

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
MOSONMAGYARÓVÁR
TAKARMÁNYOZÁSTANI TANSZÉK**

Doktori iskola vezetője és témavezető:
DR. SCHMIDT JÁNOS
MTA levelező tagja

**NÖVÉNYOLAJIPARI MELLÉKTERMÉKBŐL
ELŐÁLLÍTOTT VÉDETT ZSÍR (Ca-SZAPPAN)
FELHASZNÁLÁSA A KÉRŐDZŐK
TAKARMÁNYOZÁSÁBAN**

Készítette:
RIBÁCS ATTILA

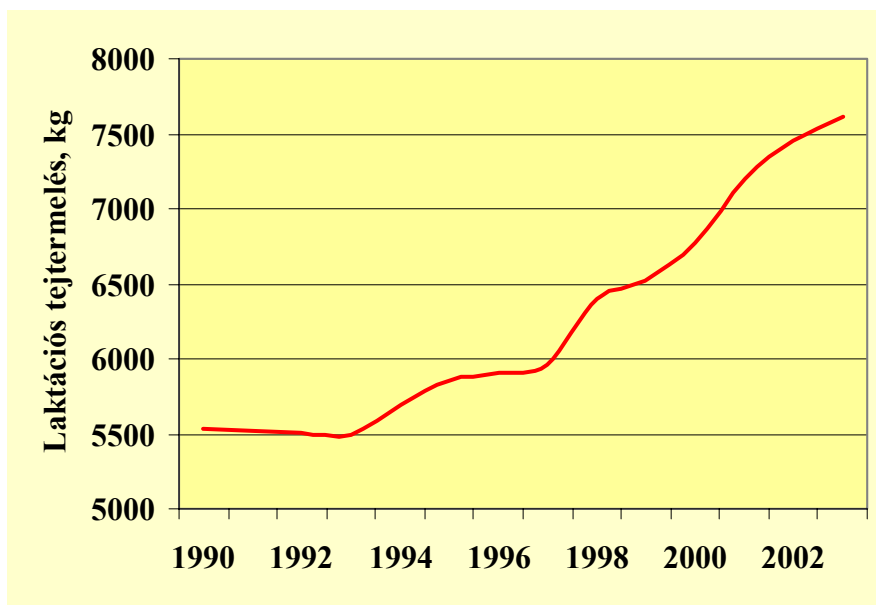
MOSONMAGYARÓVÁR
2005

1. BEVEZETÉS

Az elmúlt években a céltudatos tenyésztői munka, az egyre eredményesebb szelekciós eljárások és a korszerű biotechnológiai módszerek alkalmazása következtében jelentősen növekedett a tehenek laktációs termelése (1. ábra).

1. ábra

A hivatalos tejtermelés-ellenőrzés keretében vizsgált tehénállomány laktációs termelésének alakulása hazánkban, 1990 és 2003 között *



Készült az OMMI - ÁT kft (Gödöllő) adatai alapján.

Egyes országokban nem ritkák a 10.000-11.000 kg laktációs termelésű állományok sem. Az ilyen nagymértékű termelés jelentősen

megnöveli az állatok energia- és fehérjeszükségletét, illetve rendkívüli mértékben terheli az anyagcserét.

A tejelő tehenek takarmányozásának legkritikusabb időszaka az ellést követő 2-3 hónap, amikor az állatok energiamérlege rendszerint negatív. Ennek az az oka, hogy az állatok szárazanyag felvétele ellés után nem növekszik olyan ütemben, ahogy azt a tejtermelés növekedése megkívánná. A tejtermelés ugyanis már az 5.-6. laktációs héten – első laktációt teljesítő tehenek esetében valamivel később, a 6.-8. laktációs héten – eléri a maximumot, ezzel szemben a szárazanyag-felvétel csak a laktáció 10.-12. hetében kulminál. Az említett fáziseltolódás miatt a laktáció első heteiben energiahiányos állapot lép fel, amely hiányt a tehen zsírszöveteinek lebontásával igyekezik kompenzálni (Ivings és mtsai, 1993). Gibb és Ivings (1993) vizsgálatai szerint a teheneknek a laktáció első két hónapjában – a kialakult energiahiány mértékétől függően - 15-60 kg testzsírt kell lebontaniuk ahhoz, hogy energiaszükségletüket fedezni tudják. Az ezzel járó fokozott zsírmobilizáció, illetve a szubklinikai zsírmobilizációs betegség magában hordozza a ketózis kialakulásának veszélyét. Az érintett egyedek ellés után nem érik el genetikailag determinált csúcstermelésüket (Brydl, 1990), valamint kitolódik a következő eredményes termékenyítés időpontja is (Haraszti, 1990).

