada Obućina (2017.) što može biti posljedica različite strukture zrna istraživanih hibrida.
- Kao hibridi s najvišim prosječnim vrijednostima koeficijenata probavljivosti škroba sva tri razdoblja siliranja nakon 30 minuta probave ističu se hibrid Bc 572 (44,50%) i Pajdaš (43,90%) dok su hibridi s najnižim koeficijentima inkubacije Bc 424 (39,95%) i Bc 344 (38,64%). U istraživanju Jurkas (2014.) koeficijenti probavljivosti škroba suhog zrna kukuruza nakon 30 minuta inkubacije iznosili su 21,57% za hibrid Bc 572 i 22,92% za hibrid Pajdaš, dok je u ovom istraživanju svježja masa za siliranje istih hibrida imala nešto više vrijednosti – 34,10% (Bc 572) i 35,01% (Pajdaš). U istraživanju Obućina (2017.) koeficijenti probavljivosti škroba visokovlažnog zrna zubana i polutvrđunaca, siliranog 182 dana, iznosili su 41,21 i 42,77%. U ovom istraživanju, prosječna vrijednost koeficijenata probavljivosti škroba svih istraživanih hibrida siliranih 95 dana iznosila je 46,84% (Prilog 8) što upućuje na veći utjecaj siliranja na strukturu zrna.
- S obzirom na prosječne vrijednosti koeficijenata probavljivosti škroba silaža istraživanih hibrida u svim razdobljima siliranja, hibrid Bc 344 nakon 45 minuta *in vitro* probave ima najniži koeficijent probavljivosti od 50,08%, a hibrid Bc 572 najviši s 57,28%. U odnosu na koeficijente inkubacije hibrida Bc 572, među hibridima se ističu sljedeći hibridi s nešto nižim koeficijentima probavljivosti škroba – hibrid Bc 424 (53,78%) i Bc 525 (52,52%).
- Hibrid Bc 424 je nakon 1 sata *in vitro* probave imao prosječno najniži koeficijent probavljivosti (61,53%) dok je hibrid Bc 572 imao najviši (69,71%). Hibrid Bc 525 je nakon 1 sata inkubacije i 95 dana siliranja imao najniži koeficijent inkubacije od 69,02%, dok je hibrid Bc 572 sa 80,80% imao najviši, što potvrđuje utvrđeni utjecaj hibrida na koeficijente probavljivosti ($P < 0,001$). U istraživanju Obućina (2017.), koeficijenti probavljivosti škroba visokovlažnog zrna zubana i polutvrđunaca, siliranog 182 dana, iznosili su 64,51 i 66,20%, te su slični rezultatima ovoga

istraživanja. U radu Jurkas (2014.), nakon 1 sata inkubacije hibridi Bc 572 i Pajdaš, imali su koeficijente probavljivosti škroba od 38,95 i 38,73%, dok je u ovome istraživanju svježa masa za siliranje navedenih hibrida imala 54,15 i 55,51%. Rezultati ovog istraživanja pokazuju više vrijednosti koeficijenata probavljivosti škroba kod istih hibrida, a što je vjerojatno posljedica razlika tijekom provođenja analize.

- Hibrid Bc 525 je nakon 2 sata inkubacije imao prosječno najniži koeficijent probavljivosti (88,75%) dok je Bc 418b imao najviši (92,61%).
- Nakon 3 sata inkubacije, hibrid Kekec imao je prosječno najnižu vrijednost koeficijenta probavljivosti škroba (98,08%), a najvišu hibrid Bc 344 za 1,79% višu od 100%. Svježa masa za siliranje hibrida Bc 344 sadržavala je najmanje škroba (66,49% ST) i najviše šećera (2,78%).
- Nakon 4 i 5 sati inkubacije prosječni koeficijenti probavljivosti većine hibrida odstupali su od 100%, pa je tako nakon 4 sata inkubacije hibrid Bc 525 s najnižom vrijednošću probavljivosti imao za 3,37%, a hibrid Bc 344 s najvišom probavljivosti za 7,82% višu vrijednost od 100%. Svježa masa za siliranje hibrida Bc 525 sadržavala je najviše škroba (71,33%) i najmanje šećera (1,70%). Sadržaj i građa škroba hibrida utjecali su na njegovu sporiju probavu. Najnižu vrijednost probavljivosti nakon 5 sati inkubacije imao je hibrid Bc 424 s 1,73%, a hibrid Bc 344 s najvišom probavljivošću s 5,30% višom vrijednošću od 100%.

