

PRIMERJAVA DVEH METOD ZA DOLOČANJE VSEBNOSTI VLAKNINE V VOLUMINOZNI KRMI *

Andrej LAVRENČIČ^{a)}, Andrej OREŠNIK^{b)} in Andreja BRANK^{c)}

^{a)} Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Odd. za zootehniko, Groblje 3, SI-1230 Domžale, Slovenija, doc., dr.,
e-pošta: andrej.lavrencic@bfro.uni-lj.si.

^{b)} Isti naslov kot ^{a)}, prof., dr.

^{c)} Kranjska pot 9, SI-1218 Komenda, Slovenija.

Delo je prispelo 10. septembra 2003, sprejeto 05. decembra 2003.

Received September 10, 2003, accepted December 05, 2003.

IZVLEČEK

V 76 vzorcih mnogocvetne ljujke, trpežne ljujke, mačjega repa in črne detelje, košenih v različnih fazah morfološkega razvoja, smo določili vsebnost surove vlaknine (SV) po metodi Naumann in Bassler (1976) ter vsebnosti v nevtralnem detergentu netopne vlaknine (NDV), v kislem detergentu netopne vlaknine (KDV) in v kislem detergentu netopnega lignina (KDL) po metodi Goering in Van Soest (1970). Vsebnosti SV, NDV, KDV in KDL v teh vzorcih smo določili tudi s pomočjo filtrskih vrečk in jih označili kot SV_{FV} , NDV_{FV} , KDV_{FV} in KDL_{FV} . Za razliko od trav, kjer so bile razlike med vsebnostmi NDV in NDV_{FV} , KDV in KDV_{FV} ter KDL in KDL_{FV} majhne (v povprečju največ 20 g kg⁻¹ SS med vsebnostma KDV in KDV_{FV} pri trpežni ljujki), smo pri črni detelji ugotovili velike razlike med vsebnostmi NDV in NDV_{FV} (v povprečju 46 g kg⁻¹ SS), KDV in KDV_{FV} (v povprečju 66 g kg⁻¹ SS) ter KDL in KDL_{FV} (v povprečju 35 g kg⁻¹ SS). Med vsebnostmi SV in SV_{FV} tako pri travah kot pri detelji tako velikih razlik ni bilo (v povprečju je bila največja razlika 17 g kg⁻¹ SS pri črni detelji). Če smo vzorce črne detelje pred določanjem vsebnosti NDV_{FV} , KDV_{FV} in KDL_{FV} sprali z acetonom ($acNDV_{FV}$, $acKDV_{FV}$ in $acKDL_{FV}$), smo ugotovili, da se razlike v vsebnosti med njimi in vsebnostmi NDV, KDV in KDL močno zmanjšajo (v povprečju na 15, 17 oz. 5 g kg⁻¹ SS). Stopnjo povezanosti med vsebnostmi SV, NDV, KDV in KDL ter vsebnostmi vlaknine v vzorcih, ki smo jih določili s pomočjo filtrskih vrečk, smo ugotavljali s koeficientom determinacije (R^2) in standardno napako ocene (SEE). Najboljše ocene vsebnosti SV ($R^2 = 0,89$, SEE = 1,73), NDV ($R^2 = 0,98$, SEE = 1,73), KDV ($R^2 = 0,90$, SEE = 1,73) in KDL ($R^2 = 0,69$, SEE = 1,73) smo dosegli, ko smo v enačbe kot posamezne odvisne spremenljivke vključili SV_{FV} , NDV_{FV} , KDV_{FV} in KDL_{FV} trav ter SV_{FV} , $acNDV_{FV}$, $acKDV_{FV}$ in $acKDL_{FV}$ detelj. Rezultati so pokazali, da je metoda s filtrskimi vrečkami je primerna za določanje vsebnosti SV, NDV in KDV, ne pa tudi za določanje vsebnosti KDL.

Ključne besede: prehrana živali / voluminozna krma / trave / črna detelja / vlaknina / določanje / metode / metoda s filtrskimi vrečkami / primerjava

* Podatki, ki so predstavljeni v tem prispevku, so iz diplomske naloge Andreje Brank 'Primerjava dveh metod za določanje vsebnosti vlaknine', mentor doc. dr. Andrej Lavrenčič in somentor prof. dr. Andrej Orešnik.