Az említett káros hatások elkerülése érdekében arra kell törekedni, hogy a tehenek napi testtömeg csökkenése ne legyen több 1,0-1,5 kg-nál, az összes csökkenés pedig ne haladja meg a 60 kg-ot (Brydl, 2000). Ez nagy – legalább 6,8-7,0 MJ NE_l/kg szárazanyag – energiakonzentrációjú takarmányadag etetésével érhető el. Az abraktakarmányok részarányának növelésével azonban nem javítható korlátlanul az állatok energiaellátása.

A kifogástalan bendőműködésnek ugyanis az a feltétele, hogy a napi takarmányadag energiájának legalább 45%-a szalastakarmányból származzon (Schmidt, 1995).

Az energiahiány pótlására leginkább a zsírok felelnek meg, mert energiatartalmuk 2,3-2,5-ször nagyobb a többi táplálóanyagénál. Nagy energiakonzentrációjuk következtében jelentős mennyiségű energia jut általuk a szervezetbe anélkül, hogy túlzottan megnövelnék a takarmányadag szárazanyag-tartalmát.

Normál (kezeletlen) zsírok jelentősebb mértékű felhasználása a kérődző állatok takarmányozásában azért nem lehetséges, mert a nagyobb mennyiségű zsír etetésekor már káros következményekkel kell számolni. Ilyen káros hatások lehetnek a nyersrost emésztés romlása, ennek következtében a bendőfolyadék ecetsav-propionsav arányának szűkülése, a takarmányfogyasztás csökkenése. Mindezek eredményeként csökken a tej zsír- és fehérjetartalma, romlik az energiahasznosítás.

A zsíriegészítés említett hátrányai megelőzhetők, illetve jelentősen mérsékelhetők az ún. védett zsírkészítmények etetésével.

2. SAJÁT VIZSGÁLATOK

2.1. A kísérletek célkitűzései

Tekintettel a védett zsírkészítményeknek a tejelő tehenek takarmányozásában betöltött egyre növekvő szerepére, kísérleteim során a következőket kívántam megállapítani:

- Hogyan lehet a bendőben lezajló mikrobás lebontó folyamatok tanulmányozására széles körben felhasznált Tilley - Terry (1963) -féle *in vitro* eljárást a Ca-szappanok bendőbeli lebomlásának vizsgálatára alkalmassá tenni?
- A zsírsavak szénlánc hosszúsága, illetve telített vagy telítetlen volta milyen hatást gyakorol a belőlük készült Ca-szappan bendőbeli stabilitására?
- Befolyásolja-e a Ca-szappan gyártási technológiája a késztermék bendőbeli stabilitását?
- Milyen bendőbeli stabilitású Ca-szappant lehet a növényolajiparban melléktermékként keletkező napraforgó zsírsavpárlatból előállítani?
- A napraforgó zsírsavpárlat elszappanosításával nyert termékkel milyen mértékben csökkenthetők a zsíretetés bendőműködésre kifejtett negatív hatásai a kezeletlen növényi olaj hatásához képest?

- Nagy telítetlen zsírsavhányadú Ca-szappanok szokásosnál nagyobb adagban történő etetése befolyásolja-e a bendőben végbemenő mikrobás fermentációt, valamint a nyersrost bendőbeli lebomlásának mértékét?
- Felhasználható-e a napraforgó zsírsavpárlatból előállított Ca-szappan a tejelő tehenek takarmányozásában, a laktáció során fellépő energiahiány pótlására?
- Milyen hatást gyakorol a készítmény etetése a tej zsír-, fehérje- és laktóztartalmára?
- Befolyásolja-e a készítmény etetése a tejszír zsírsav-összetételét és ezáltal a tej, illetve a belőle készült termékek táplálkozási értékét?
- Lehetséges-e nagy linolénsav-tartalmú Ca-szappan etetésével a tejszír linolénsav (ω -3) tartalmát növelni és ezzel a táplálkozás-életteni szempontból lényeges linolsav - linolénsav arányt szűkíteni?