Tablica 4. Koeficijenti probavljivosti (%) škroba siliranog rehidriranog zrna različitih hibrida kukuruza (Bc 344, Bc 418b, Bc 424, Bc 525 i Bc 572) u određenim vremenskim točkama inkubacije za sva 3 razdoblja siliranja (0., 21. i 95. dan)

Hibrid	Vrijeme siliranja (dan)	Vrijeme inkubacije (h)								
		0	0,25	0,5	0,75	1	2	3	4	5
Bc 344	0.	7,50	21,36	31,49	39,15	48,45	74,35	94,44	100,00	100,00
	21.	10,82	26,07	40,43	53,68	63,91	97,32	100,00	100,00	100,00
	95.	9,52	26,03	43,99	57,42	72,33	97,12	100,00	100,000	100,00
Bc 418b	0.	7,44	21,60	31,70	42,71	52,24	80,17	85,98	96,83	99,79
	21.	10,31	26,91	44,09	58,69	73,25	94,70	100,00	100,00	100,00
	95.	10,56	29,43	48,73	64,18	77,80	100,00	100,00	100,00	100,00
Bc 424	0.	10,29	22,40	31,89	40,73	47,24	73,49	86,33	100,00	100,00
	21.	11,22	25,24	40,91	55,08	64,87	92,44	100,00	100,00	100,00
	95.	11,99	27,21	47,05	65,53	72,49	100,00	100,00	100,00	100,00
Bc 525	0.	12,02	23,87	38,83	44,79	56,82	77,46	94,35	100,00	100,00
	21.	11,18	26,55	43,69	57,61	68,28	96,56	100,00	100,00	100,00
	95.	10,38	24,72	40,09	55,15	69,02	92,24	100,00	100,00	100,00
Bc 572	0.	10,19	23,52	34,10	41,68	54,15	73,50	92,20	98,67	100,00
	21.	11,39	27,77	46,78	60,85	74,17	95,04	100,00	100,00	100,00
	95.	12,65	33,23	52,62	69,31	80,80	98,27	100,00	100,00	100,00

Tablica 5. Koeficijenti probavljivosti (%) škroba siliranog rehidriranog zrna različitih hibrida kukuruza (Kekec i Pajdaš) u određenim vremenskim točkama inkubacije za sva 3 razdoblja siliranja (0., 21. i 95. dan)

Hibrid	Vrijeme siliranja (dan)	Vrijeme inkubacije (h)								
		0	0,25	0,5	0,75	1	2	3	4	5
Kekec	0.	9,64	23,66	35,67	45,09	55,53	79,29	90,29	100,00	100,00
	21.	11,78	27,07	44,19	58,37	68,41	92,07	100,00	100,00	100,00
	95.	11,71	28,62	45,35	64,05	80,03	97,15	100,00	100,00	100,00
Pajdaš	0.	11,05	23,56	35,01	43,83	55,51	78,70	91,17	100,00	100,00
	21.	12,82	28,87	45,71	60,61	71,88	95,46	100,00	100,00	100,00
	95.	12,52	30,49	50,06	62,86	80,43	100,00	100,00	100,00	100,00

5.4. Rezultati brzine probavljivosti škroba

Brzina *in vitro* ilealne probavljivosti pokazuje kojom brzinom se škrob probavi do glukoze tijekom probave u svim dijelovima tankog crijeva (duodenum, jejunum i ileum). Brzina probavljivosti je to manja što je viši udio sporoprobavljivoga i rezistentnog u ukupnom škrobu (Grbeša, 2016.). S druge strane, viša brzina probavljivosti škroba povezana je s višim udjelom brzo probavljive, topljive frakcije, a što treba uzeti u obzir prilikom sastavljanja obroka. Na brzinu probavljivosti škroba značajno je utjecao hibrid, vrijeme siliranja, te njihova interakcija ($P < 0,001$) (Tablica 6). Brzina probavljivosti škroba rehidriranog siliranog zrna različitih hibrida kukuruza tijekom različitih razdoblja siliranja prikazana je u Grafikonu 6, a u Prilogu 5 su prikazane sve brojčane vrijednosti.

Tablica 6. Rezultati statističke analize varijance brzine probavljivosti škroba u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

	Hibrid (H)			Vrijeme siliranja (V)			H × V		
	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F
Brzina probavljivosti škroba	6	99,44	***	2	4299,91	***	12	39,69	***

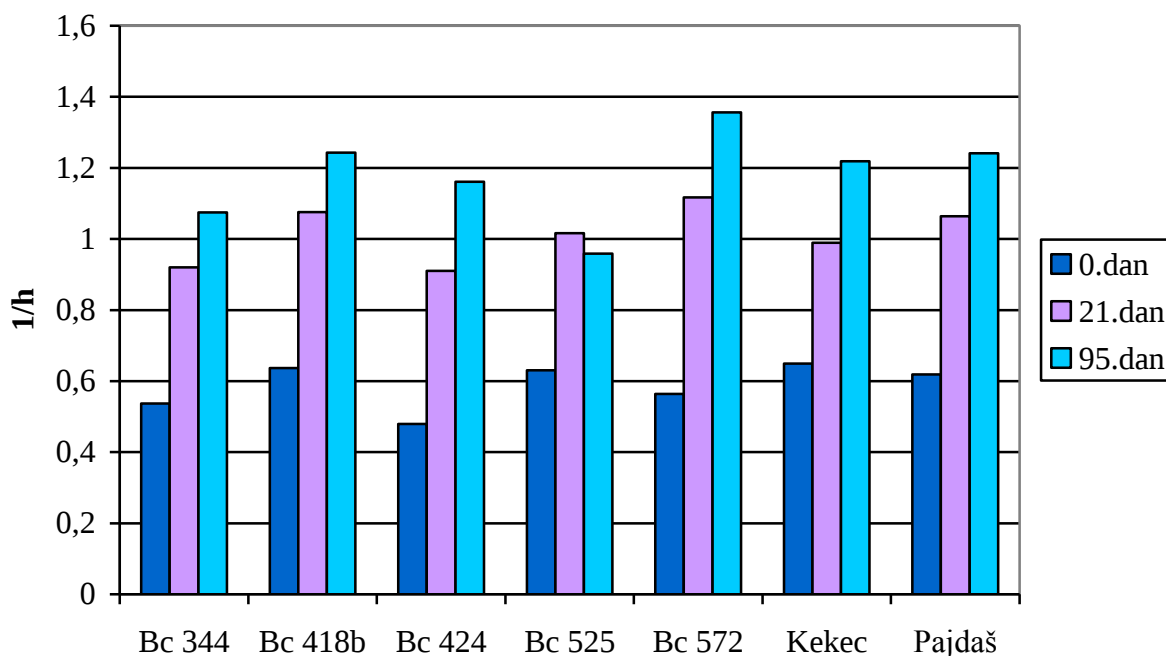
Značajno za navedenu P vrijednost: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; NS = nije signifikantno ($P \geq 0,05$)