COMPARISON OF TWO METHODS FOR FIBRE CONTENTS DETERMINATION IN FORAGES *

ABSTRACT

In 76 samples of Italian ryegrass, perennial ryegrass, timothy and red clover, harvested in different morphological stages, the crude fibre (CF) content was determined according to the method of Naumann and Bassler (1976) and neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) were determined according to the methods of Goering and Van Soest (1970). CF, NDF, ADF and ADL contents of the same samples were also determined with the use of filter bags and labelled as CF_{FB}, NDF_{FB}, ADF_{FB} and ADL_{FB}. In contrast to grasses, where the differences between NDF and NDF_{FB}, ADF and ADF_{FB} and ADL and ADL_{FB} were small (in average the largest difference was 20 g kg⁻¹ DM between ADF and ADF_{FB} in perennial ryegrass), the differences between NDF and NDF_{FB}, ADF and ADF_{FB}, ADL and ADL_{FB} contents in red clover were large (in average 46, 66 and 35 g kg⁻¹ DM, respectively). The differences between CF and CF_{FB} contents in grasses and red clover were not so large (in average the largest difference was 17 g kg⁻¹ DM in red clover). If the samples of red clover were rinsed with acetone before NDF_{FB}, ADF_{FB} and ADL_{FB} contents determination (acNDF_{FB}, acADF_{FB} and acADL_{FB}) the differences between them and NDF, ADF and ADL contents greatly diminished (in average to 15, 17 and 5 g kg⁻¹ DM, respectively). The accuracy of the relationship between CF, NDF, ADF and ADL contents and fibre contents determined with the filter bags was measured with the coefficient of determination (R²) in standard error of the estimate (SEE). The best predictions for CF (R² = 0.89, SEE = 1.73), NDF (R² = 0.98, SEE = 1.73), ADF (R² = 0.90, SEE = 1.73) and ADL (R² = 0.69, SEE = 1.73) contents were those which contained as a single dependent variable CF_{FB}, NDF_{FB}, ADF_{FB} and ADL_{FB} of grasses and CF_{FB}, acNDF_{FB}, acADF_{FB} and acADL_{FB} of red clover. Results showed that the filter bag method is convenient for the determination of the CF, NDF and ADF contents, but is less suitable for the determination of ADF content.

Key words: animal nutrition / forages / grasses / red clover / fiber / determination / methods / filter bag method / comparison

UVOD

V prehrani rastlinojedih živali, predvsem prežvekovalcev, ima voluminozna krma velik pomen. Hranilno vrednost voluminozne krme določata predvsem vsebnost in fizikalno kemične lastnosti vlaknine. Za prežvekovalce je značilno, da izkoriščajo simbiozo z mikroorganizmi v predželodcih za oskrbo s hranljivimi snovmi. Prevelika količina vlaknine v obroku omejuje prebavljivost oz. razgradljivost obroka, zaradi česar živali ne uspejo pokrivati potreb po energiji. Prav tako pa prevelika količina vlaknine v obroku zmanjšuje zauživanje krme, saj se tak obrok zaradi počasnejše razgradnje v predželodcih dlje časa zadržuje v prebavilih. Posledica manjše razgradljivosti in manjšega zauživanja krme je slabša oskrbljenost živali s hranljivimi snovmi ter s tem tudi manjša prireja mleka, mesa in volne (Orešnik in Lavrenčič, 1999). Premajhna količine vlaknine v obroku prizadene delovanje predželodcev in na splošno prebavnega trakta, vpliva pa tudi na čas prežvekovanja in s tem na izločanje sline, od katere je odvisen pH v predželodcih. Nizek pH v predželodcih vpliva na razmnoževanje in razvoj mikroorganizmov, ki predstavljajo

* The data presented in this paper originates from graduation thesis of Andreja Brank 'Comparison of two methods for fibre determination', supervisor ass. prof. Andrej Lavrenčič, cosupervisor prof. Andrej Orešnik.

poglavitni vir hranljivih snovi (beljakovin) v prehrani prežvekovalcev (Orešnik in Lavrenčič, 1999). Tudi pri neprežvekovalcih prevelike količine vlaknine omejujejo prebavljivost drugih hranljivih snovi, premajhne količine vlaknine pa ne stimulirajo delovanja prebavnega trakta teh živali (Orešnik in Lavrenčič, 1999).