2.2. Anyag és módszer

2.2.1. Eltérő zsírsav-összetételű Ca-szappanok bendőbeli stabilitásának vizsgálata *in situ* módszerrel

A vizsgálathoz használt 12 cm × 6 cm méretű zsákocskák Scrynel műanyag szövetből készültek, melynek pórusmérete 40 mikron volt. A

vizsgálendő Ca-szappanokból (Profat, módosított zsírsav-összetételű Profat, napraforgó zsírsavparlátból készült Ca-szappan) zsákocskánként 2 g-ot mértünk be, így az 1 cm² zsákocskára jutó vizsgálendő anyag mennyiség 13,9 mg volt. A mintákat tartalmazó zsákocskákat egy 600 g tömegű vas nehezékre kötöttük, biztosítva ezzel, hogy a zsákocskák a bendő folyadék fázisába kerüljenek. A nehezéket műanyag zsineggel a bendőkanülhöz rögzítettük.

Az inkubációs idő 0, 2, 4, 8, 16, 24 és 48 óra volt. Valamennyi készítményt állatonként és inkubációs időnként 5 ismétlésben vizsgáltuk.

A zsákocskákat az inkubációt követően rázógépen 8 × 10 percig mostuk. A mosáshoz felhasznált vizet mind a 8 alkalommal tisztára cseréltük le. Mosás után a zsákocskákat 60°C-os termosztátban megszáritottuk.

A vizsgált Ca-szappanok aktuális bendőbeli stabilitását a mért tömegveszteségek alapján, Kristensen és mtsai (1982) következő összefüggésével számítottuk ki:

$$EDP = \sum_{i=0}^n [PD_{(t_i+1)} - PD_{(t_i)}] \times f_{(t_i, t_i+1)} + PD_0$$

ahol: PD = fehérjelebontás

$t_i, t_i + 1$ = egymást követő inkubációs időpontok

$f_{(t_i, t_i + 1)}$ = fehérje mennyisége a bendőben a különböző inkubációs időpontokban

$$f_{(t_i)} = e^{-k_p \times t_i}$$

$$f_{(t_i, t_i + 1)} = 0,5 \times (e^{-k_p \times t_i} + e^{-k_p \times (t_i + 1)})$$

$$i = 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 \text{ óra}$$

A számítás során azt feltételeztük, hogy a bendőtartalomnak óránként a 8%-a hagyja el a bendőt ($k_r = 8\%$). Természetesen a fenti összefüggés alkalmazásakor a fehérjeértékek helyére értelemszerűen a megfelelő zsírértékek kerültek behelyettesítésre.

2.2.2. Eltérő zsírsav-összetételű és eltérő technológiával készült Ca-szappanok bendőbeli stabilitásának vizsgálata *in vitro* módszerrel

A vizsgálatokhoz 3 különböző összetételű zsírsavkeverékből (pálmamag zsírsavak, vegyes növényi zsírsavkeverék, mesterséges zsírsavkeverék) állítottunk elő Ca-szappanokat. A vegyes növényi zsírsavkeverék napraforgó-, repce- és len zsírsavkeveréket tartalmazott. A mesterséges zsírsavkeveréket a vegyes növényi zsírsavkeverékből palmitinsav, illetve sztearinsav hozzáadásával állítottuk elő. A szappankészítéshez felhasznált zsírsav-forrásokat úgy választottuk ki, valamint olyan arányban kevertük össze, hogy az előállítandó Ca-szappanoknak ne csak a zsírsav-összetétele, hanem az átlagos szénlánc hosszúsága is jellemzően eltérjen egymástól.

Mindhárom zsírsavkeverékből kétféle módon - egy-, valamint kétlépcsős technológiával - készítettünk Ca-szappant.

Az egylépcsős technológia során a zsírsavakat 100°C körüli hőmérsékleten $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -dal reagáltattuk. A kész szappan szárítást nem igényelt.

A kétlépcsős eljárás első fázisában zsírsav-Na sókat képeztünk, majd ezeket - a második fázisban - CaCl_2 -dal $50\text{-}60^\circ\text{C}$ -on Ca-szappanná alakítottuk át. A kész szappant 60°C -on megszáritottuk.