Prosječna vrijednost brzine probavljivosti škroba silaža zrna svih istraživanih hibrida svježe mase za siliranje iznosila je 0,5881 1/h, 21. dana siliranja 1,0133 1/h, a 95. dana siliranja 1,1792 1/h. Navedeni rezultati potvrđuju očekivanja, te je s vremenom siliranja rasla i brzina probavljivosti škroba. Uz utjecaj mliječne kiseline koja otapa zein, a koja je rezultat aktivnosti bakterija mliječne kiseline, proteolizi tijekom siliranja najviše pridonosi djelovanje svih prisutnih bakterija (Junges i sur., 2017.). Zbog otapanja zeinskih proteina oko granula škroba u proteinsko-škrobnoj matrici endosperma zrna kukuruza one postaju dostupnije probavnim enzimima. Ukoliko je škrob dostupniji, očekivano je da će i njegova probavljivost biti povećana. S produžetkom vremena siliranja, a time i djelovanjem mliječne kiseline i bakterija, škrob je sve više dostupan probavnim enzimima što objašnjava porast probavljivosti od 21. do 95. dana siliranja, a zbog toga raste i brzina probavljivosti škroba siliranog zrna kukuruza s vremenom siliranja.

Među hibridima se ističe hibrid Bc 572 s najvišom prosječnom brzinom probavljivosti sva tri razdoblja siliranja od 1,0124 1/h što ukazuje na to da se njegov škrob najbrže probavljao. Obratno, najnižu brzinu probavljivosti škroba imao je hibrid Bc 344, a ona je iznosila 0,8442 1/h. S obzirom da je tijekom svih vremenskih točaka inkubacije hibrid Bc 572 najčešće imao najviše koeficijente probavljivosti škroba, a hibrid Bc 344 najčešće najniže,

rezultat je u skladu s očekivanjem. Utvrđene značajne razlike u brzini probavljivosti škroba između hibrida pokazatelj su njihovog različitog omjera brašnjavog i caklavog endosperma, te različite građe endosperma – udjela amiloze i veličina granula škroba, te sadržaj i tip zeina koji okružuje granule. Primjerice, prema Singh i sur. (2010.), manje granule škroba se brže probavljaju zbog veće aktivne površine, a kao posljedica je brža razgradnja škroba kod tipova kukuruza s većim udjelom caklavog endosperma. Upravo ove razlike u strukturi endosperma uzrokovale su i različit porast brzine probavljivosti škroba istraživanih hibrida tijekom promatranog razdoblja siliranja, a što je u skladu s utvrđenom interakcijom hibrid×vrijeme siliranja. Unatoč sličnoj brzini probavljivosti škroba svježe mase za siliranje kod hibrida Bc 344 i Bc 572 (0,5373 i 0,5642 1/h), brzina više raste kod hibrida Bc 572 (1,3561 1/h) nego kod hibrida Bc 344 (1,0751 1/h) 95. dana siliranja. Kao hibrid s najnižim vrijednostima brzine probavljivosti škroba 95. dana siliranja isticao se hibrid Bc 525 (0,9591 1/h).

Grafikon 6. Brzina probavljivosti škroba (1/h) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja



U istraživanju Jurkas (2014.) hibridi Bc 572 i Pajdaš su imali brzinu probavljivosti škroba 0,57 i 0,56 1/h, dok je svježa masa za siliranje istih hibrida u ovom istraživanju imala brzine od 0,56 i 0,62 1/h. Nadalje, prosječna brzina probavljivosti škroba svježe mase za siliranje svih istraživanih hibrida iznosila je 0,59 1/h, a što je slično rezultatima dobivenim u radu Jurkas (2014.). Rezultati ovoga istraživanja ukazuju na veću brzinu probavljivosti siliranog u odnosu na suho zrno kukuruza, a što je u skladu s očekivanjima. U istraživanju Obućina (2017.), brzina probavljivosti škroba visokovlažnog zrna zubana i polutvrđunaca, siliranog 182 dana, iznosila je 1,1 1/h, te se ona uvelike ne razlikuje od brzine probavljivosti

škroba 21. (1,01 l/h) i 95. dana siliranja (1,18 l/h) dobivenih u ovom istraživanju. Optimalna brzina probavljivosti škroba za visoke priraste i dobro iskorištenje hrane kreće se u rasponu 1 – 1,35 l/h (Grbeša, 2016.), a silaže zrna istraživanih hibrida uklapaju se u navedeni omjer. Takva brzina probavljivosti škroba pokazuje da se gotovo sav škrob postupno probavio do glukoze, te da je ona gotovo potpuno iskorištena za sintezu proteina mišića čime se mogu ostvariti viši prirasti životinja.