Vsebnost vlaknine smo dolga leta določali v sklopu Weendske analize kot surovo vlaknino. Metoda ima določene prednosti in pomanjkljivosti. Ena od prednosti je, da smo od leta 1860, ko je bila vpeljana Weendska analiza, analizirali že veliko število vzorcev. Poleg tega pa kot prednosti lahko upoštevamo še ponovljivost in relativna enostavnost, saj delovni postopki niso zelo zapleteni. Vendar pa ima metoda tudi nekaj pomanjkljivosti, pri čemer prevladuje delitev ogljikovih hidratov na surovo vlaknino in brezdušični izvleček. Prav slednji je včasih slabše prebavljiv kot sama surova vlaknina (Giger-Reverdin, 1995). To je bil tudi povod, da so Van Soest in sod. (1967) ter Goering in Van Soest (1970) uvedli metode za določanje vlaknine, ki temeljijo na uporabi detergentov kot sta natrijev dodecil (ali lauril) sulfat in cetiltrimetil amonijev bromid. Z njuno uporabo ter z uporabo žveplove (VI) kisline, vlaknino razdelimo na tri skupine snovi: na vlaknino, netopno v nevtralnem detergentu, na vlaknino, netopno v kislem detergentu in na lignin, netopen v kislem detergentu. Te metode so sčasoma postale osrednje metode za določanje vsebnosti vlaknine v krmi za prežvekovalce. Pri določanju vlaknine, netopne v nevtralnem detergentu, v vzorcih močnih krmil moramo biti pazljivi, saj z nevtralnem detergentom ne odstranimo vsega škroba, pektinskih snovi, beljakovin in lahko topnih sladkorjev. Zato Van Soest in sod. (1991) opisujejo številne modifikacije te metode (uporaba encimov, poprejšnje odstranjevanje maščob ...), zaradi česar metoda (še vedno) ni standardizirana, čeprav jo pogosto uporabljamo. Določitev v kislem detergentu netopne vlaknine je bila prvotno prvi korak v pripravi vzorca za določanje lignina, lahko pa jo uporabimo kot izhodišče za določanje dušika, netopnega v kislem detergentu, organskih silicijevih spojin in pepela, netopnega v kislem detergentu (Van Soest in sod. 1991). Vsebnosti surove vlaknine so dobro povezane z vsebnostmi v kislem detergentu netopne vlaknine. Ker pa je za določitev vsebnosti surove vlaknine potrebnih veliko število rokovanj z vzorci in se zaradi tega podaljša čas in zmanjša točnost določitve, je določanje vsebnosti v kislem detergentu netopne vlaknine čedalje pogostejše (Giger-Reverdin, 1995). Poleg tega pa je vsebnost v kislem detergentu netopne vlaknine bolj povezana s prebavljivostjo suhe snovi kot vsebnost surove vlaknine (Giger-Reverdin, 1995). Lignin je pomembna sestavina krme saj je od njegove vsebnosti odvisna razgradljivost vlaknine in posredno tudi suhe snovi. Za določanje lignina poznamo veliko število različnih metod, izmed katerih pa se je uveljavilo predvsem raztapljanje v kislem detergentu netopne vlaknine s 72 % žveplovo (VI) kislino.

Določanje surove vlaknine po metodi, kot jo opisujeta Naumann in Bassler (1976), oz. vlaknine z uporabo detergentov (vlaknine, netopne v nevtralnem detergentu, vlaknine, netopne v kislem detergentu in lignin, netopen v kislem detergentu) po metodah, ko jih opisujeta Goering in Van Soest (1970) je zamudno in zahteva dobro usposobljeno laboratorijsko osebje, saj je veliko neposrednega rokovanja z vzorci. Zato je v začetku 90. let prejšnjega stoletja ameriško podjetje ANKOM, kot alternativo tem metodam, razvilo (pol)avtomatsko metodo določanja vlaknine s pomočjo filtrskih vrečk, s katerimi se vpliv laboratorijskega osebja (rokovanja z vzorci) zmanjša, sama analiza pa se časovno skrajša in zato poceni. Ker je obenem mogoče analizirati večje število vzorcev naenkrat, ta metoda izboljša tudi učinkovitost postopka. Z uporabo filtrskih vrečk za določanje vlaknine lahko poenostavimo nekatere analize, predvsem analize na vsebnost dušika, netopnega v kislem detergentu, ki ga potrebujemo za izračun prebavljivosti nerazgradljivih beljakovin v sistemu za ocenjevanje oskrbljenosti prežvekovalcev s presnovljivimi beljakovinami. S filtrskimi vrečkami pa lahko opravljamo tudi zaporedno analizo vzorcev na vsebnost »detergentske« vlaknine, s katero se znebimo nekaterih pomanjkljivosti neposrednih analiz, omogoča pa nam tudi ocenjevanje vsebnosti kondenziranih taninov (Goering in Van Soest, 1970).