Az *in situ* vizsgálati eljárás során problémát jelent, hogy a Ca-szappanok hidrolíziséből származó zsírsavak többsége nem minden esetben lép ki a zsákocskákból. Különösen sok gonddal jár a magas telítetlen zsírsavhányadú Ca-szappanok vizsgálata. A szappanból szabaddá váló, telítetlen zsírsavak ugyanis a bendő hőmérsékletén olajszerű folyadékok, így a zsákocskák belső felületére rátapadva, annak pórusait eltömik. A zsákocskákban maradt zsírsavak - minthogy vízben nem oldódnak - az inkubációt követő többszöri vizes atmoszával sem távolíthatók el teljesen.

Az *in situ* eljárás említett hátrányai miatt egy, a zsírok bendőbeli lebonthatóságának megállapítására alkalmas *in vitro* eljárás kidolgozására volt szükség. A fejlesztő munka során Tilley és Terry (1963) *in vitro* eljárásából, illetve annak Teveli (1977) által módosított változatából indultunk ki. Tilley és Terry (1963), valamint Teveli (1977, 1978) *in vitro* módszerének az az alapja, hogy a takarmányok bendőbeli lebonthatóságát a bendőből vett inokulum segítségével, 38-39°C-os termosztátban, puffer jelenlétében, 48 órán át tartó inkubálással állapítják meg. 1 térfogatrész bendőfolyadékra 4 térfogatrész puffer jut.

Az általunk alkalmazott pufferoldat összetétele a következő volt:

KH ₂ PO ₄	45,36 g/l
NaCl	4,59 g/l
CaCl ₂	0,20 g/l
MgCl ₂	0,30 g/l

Az oldat pH-értékét a végső térfogatra történő feltöltés előtt, 10 M NaOH-dal 6,75-re, illetve - egy másik kísérletben - 6,25-re állítottuk be. Az így elkészített puffert vízfürdőben 38-40°C-ra melegítettük, miközben

- a levegő kiszorítása céljából - 30 percig CO₂-ot buborékoltattunk át rajta. A gázfolyás kb. 200 buborék/perc volt.

A bendőfolyadékot szűrés után adtuk hozzá a pufferoldathoz. Az inokulum-puffer elegyen újabb 10 percig CO₂-ot buborékoltattunk át, majd a pH-t 10 M NaOH-dal a kívánt értékre (6,75 ill. 6,25) állítottuk vissza.

A Ca-szappanok nem szolgáltatnak energiát és N-t a bendőmikrobák számára, ezért a vizsgált készítményeket könnyen erjeszhető szénhidráttal, valamint N-forrással egészítettük ki. Lombikonként (100 ml-es, szűk szájú Erlenmeyer) 2 g Ca-szappant mértünk be, amelyhez 0,2 g (NH₄)₂SO₄-ot és 0,4 g glükózt adtunk. Az inokulum-puffer elegyből mintánként 50 ml-t használtunk fel. A lombikok lezárása előtt a folyadék fölé CO₂-párnát rétegeztünk. A lezárás módja lehetővé tette, hogy az erjedési gázok eltávozzanak a lombikból. A mintákat az inkubáció ideje alatt naponta 3-4-szer, kézzel összeráztuk. A termosztát hőmérséklete 40°C volt. Valamennyi kezelést 10 ismétlésben állítottuk be.

Az inkubációs idő (48 óra) letelte után a fermentációt lombikonként 0,5 ml 35%-os formaldehid oldat hozzáadásával leállítottuk. Ezt követően a lombikok tartalmát Petri-csészékbe öntöttük át, majd 60°C-on megszárítottuk.

A Ca-szappanokból felszabadult zsírsavak mennyiségét szárítás után, acetonos kioldással határoztuk meg. Az eredményeket korrigáltuk a bendőfolyadék zsírtartalmával, valamint a Ca-szappan "szabad" zsírtartalmával (amely inkubáció nélkül is kioldható a vizsgált szappanból). A bendőfolyadék zsírtartalmát a Ca-szappan nélküli, vak mintákból állapítottuk meg.

2.2.3. Emésztés-élettani alapvizsgálatok bendő- és duodenum kanülözött növendékbikákkal

2.2.3.1. Zsírok hatása a bendőfolyadék összetételére és mikrobiális aktivitására

A zsírok bendőfermentációra gyakorolt hatását három kísérletben vizsgáltuk. Az első kísérletben különböző kémiai formájú zsírok bendőműködésre gyakorolt hatását hasonlítottuk össze. A vizsgálat során először napraforgó zsírsavpárlatból előállított Ca-szappant kaptak az állatok, majd azt követően - a szappan bendőbeli stabilitásának igazolására - ugyanazt a zsírmennyiséget kezeletlen napraforgóolaj formájában adagoltuk.