5.4.1. Topljiva i probavljiva frakcija

Topljiva frakcija škroba predstavlja frakciju koja će se razgraditi odmah nakon dolaska u tanko crijevo. Rezultati statističke analize pokazali su značajan utjecaj hibrida, vremena siliranja, te njihove interakcije, na udio topljive frakcije škroba u uzorcima siliranog rehidriranog zrna kukuruza ($P < 0,001$) (Tablica 7). Udjeli topljive frakcije škroba u rehidriranom siliranom zrnu različitih hibrida kukuruza tijekom različitih razdoblja siliranja prikazani su u Grafikonu 7, a brojčane vrijednosti prikazane su u Prilogu 6.

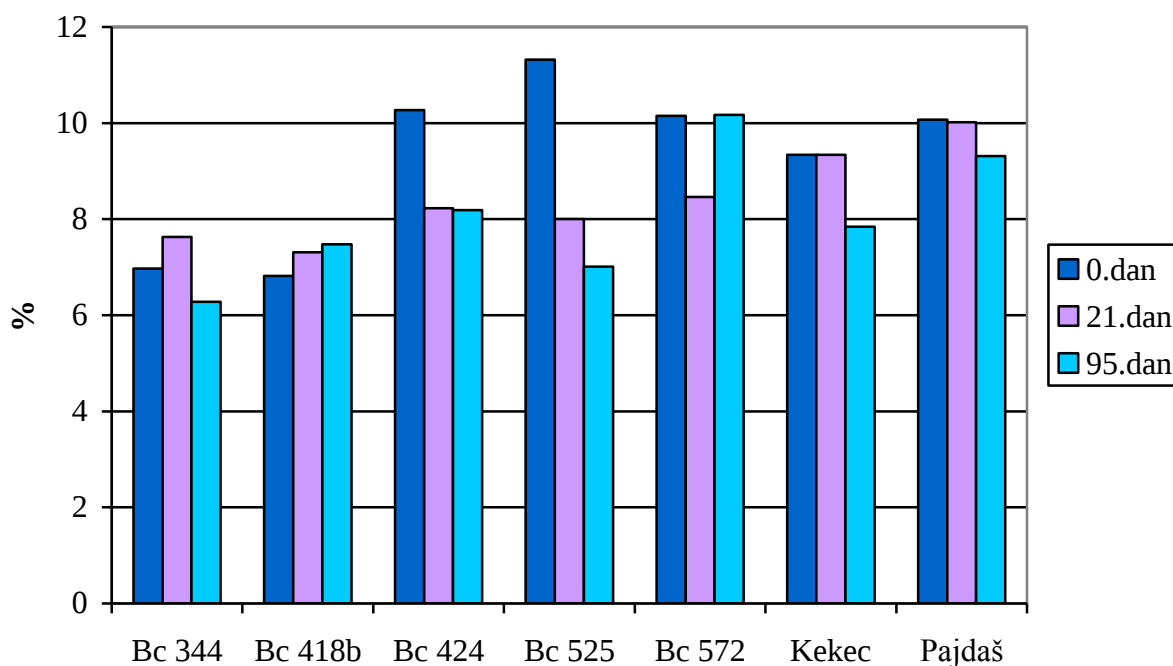
Tablica 7. Rezultati statističke analize varijance za udjele topljive (S) i probavljive (D) frakcije škroba u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

	Hibrid (H)			Vrijeme siliranja (V)			H × V		
	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F	df	F	Pr > F
Topljiva frakcija	6	41,86	***	2	32,47	***	12	11,89	***
Probavljiva frakcija	6	0,36	NS	2	0,09	NS	12	0,70	NS

Značajno za navedenu P vrijednost: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; NS = nije signifikantno ($P \geq 0,05$)

Prosječna vrijednost topljive frakcije (S) svježe mase za siliranje svih istraživanih hibrida iznosila je 9,28%, 21. dana siliranja 8,43%, a 95. dana siliranja 8,04%. S produžetkom vremena siliranja, udio topljive frakcije je opadao, što je posljedica mikrobne aktivnosti i hidrolize škroba. S obzirom na prosječne vrijednosti sva tri razdoblja siliranja, hibrid Bc 344 imao je najniži udio topljive frakcije škroba od 6,96%, a hibrid Pajdaš najviši udio od 9,80%. Navedeni raspon je u skladu s različitom strukturom granula škroba različitih hibrida. Raspon vrijednosti topljive frakcije škroba kod suhog zrna hibrida vrlo visoke do vrlo niske caklavosti kretao se 0,2 – 0,6 g/100g škroba (Giuberti i sur., 2013.), a vrijednost za VVZ iznosila je 1,0 g/100g škroba (Giuberti i sur., 2012.) što je značajno niže od vrijednosti u ovom istraživanju.