Namen raziskave je bil primerjati »klasične« metode za določanje vsebnosti surove vlaknine (Naumann in Bassler, 1976) oz. »detergentske« vlaknine (Goering in Van Soest, 1970) z metodami, pri katerih uporabimo filtrske vrečke. Te metode so številni raziskovalci (Jung, 1991; Komarek in sod., 1994; Spanghero in sod., 1997; Vogel in sod., 1999) že primerjali, vendar so pri teh analizah vedno uporabili aparat Fiber analyser (ANKOM Corp, Fairport, ZDA), medtem ko v naši raziskavi tega aparata nismo uporabljali.

MATERIAL IN METODE DELA

Vzorci voluminozne krme

V poskusu smo analizirali 76 vzorcev voluminozne krme, ki smo jih kosili v letih 1997 in 1999 na površinah Kmetijskega Inštituta Slovenije in Centra za razvoj kmetijstva in podeželja Jable. Vzorci voluminozne krme so bili spravljani kot čisti posevki mnogocvetne ljuljke cv. Tetraflorum, mačjega repa cv. Krim, trpežne ljuljke cv. Ilirka in črne detelje cv. Poljanka. Trave in deteljo smo kosili največ štirikrat med aprilom in oktobrom, pri tem pa smo ob vsaki košnji zbrali vzorce v bilčenju, latenju oz. klasenju in cvetenju.

Priprava vzorcev in kemijske analize

Pokošene vzorce smo za najmanj sedem dni shranili v zamrzovalno komoro pri temperaturi -21 °C. Dan pred začetkom sušenja smo vzorce vzeli iz komore, jih odtalili in posušili pri temperaturi nižji od 50 °C. Posušene vzorce smo zmleli do velikosti delcev 1 mm in jih shranili pri sobni temperaturi.

Vsebnost vlage in surove vlaknine smo določali po metodi, ki sta jo opisala Naumann in Bassler (1976). Vsebnosti vlaknine, netopne v nevtralnem detergentu (NDV), vlaknine, netopne v kislem detergentu (KDV) in lignina, netopnega v kislem detergentu (KDL) smo določili po metodi ki jo opisujeta Goering in Van Soest (1970).

Vsebnosti surove vlaknine, v nevtralnem in v kislem detergentu netopne vlaknine ter v kislem detergentu netopnega lignina smo določili tudi z uporabo filtrskih vrečk (#F57; ANKOM Corp., Fairport, ZDA) in jih označili kot SV_{FV} , NDV_{FV} , KDV_{FV} in KDL_{FV} . V vrečke smo zatehtali 0,8 g ($\pm 0,05$ g) vzorca. Vrečke smo toplotno zavarili, ter vsebino vrečk s tresenjem porazdelili po celotni površini. V vsako čašo prostornine 400 ml smo položili kovinsko mrežico, s čimer smo preprečili sprijemanje vrečk z segretim dnom čaše. Na mrežico smo položili dve filtrski vrečki, jih obtežili z dodatno kovinsko mrežico, ter dolili 100 ml reagenta. Čašo smo nato postavili na kuhalnik, vsebino segreli do vrelišča. Pri določanju surove vlaknine smo vrečke najprej 30 minut kuhali v 1,25 M H_2SO_4 , nato pa še 30 minut v 1,25 M KOH, tako kot to navajata (Naumann in Bassler, 1976). Pri določanju NDV in KDV smo vrečke kuhali 60 minut (Goering in Van Soest, 1970). Med kuhanjem smo vrečke občasno potisnili na dno čaš, saj se je v njih na začetku ujel zrak, in so kljub obtežitvi splavale proti površju. V vsaki seriji smo z istimi reagenti obdelali še dve prazni vrečki, da bi ugotovili izgubo mase filtrskih vrečk in izračunali korekcijski faktor. Po obdelavi z reagenti smo vrečke najprej sprali z vročo vodo ter nato še z acetonom in nato še enkrat z vročo vodo. Vrečke z ostanki vzorca smo posušili pri temperaturi 105 °C do konstantne mase. V ostankih vzorcev za določitev SV_{FV} smo določili še vsebnosti surovega pepela.

Pri pripravi vzorcev za določitev SV_{FV} , NDV_{FV} , KDV_{FV} in KDL_{FV} smo pred obdelavo z reagenti vzorce črne detelje sprali z acetonom, saj smo ugotovili, da spiranje z acetonom močno vpliva na rezultate. Te vsebnosti smo označili kot $acSV_{FV}$, $acNDV_{FV}$, $acKDV_{FV}$ in $acKDL_{FV}$.