A második kísérletben eltérő zsírsav-összetételű Ca-szappanok (Profat, módosított zsírsav-összetételű Profat, illetve napraforgó zsírsavpárlatból készült Ca-szappan) bendőfermentációra gyakorolt hatását hasonlítottuk össze. A három vizsgált Ca-szappan közül kettő (Profat és a napraforgó zsírsavpárlatból előállított szappan) jelentős mértékben különbözött egymástól telítetlen zsírsavtartalom tekintetében.

A harmadik kísérlet során nagy telítetlen zsírsavhányadú Ca-szappan hatását vizsgáltuk a bendőfolyadék néhány paraméterére. A kísérlethez felhasznált Ca-szappant 80% lenolajat és 20% len zsírsavkeveréket tartalmazó alapanyagból állítottuk elő.

A kísérleteket 3 bendő- és duodenum kanülözött növendékbikával, szakaszos módszerrel végeztük el. Valamennyi kísérletet egyszer megismételtük. Mindhárom kísérletnek volt egy kontroll szakasza is, amikor az állatok nem részesültek zsírkiegészítésben. A vizsgált zsírkiegészítőket a kontroll takarmányadagon felül, napi két részletben,

kanülön keresztül juttattuk az állatok bendőjébe. Ezzel kizártuk annak lehetőségét, hogy az állat a készítmény egy részét visszahagyja, ami zavarná a kísérlet értékelését. A kiegészítés mértéke minden Ca-szappan esetében napi 800 g volt. Az 1. kísérletben felhasznált Ca-szappan 80% nyerszsírt tartalmazott, így az állatok napi 640 g nyerszsírt vettek fel a Ca-szappannal. Ennek megfelelően a kísérlet következő szakaszában napi 640 g napraforgóolajat adagoltunk. Az olajat a napi abrakadaghoz kevertük hozzá és az olajos abrakkeveréket ugyancsak a bendőkanülön keresztül kapták az állatok.

A kontroll, valamint a kísérleti szakaszok időtartama 4 nap volt. A 4 napos vizsgálati szakaszok között 10 napos átmeneti időszakokat tartottunk. Az etetett zsírféleséghez az átmeneti szakaszokban fokozatosan szoktattuk hozzá az állatokat.

A kontroll és a kísérleti szakaszoknak mind a 4 napján, napi 2 alkalommal - a reggeli etetés előtt, valamint 3 órával az etetést követően - bendőfolyadék mintákat vettünk. Azért, hogy a bendőfolyadék ne veszítsen mikrobiális aktivitásából, a mintákat termoszban szállítottuk a laboratóriumba és azonnal elkezdtük vizsgálatukat. A bendőfolyadéknak a következő paramétereit határoztuk meg: pH-érték, NH₃-tartalom, mikrobiális aktivitás, valamint az egyes illózsírsavak koncentrációja. Az etetés előtt és etetés után vett minták vizsgálati eredményeit külön dolgoztuk fel.

2.2.3.2. Zsírok hatása a nyersrost bendőbeli lebomlására

A zsírkiegészítésnek a nyersrost bendőbeli lebomlására gyakorolt hatását az 1. és 3. kísérlet keretében, 3 bendő- és duodenum kanülözött

állattal vizsgáltuk. A vizsgálatokhoz az állatoktól - a bendőfolyadékön túlmenően - chymus mintákat is vettünk. Chymus gyűjtést a 4 napos vizsgálati szakaszok 2. és 4. napján végeztünk. A gyűjtési napokon 6⁰⁰ és 16⁰⁰ óra között, kétórás időközökkel történt mintavétel. A chymust a laboratóriumban a megfelelő kémiai vizsgálatok (nyersrosttartalom, titántartalom) elvégzéséhez 60°C-on megszáritottuk.

A duodenumon naponta áthaladó chymus mennyiséget jelzőanyag segítségével, Owens és Hanson (1992) módszere szerint határoztuk meg. Jelzőanyagként naponta 60 g TiO₂-ot adagoltunk az állatoknak. Annak érdekében, hogy a napi titánfelvétel - függetlenül a takarmányfelvételtől - azonos legyen, a TiO₂-ot napi 2 részletben (2×30 g), kanülön keresztül közvetlenül a bendőbe juttattuk.