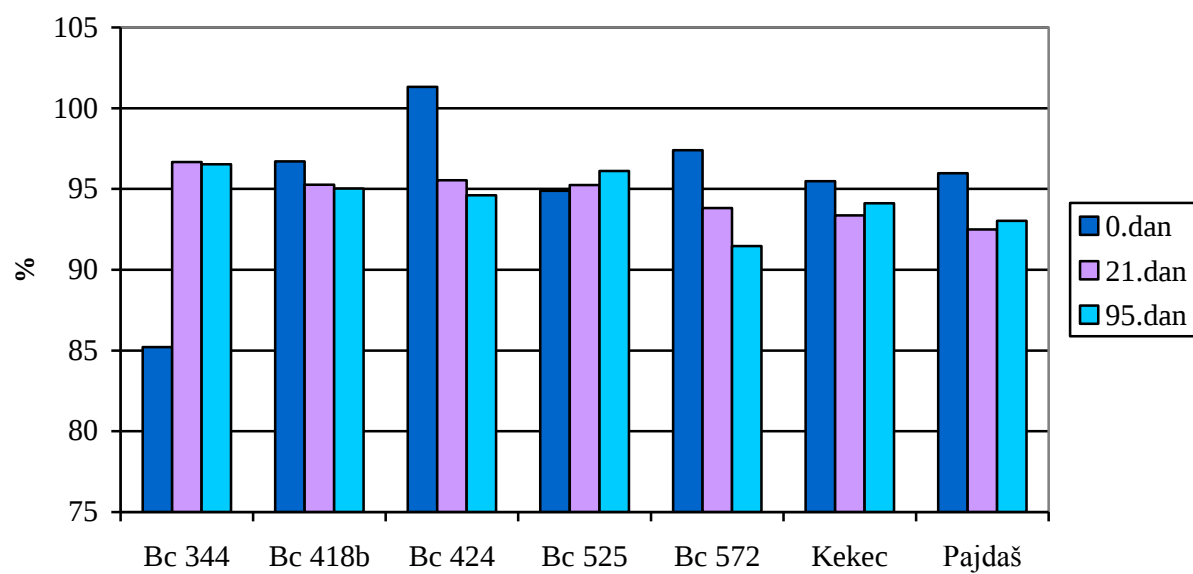
Grafikon 7. Topljiva frakcija (S) (%) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja



Probavljiva frakcija škroba je onaj dio škroba koji je dostupan za probavu tankom crijevu. Statističkom analizom nije utvrđen značajan utjecaj hibrida, vremena siliranja, te njihove interakcije, na udio probavljive frakcije škroba u uzorcima siliranog rehidriranog zrna kukuruza (Tablica 7). Udjeli probavljive frakcije škroba u rehidriranom siliranom zrnju različitih hibrida kukuruza tijekom različitih razdoblja siliranja prikazani su u Grafikonu 8, a brojčane vrijednosti prikazane su u Prilogu 7.

Prosječna vrijednost probavljive frakcije (D) svježe mase za siliranje svih istraživanih hibrida iznosila je 95,28%, 21. dana siliranja 94,63%, a 95. dana siliranja 94,41%. S obzirom na prosječne vrijednosti sva tri razdoblja siliranja, hibrid Bc 344 imao je najniži udio probavljive frakcije od 92,81%, a hibrid Bc 424 najviši udio od 97,16%. Raspon vrijednosti probavljive frakcije škroba kod suhog zrna hibrida vrlo visoke do vrlo niske caklavosti kretao se 87,7 – 96,3 g/100g škroba (Giuberti i sur., 2013.), a vrijednost za VVZ iznosila je 93,9 g/100g škroba (Giuberti i sur., 2012.).

Grafikon 8. Probavljiva frakcija (D) (%) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja



6. Zaključak

U provedenom istraživanju ispitana je kinetika *in vitro* ilealne probavljivosti škroba siliranog rehidriranog zrna 7 različitih hibrida kukuruza – Bc 344, Bc 418b, Bc 424, Bc 525, Bc 572, Kekec i Pajdaš – tijekom siliranja i skladištenja 0., 21. i 95. dan, koristeći model za svinje.

Na temelju rezultata istraživanja možemo zaključiti slijedeće:

- Hibrid kukuruza utjecao je na brzinu probavljivosti škroba.
- S vremenom siliranja, rasla je i brzina probavljivosti škroba rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza. Hibridi kukuruza su imali različit obujam porasta brzine probavljivosti zbog različitog djelovanja siliranja na strukturu endosperma zrna.

Zaključno, silirano rehidrirano zrno različitih hibrida kukuruza imalo je različitu kinetiku probavljivosti škroba. Rehidrirano zrno kukuruza silirano uz dodatak inokulanta (probiotik) sa svojim rezistentnim škrobom u funkciji prebiotika moglo bi povoljno utjecati na razvoj poželjne crijevne mikroflore, a koja pozitivno utječe na zdravlje i performanse životinje.

7. Popis literature

1. Bach Knudsen, K. E. (2001). The nutritional significance of “dietary fiber” analysis. *Animal Feed Science and Technology*. 90: 3-20.
2. Bc Institut (2018). Bc hibridi kukuruza - Katalog 2018. Bc Institut, Zagreb. <www.bc-institut.hr>. Pristupljeno 20. svibnja 2018.
3. Dona, A. C., Pages, G., Gilbert, R. G., Kuchel, P. W. (2010). Digestion of starch: *In vivo* and *in vitro* kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release. *Carbohydrate Polymers*. 80: 599-617.
4. Drew, M. D., Schafer, T. C., Zijlstra, R. T. (2011). Glycemic index of starch affects nitrogen retention in grower pigs. *Journal of Animal Science*. 90: 1233-1241.
5. Državni zavod za normizaciju i mjeriteljstvo (2001). Stočna hrana – Određivanje vode i udjela drugih hlapljivih tvari. DZNM, Zagreb, Hrvatska.
6. Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., Cummings, J. H. (1999). Rapidly available glucose in foods: an *in vitro* measurement that reflects the glycemic response. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 69: 448-54.
7. Fanon (2018). Fanon – Tvornica stočne hrane. <www.fanon.hr/bio-sil>. Pristupljeno 20. srpnja 2018.
8. FAOSTAT (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <www.fao.org/faostat>. Pristupljeno 20. svibnja 2018.
9. Feedipedia (2018). Feedipedia – Animal Feed Resources Information System - INRA CIRAD AFZ and FAO © 2012-2017, <www.feedipedia.org>. Pristupljeno 20. svibnja 2018.
10. Giuberti, G., Gallo, A., Cerioli, C., Masoero, F. (2012). *In vitro* starch digestion and predicted glycemic index of cereal grains commonly utilized in pig nutrition. *Animal Feed Science and Technology*. 174: 163-173.
11. Giuberti, G., Gallo, A., Masoero, F. (2011a). Plasma glucose response and glycemic indices in pigs fed diets differing in *in vitro* hydrolysis indices. *Animal*, 6:7, pp 1068–1076. The Animal Consortium.
12. Giuberti, G., Gallo, A., Moschini, M., Cerioli, C., Masoero, F. (2013). Evaluation of the impact of maize endosperm vitreousness on *in vitro* starch digestion, dry matter digestibility and fermentation characteristics for pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 186: 71-80.

13. Grbeša, D. (2008). Bc hibridi kukuruza u hranidbi životinja. Bc Institut. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
14. Grbeša, D. (2014). Metode procjene i tablice kemijskog sastava i hranjive vrijednosti krepkih krmiva. Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.
15. Grbeša, D. (2016). Hranidbena svojstva kukuruza. Bc Institut. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
16. Guyton, A. C., Hall, J. E. (2006). Textbook of Medical Physiology. 11th edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA.
17. Hoffman, P. C., Esser, N. M., Shaver, R. D., Coblenz, W. K., Scott, M. P., Bodnar, A. L., Schmidt, R. J., Charley, R. C. (2011). Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. *Journal of Dairy Science*. 94: 2465-2474.
18. Jones, G. M., Donefer, E., Elliot, J. I. (1970). Feeding Value for Dairy Cattle and Pigs of High Moisture Corn Preserved With Propionic Acid. Department of Animal Science, Macdonald Campus of McGill University, Ste. Anne de Bellevue, Quebec.
19. Junges, D., Morais, G., Spoto, M. H. F., Santos, P. S., Adesogan, A. T., Nussio, L. G., Daniel, J. L. P. (2017). Influence of various proteolytic sources during fermentation of reconstituted corn grain silages. *Journal of Dairy Science*. 100: 9048-9051.
20. Jurkas, M. (2014). Utjecaj okolišnih čimbenika na kinetiku probavljivosti škroba zrna kukuruza. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
21. Kljak, K. (2016). Interna skripta za studente (Metode vrednovanja hrane za životinje). Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.
22. Obućina, P. (2017). Kinetika probavljivosti škroba visokovlažnog zrna različitih tipova kukuruza. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
23. Pieper, R., Hackl, W., Korn, U., Zeyner, A., Souffrant, W. B., Pieper, B. (2011). Effect of ensiling triticale, barley and wheat grains at different moisture content and addition of *Lactobacillus plantarum* (DSMZ 8866 and 8862) on fermentation characteristics and nutrient digestibility in pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 164: 96-105.
24. Poljoprivreda.info - Agroinkubator (2010). Vlažan kukuruz u zrnju: pravi izbor za ishranu životinja. Online časopis, <<https://poljoprivreda.info/tekst/vlazan-kukuruz-u-zrnu-pravi-izbor-za-ishranu-zivotinja>>. Pristupljeno 3. srpnja 2018.
25. Ricke, S. C. (2017). The Future of Livestock Nutrition and Alternatives to Antibiotics. Wray Food Safety Endowed Chair and Director of the Center for Food Safety, IFSE. Food Science Department, Division of Agriculture University of Arkansas, Fayetteville, AR.