2.2.4. Az üzemi kísérletek metodikája

Első üzemi kísérletünk célja volt, hogy nagy telítetlen zsírsavhányadú Ca-szappan etetésével megnöveljük a tejszír telítetlen zsírsavtartalmát, különös tekintettel az ω -3 zsírsavakra. Vizsgáltuk továbbá, hogy a készítmény etetése milyen hatást gyakorol a tej zsír-, fehérje- és laktóztartalmára.

A kísérlethez felhasznált Ca-szappant 80% lenolajból és 20% len zsírsavkeverékből állítottuk elő, ennek megfelelően zsírsavkészletének több mint 50%-át az ω -3 csoportba tartozó linolénsav tette ki.

A kísérletet csoportos módszerrel végeztük el. Mind a kontroll, mind pedig a kísérleti csoportba 21, holstein-fríz fajtájú tehenet állítottunk be. A csoportok átlagát tekintve a tej összetétele a kísérlet kezdetén közel azonos volt.

A kísérleti csoport tehenei naponta 700 g Ca-szappant vettek fel a tejelőtáppal. Energia- és metabolizálható fehérjeellátásuk hasonló szintű volt, mint a kontroll állatoké. Az előtetetési szakasz 2 hétig, a kísérleti szakasz pedig 5 hétig tartott.

A teheneket naponta 3-szor fejték. A tej összetételének megállapítása céljából a kísérleti szakaszban hetente 2 napon, egyedileg vettünk mintákat a reggeli és esti fejtéskor. A reggel és este vett részmintákból úgy alakítottuk ki a vizsgálatra kerülő mintákat, hogy a reggeli és esti részmintákat egyedenként 60% (reggeli rész minta) és 40% (esti rész minta) arányban egyesítettük. A tejsír zsírsav-összetételének vizsgálatához hetente 3-szor vettünk mintákat a két csoport elegytejéből, az esti fejések alkalmával. A tejminták összetételét az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. (Gödöllő) System-5000 típusú automatával vizsgálta (gyártó: Foss Electric, Hillerød, Dánia), melynek során a tej zsír-, fehérje, és laktóztartalmát határozták meg.

Második üzemi kísérletünk során egy növényolajipari melléktermékből (a napraforgó zsírsavpárlatból) előállított Ca-szappan tejtermelésre, valamint tejösszetételre gyakorolt hatását vizsgáltuk.

A kísérletbe 15, többször ellett holstein-fríz fajtájú tehenet vontunk be, melyek átlagosan a 3. laktációjukat teljesítették. A csoport átlagát tekintve tejtermelésük az előző laktációban 8442 liter volt és a kísérlet indulásakor a folyó laktációnak átlagosan az 55. napján tartottak.

A kísérletet szakaszos módszerrel végeztük. A kontroll és a kísérleti szakasz egyaránt 4 hetes volt. Azért, hogy a laktáció előrehaladásából eredő termeléseszkökenés ne zavarja az eredmények összehasonlíthatóságát, a kontroll szakaszt kettéosztottuk, nevezetesen két

hetet a kísérleti szakasz elé, két hetet pedig azután iktattunk be. Az eredmények értékelése során a két kéthetes kontroll szakasz eredményeit összevontuk és a 4 kontroll hét átlagát hasonlítottuk a 4 kísérleti hét átlagához. A kontroll és a kísérleti szakaszok között 1 hetes átmeneti időszakokat tartottunk.

A kísérleti szakaszban a tehenek naponta 700 g Ca-szappant fogyasztottak a tejelőtáppal. Energia-, valamint metabolizálható fehérjeellátásuk ugyanolyan szintű volt, mint a kontroll szakaszban.

Az állatokat naponta kétszer fejtük. Tejtermelésüket hetente 5 napon, egyedileg mértük. A tej összetételének meghatározásához hetente 2 napon, egyedileg vettünk mintát mind a reggeli, mind pedig az esti tejből. A reggeli és az esti mintákat vizsgálat előtt egyedenként, a kifejt tej literék arányában egyesítettük.

A tej összetételét a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft. (Mosonmagyaróvár) vizsgálta, melynek során a tej zsír-, fehérje-, laktóz-, szárazanyag- és zsírimentes szárazanyag-tartalmát határozták meg.

A vizsgálatokat Milkoscan FT 120 típusú berendezéssel végezték (gyártó: Foss Electric, Hillerød, Dánia).