26. Rowan, J. P., Durrance, K. L., Combs, G. E., Fisher, L. Z. (1997). The Digestive Tract of the Pig. UF/IFAS Extension, University of Florida, AS23. U.S. Department of Agriculture, The Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), Florida.
27. Singh, J., Dartois A., Kaur, L. (2010). Starch Digestibility in food matrix: a review. Trends in Food Science and Technology. 21: 168-180.
28. Somogyi, M. (1945). A new reagent for the determination of sugars. Journal of Biological Chemistry. 160: 61-68.
29. Vranić, M. (2012). Interna skripta (Konzerviranje krme). Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za specijalnu proizvodnju bilja, Centar za travnjaštvo, Zagreb.
30. Wang, J. Q., Yin, F. G., Zhu, C., Yu, H., Niven, S. J., de Lange, C. F. M., Gong, J. (2012). Evaluation of probiotic bacteria for their effects on the growth performance and intestinal microbiota of newly-weaned pigs fed fermented high-moisture maize. Livestock Science. 145: 79-86.
31. Weurding, R. E., Enting, H., Verstegen, M. W. A. (2003). The effect of site of starch digestion on performance of broiler chickens. Animal Feed Science and Technology. 110: 175-184.
32. Weurding, R. E., Enting, H., Verstegen, M. W. A. (2003). The Relation Between Starch Digestion Rate and Amino Acid Level for Broiler Chickens. Poultry Science. 82: 279-284.
33. Weurding, R. E. (2002). Kinetics of starch digestion and performance of broiler chickens. Doktorska disertacija, Wageningen Institute of Animal Science, Wageningen University, Wageningen, Nizozemska.
34. Wilfart, A., Jaguelin-Peyraud, Y., Simmins, H., Noblet, J., van Milgen, J., Montagne, L. (2008). Kinetics of enzymatic digestion of feeds as estimated by a stepwise *in vitro* method. Animal Feed Science and Technology. 141: 171-183.
35. Wilfart, A., Montagne, L., Simmins, H., van Milgen, J., Noblet, J. (2007). Sites of nutrient digestion in growing pigs: effect of dietary fiber. Journal of Animal Science. 85: 976-983.
36. Wu, G. (2018). Principles of Animal Nutrition. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL. USA, p. 772.
37. Zhang, B., Dhital, S., Gidley, M. J. (2015). Densely packed matrices as rate determining features in starch hydrolysis. Trends in Food Science and Technology. 43: 18-31.
38. Xu, X., Wang, H. L., Li, P., Zeng, Z. K., Tian, Q. Y., Piao, X. S., Kuang, E. Y. W. (2016). A comparison of the nutritional value of organic-acid preserved corn and heat-dried corn for pigs. Animal Feed Science and Technology. 214: 95-103.

8. Prilozi

Prilog 1. Sadržaj vlage (%) u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Vlaga (%)		Vrijeme siliranja (dan)		
Hibrid	0.	21.	95.	
Bc 344	31,89	32,35	31,48	
Bc 418b	32,00	32,43	31,56	
Bc 424	32,25	32,95	32,26	
Bc 525	32,11	32,49	31,65	
Bc 572	32,42	32,95	32,00	
Kekec	32,75	32,63	32,34	
Pajdaš	31,85	32,26	31,60	
Prosjek	32,18	32,58	31,84	

Prilog 2. Sadržaj škroba (% ST) u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Škrob (%)	Vrijeme siliranja (dan)		
Hibrid	0.	21.	95.
Bc 344	66,49 ^e	68,25 ^{cd}	69,31 ^{cd}
Bc 418b	67,58 ^{cd}	68,92 ^c	68,37 ^d
Bc 424	68,00 ^{bc}	67,70 ^d	70,86 ^b
Bc 525	71,33 ^a	72,74 ^a	72,41 ^a
Bc 572	70,50 ^a	70,06 ^b	71,14 ^b
Kekec	66,97 ^{de}	68,22 ^{cd}	69,52 ^c
Pajdaš	68,67 ^b	68,97 ^c	68,81 ^{cd}
Prosjek	68,50	69,27	70,06

^{abcde} Vrijednosti u stupcu označene istim slovima čine grupe sličnih hibrida.

Prilog 3. Sadržaj šećera (% ST) u uzorcima siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Šećer (%)	Vrijeme siliranja (dan)		
	0.	21.	95.
Hibrid			
Bc 344	2,78 ^a	0,09 ^b	0,82 ^{cd}
Bc 418b	2,78 ^a	0,26 ^{ab}	1,82 ^a
Bc 424	2,18 ^c	0,30 ^{ab}	1,06 ^{cd}
Bc 525	1,70 ^d	0,26 ^{ab}	1,37 ^b
Bc 572	2,11 ^c	0,28 ^{ab}	1,08 ^c
Kekec	2,48 ^b	0,44 ^a	1,56 ^{ab}
Pajdaš	2,32 ^{bc}	0,20 ^{ab}	0,81 ^d
Prosjek	2,34	0,26	1,22

^{abcd} Vrijednosti u stupcu označene istim slovima čine grupe sličnih hibrida.

Prilog 4. Probavljivost suhe tvari (%) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Probavljivost ST (%)	Vrijeme siliranja (dan)		
	0.	21.	95.
Bc 344	79,09 ^{cd}	84,73 ^{cd}	87,91 ^c
Bc 418b	80,93 ^b	86,08 ^{abc}	88,65 ^{bc}
Bc 424	78,76 ^d	85,91 ^{bc}	90,21 ^a
Bc 525	84,51 ^a	86,79 ^{ab}	90,12 ^{ab}
Bc 572	80,40 ^{bc}	85,48 ^{bcd}	89,49 ^{ab}
Kekec	80,66 ^b	84,10 ^d	90,56 ^a
Pajdaš	81,28 ^b	87,55 ^a	90,03 ^{ab}
Prosjek	80,81	85,81	89,57

^{abcd} Vrijednosti u stupcu označene istim slovima čine grupe sličnih hibrida.