2.2.5. A kísérletek során alkalmazott kémiai vizsgálati eljárások

Az etetett takarmányok, a Ca-szappanok, valamint a chymus minták kémiai összetételét (szárazanyag, nyersfehérje, nyerszsír, nyersrost, nyershamu, Ca, P) a Magyar Takarmánykódex (1990) 2. kötetében javasolt eljárásokkal határoztuk meg. A Ca-szappanok nyerszsírtartalmát a szárazanyag- és nyershamutartalom alapján számítottuk ki.

A bendőfolyadék pH-értékét OP-211/1 típusú elektromos pH-mérővel, NH_3 -tartalmát pedig OP-264/2 típusú ammónia-érzékeny elektróddal állapítottuk meg. A bendőfolyadék mikrobiális aktivitását a nitritredukciós próbával vizsgáltuk, 3 különböző nitrit-koncentráció esetén (0,025%-os KNO_2 oldatból 0,2; 0,5 illetve 0,7 ml/10 ml bendőfolyadék). Reagensként alfa-naftil-amint használtunk (Horváth, 1979). A bendőfolyadék illózsírsav-tartalmát Chrom-5 típusú gázkromatográfval határoztuk meg. A bendőfolyadékot vizsgálat előtt 15.000/perc fordulatszámon végzett centrifugálással és szűréssel tisztítottuk, majd az injektálást megelőzően 25%-os metafoszforsavval kezeltük. A gázkromatográf oszloptöltete Porapak P gyanta volt. Az azonosításhoz használt vizes standardoldat 0,1% töménységben tartalmazta az illózsírsavakat.

Az etetett zsírkiegészítők zsírsav-összetételét az *in vivo* modell kísérletekben Chrom-5 típusú gázkromatográfval, Chromosorbe W AW oszloptöltettel, az üzemi kísérletekben pedig Agilent 6890N Network típusú gázkromatográfval, Supelco SPTM - 2560 Fused Silica Capillary oszlop segítségével határoztuk meg. A tejsír zsírsav-összetételét szintén az utóbbi berendezéssel vizsgáltuk.

Chrom-5 típusú készüléken történő vizsgálatához a napraforgóolajat metanol, benzol és kénsav 75:25:4 térfogatarányú keverékével észtereztük (MSZ. 19928-73). Ezt követően a mintákat dietil-éter és petroléter 1:1 arányú keverékével rázótolcsérbe mostuk át, majd telített NaCl oldattal savmentesítettük. Ca-szappanok vizsgálatakor a zsírsavakat 5%-os HCl oldatban végzett főzéssel szabadítottuk fel. Ezután a minta előkészítése egyezett a napraforgóolajnál leírtakkal.

Agilent 6890N Network típusú berendezéssel végzett vizsgálathoz a tisztított zsírokat 1 n metanos NaOH oldattal elszappanosítottuk, majd BF_3 -metanollal kezeltük (Lin és mtsai, 1995). Ca-szappanok esetében elszappanosítást nem végeztünk.

Az előkészített vizsgálati anyagot az injektáláshoz mindkét esetben n-hexánban oldottuk fel. A zsírsavak azonosításához összeállított standard zsírsav-metilésztereket tartalmazott hexános oldatban.

A chymus titántartalmát Brandt és Allan (1987) módszere szerint, kénsavas roncsolást követően, Spekol típusú spektrofotométerrel határoztuk meg. A TiO_2 -ből képződő vegyület kénsavas-foszforsavas közegben, H_2O_2 -dal sárga színreakciót ad. A minták fényelnyelését 405 nm hullámhosszon mértük.

2.2.6. Az eredmények statisztikai értékelése

A kísérletek eredményeinek statisztikai értékelését Statistica 6.0, valamint Microsoft Excel programok segítségével végeztük el.

3. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Az elvégzett laboratóriumi mérések, *in situ*, illetve *in vitro* vizsgálatok, bendő- és duodenum kanülözött növendékbikákkal lefolytatott modell kísérletek, valamint üzemi kísérletek eredményei alapján a következő új tudományos eredmények fogalmazhatók meg:

1. Tilley és Terry (1963) *in vitro* módszerének továbbfejlesztésével olyan új vizsgálati eljárás került kidolgozásra, amely alkalmas a Ca-szappanok bendőbeli lebomlásának vizsgálatára. Az alapeljárás módosításának lényege, hogy táplálóanyagokat, nevezetesen $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -ot és glükózt biztosítunk a bendőmikrobák számára, továbbá a fermentációs közeg pH-értékét az optimálisnál (6,9-7,2) alacsonyabbra állítjuk be (6,75 ill. 6,25). Egyes Ca-szappanok bendőbeli stabilitása - különösen a nagy telítetlen zsírsavhányadú készítmények esetében - a továbbfejlesztett eljárással biztonságosabban ítélni lehet, mint az *in situ* módszerrel.
2. Megállapítást nyert, hogy a zsírsavak telítetlensége mellett azok szénlánc hosszúsága is jelentősen befolyásolja a belőlük készült Ca-szappan bendőbeli stabilitását, nevezetesen a rövid szénláncú zsírsavak Ca-szappanjai gyengébb bendőbeli stabilitással rendelkeznek. A C_{14-15} átlagos szénlánc hosszúságú Ca-szappan esetében már nagyobb telített zsírsavtartalomnál is jól megfigyelhető a bendőbeli stabilitás csökkenése.

3. A Ca-szappan előállításának technológiája ugyancsak hatással van a termék bendőbeli stabilitására. Azonos zsírsav-összetétel esetén az egylépcsős gyártási technológiával készült Ca-szappan – eltérő fizikai tulajdonságainak következtében – a bendőben uralkodó körülmények között stabilabb, mint a kétlépcsős módszerrel előállított termék.
4. A növényolajiparban melléktermékként keletkező napraforgó zsírsavpárlatból kielégítő bendőbeli stabilitású Ca-szappan állítható elő, amely a szokásosnál nagyobb (800 g/nap) adagban etetve is csak minimális mértékben zavarja a bendőfermentációt. A készítmény etetése gyakorlatilag nincs hatással a nyersrost bendőbeli lebomlására. A napraforgó zsírsavpárlatból előállított Ca-szappan jó eredménnyel használható fel a tejlő tehének takarmányozásában, a laktáció során fellépő energiahiány pótlására. A készítmény etetése kedvezően befolyásolja a tejszír zsírsav-összetételét, hiszen megnöveli a tejszírban a telítetlen zsírsavak részarányát a közepes lánchosszúságú, telített zsírsavak rovására.
5. Nagy linolénsav-tartalmú Ca-szappan etetésével több mint kétszeresére növelhető a tejszír linolénsav (ω -3) tartalma. Ennek következtében szűkül a linolsav - linolénsav arány a tejben, amely változás humán táplálkozás-élettani szempontból igen kedvező. Ilyen szappan etetésekor azonban számítani kell a transz-zsírsavak megjelenésére a tejszírban, melyek egyrészt rontják a tej táplálkozás-biológiai értékét, másrészt csökkenthetik annak zsírtartalmát.

4. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL KÉSZÜLT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

1. Ribács A. (2000): A zsírok hatása a bendő működésére és lebonthatóságuk vizsgálata in vitro módszerrel. Takarmányozástani Tanszékek Országos Szakmai Konferenciája, Budapest, jún. 8.
2. Ribács A. (2002): Növényolajipari melléktermékből előállított Ca-szappan hatása a bendőfermentációra. 13. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Hajdúszoboszló, okt. 10-12., 31-36.
3. Ribács A. - Schmidt J. (2003): Növényolajipari melléktermékből előállított Ca-szappan hatása a bendőfermentációra. Állattenyésztés és Takarmányozás, 52 (6) 567-579.
4. Ribács A. (2003): Különböző zsírsav-összetételű Ca-szappanok hatása a bendőműködésre. 14. Magyar Buiatrikus Kongresszus, Keszthely, okt. 9-11., 106-114.
5. Ribács A. - Schmidt J. (2004): Különböző kémiai formájú zsírok hatása a nyersrost bendőbeli lebomlására. XXX. Óvári Tudományos Napok, Mosonmagyaróvár, okt. 7., 90.
6. Ribács A. (2005): Növényolajipari melléktermékből előállított Ca-szappan felhasználása tejelő tehének takarmányozásában. Állattenyésztés és Takarmányozás, 54 (2) 159-170.

7. Ribács, A. - Schmidt, J. (2005): Einfluss von Fetten mit unterschiedlicher chemischer Form auf den Abbau der Rohfaser im Pansen und auf einige Parameter der Pansenflüssigkeit. Acta Agronomica Óváriensis, Megjelenés alatt.