Prilog 5. Brzina probavljivosti škroba (k_d) (1/h) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Brzina probavljivosti škroba (1/h)	Vrijeme siliranja (dan)		
	0.	21.	95.
Hibrid			
Bc 344	0,5373 ^b	0,9202 ^d	1,0751 ^d
Bc 418b	0,6372 ^a	1,0760 ^b	1,2426 ^b
Bc 424	0,4792 ^c	0,9104 ^d	1,1613 ^c
Bc 525	0,6304 ^a	1,0161 ^c	0,9591 ^e
Bc 572	0,5642 ^b	1,1171 ^a	1,3561 ^a
Kekec	0,6493 ^a	0,9889 ^c	1,2186 ^b
Pajdaš	0,6191 ^a	1,0644 ^b	1,2415 ^b
Prosjek	0,5881	1,0133	1,1792

^{abcde} Vrijednosti u stupcu označene istim slovima čine grupe sličnih hibrida.

Prilog 6. Topljiva frakcija škroba (S) (%) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Topljiva frakcija (%)	Vrijeme siliranja (dan)		
	0.	21.	95.
Hibrid			
Bc 344	6,97 ^d	7,63 ^{cd}	6,28 ^e
Bc 418b	6,82 ^d	7,31 ^d	7,48 ^{cd}
Bc 424	10,27 ^b	8,23 ^{bc}	8,19 ^c
Bc 525	11,32 ^a	8,00 ^{bcd}	7,01 ^{de}
Bc 572	10,15 ^{bc}	8,46 ^b	10,17 ^a
Kekec	9,34 ^c	9,34 ^a	7,84 ^{cd}
Pajdaš	10,07 ^{bc}	10,02 ^a	9,31 ^b
Prosjek	9,28	8,43	8,04

^{abcde} Vrijednosti u stupcu označene istim slovima čine grupe sličnih hibrida.

Prilog 7. Probavljiva frakcija škroba (D) (%) uzoraka siliranog rehidriranog zrna istraživanih hibrida kukuruza 0., 21. i 95. dan siliranja

Probavljiva frakcija (%)	Vrijeme siliranja (dan)		
Hibrid	0.	21.	95.
Bc 344	85,22 ^b	96,67	96,54
Bc 418b	96,70 ^a	95,27	95,02
Bc 424	101,31 ^a	95,55	94,61
Bc 525	94,88 ^{ab}	95,25	96,12
Bc 572	97,40 ^a	93,82	91,46
Kekec	95,48 ^{ab}	93,37	94,12
Pajdaš	95,97 ^{ab}	92,50	93,03
Prosjek	95,28	94,63	94,41

^{ab} Vrijednosti u stupcu označene istim slovima čine grupe sličnih hibrida.

Prilog 8. Koeficijenti probavljivosti (%/h) škroba siliranog rehidriranog zrna svih istraživanih hibrida kukuruza (n=7) u određenim vremenskim točkama inkubacije za sva 3 razdoblja siliranja (0., 21. i 95. dan)

Hibrid	Vrijeme siliranja (dan)	Vrijeme inkubacije (h)								
		0	0,25	0,5	0,75	1	2	3	4	5
Svi hibridi	0.	9,73	22,85	34,10	42,57	52,85	76,71	90,68	100,00	100,00
	21.	11,36	26,93	43,69	57,84	69,25	94,80	100,00	100,00	100,00
	95.	11,33	28,53	46,84	62,64	76,13	98,92	100,00	100,00	100,00

ŽIVOTOPIS

Klara Novaković, rođena je 14. ožujka 1995. godine u Virovitici. Odrasla je u Pitomači gdje je pohađala Osnovnu školu Petra Preradovića (2001. – 2009.). Svoje srednjoškolsko obrazovanje nastavila je u Gimnaziji Petra Preradovića u Virovitici, pohađajući nastavu razrednog odjela Opće gimnazije (2009. – 2013.). Nakon položene državne mature, upisala je Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu gdje je završila preddiplomski studij, smjer Animalne znanosti (2013. – 2016.) i stekla titulu sveučilišne prvostupnice/ baccalaureae inženjerke Animalnih znanosti (univ.bacc.ing.agr.). Fakultetsko obrazovanje nastavila je na Agronomskom fakultetu upisavši diplomski studij Hranidba životinja i hrana koji još uvijek pohađa. Još studentica, Klara Novaković obranom ovog diplomskog rada steći će titulu magistre inženjerke Hranidbe životinja i hrane (mag.ing.agr.). Materinski jezik joj je hrvatski, a strani jezik kojime se koristi engleski. Komunikativna je i pedantna, otvorena i ima interes za stjecanjem novih znanja i vještina. Posjeduje prosječne vještine rada na računalu i u MS Office paketu. Aktivno se bavila daljinskim jahanjem (eng. *Endurance riding*) od 2009. do 2015. godine kada je zbog studentskih obaveza svoju sportsku karijeru morala na neko vrijeme napustiti i zamijeniti je rekreativnom. Osim jahanjem kao rekreativnom sportskom aktivnošću, bavi se trčanjem te povremeno biciklizmom.