Statistična obdelava

Razlike med vsebnostmi SV, NDV, KDV in KDL ter ostalimi metodami za določanje vlaknine (SV_{FV} , NDV_{FV} , KDV_{FV} in KDL_{FV} , ter $acSV_{FV}$, $acNDV_{FV}$, $acKDV_{FV}$ in $acKDL_{FV}$) smo izračunali po metodi parov, kjer smo določili povprečno razliko (\bar{d}), za katero smo izračunali tudi standardni odklon (s_d) in povprečno absolutno odstopanje (PAR). Izračunali smo linearne regresijske premice med vsebnostjo SV in SV_{FV} , NDV in NDV_{FV} , KDV in KDV_{FV} ter KDL in KDL_{FV} . V linearne regresijske enačbe smo vključili tudi podatke o vsebnosti vlaknine za črno deteljo, katero smo pred obdelavo z reagenti sprali z acetonom. Pri posamezni premici smo preverili, če se naklon razlikuje od 1 ($H_0: \beta = 1$) in če se odsek na osi y razlikuje od 0 ($H_0: \alpha = 0$). Statistično analizo in izračun regresijski enačb smo opravili s statističnim paketom SAS/STAT (SAS/STAT, 1994).

REZULTATI IN DISKUSIJA

Značilnosti vzorcev

Pri obravnavanih vzorcih trav in detelje (pregl. 1) se je vsebnost surove vlaknine gibala od 163 (črna detelja) do 375 g kg⁻¹ SS (mnogocvetna ljujka), vsebnost v nevtralnem detergentu netopne vlaknine (NDV) od 308 (črna detelja) do 703 g kg⁻¹ SS (mačji rep), vsebnost KDV od 209 (črna detelja) do 405 g kg⁻¹ SS (trpežna ljujka) in vsebnost KDL od 13 (trpežna ljujka) do 74 g kg⁻¹ SS (črna detelja).

Vsebnosti SV so bile pri vseh vzorcih voluminozne krme, ki smo jih analizirali, večje od tistih, ki jih navajajo DLG (1997) preglednice za enake faze morfološkega razvoja, le pri vzorcih trav prve košnje v fazi bilčenja, so bile vsebnosti SV podobne tistim, ki jih navajajo DLG (1997) preglednice in Schubiger in sod. (1997a, 1997b).

Za vsebnosti NDV pri naših vzorcih velja, da so te vsebnosti za črno deteljo, mačji rep in trpežno ljujko vedno večje od tistih, ki jih za podobne faze morfološkega razvoja navajajo Hoffman in sod. (1993). Tudi vsebnosti NDV, ki sta jih določila Lavrenčič in Stefanon (2001) za črno deteljo, košeno štirikrat v brstenju, in mnogocvetno ljujko, košeno štirikrat v bilčenju, so bile manjše od vsebnosti NDV, ki smo ji določili v tej raziskavi.

Podobno kot za vsebnost NDV velja tudi za vsebnost KDV. Vsebnosti KDV pri črni detelji, mačjemu repu in trpežni ljujki so bile vedno večje od tistih, ki jih za podobne morfološke faze razvoja navajajo Hoffman in sod. (1993) in Lavrenčič in Stefanon (2001) za črno deteljo in mnogocvetno ljujko v fazi pred brstenjem oz. bilčenja.

Za razliko od vsebnosti NDV in KDV pa Hoffman in sod. (1993) navajajo za vsebnosti KDL pri črni detelji, mačjemu repu in trpežni ljujki večje vsebnosti kot smo jih za enake faze morfološkega razvoja določili v naši raziskavi, medtem ko za mnogocvetno ljujko Lavrenčič in Stefanon (2001) navajata manjše vsebnosti.

Vse te razlike v vsebnosti vlaknine in njenih frakcij lahko pripišemo razlikam v pedoloških, klimatskih in vremenskih razmerah v obdobju rasti trav in detelj, ki so jih proučevali različni raziskovalci.

Primerjava metod za določanje vsebnosti vlaknine

V preglednicah 2 in 3 ter grafikonih 1, 2, 3 in 4 prikazujemo vsebnosti vlaknine, ki smo jih ocenili s filtrskimi vrečkami in njihova odstopanja od vlaknine dobljene po uradnih metodah (SV po Naumann in Bassler, 1976; NDV, KDV in KDL po Goering in Van Soest, 1970). V grafikonih 1, 2, 3 in 4 podajamo le tisto regresijsko premico, s katero smo najbolj zanesljivo

(koeficient determinacije (R^2) in standardna napaka ocene SEE)) napovedali vsebnost vlaknine (SV, NDV, KDV ali KDL) v celotnem nizu vzorcev.

Preglednica 1. Vsebnosti SV, NDV, KDV in KDL (g kg^{-1} SS) v vzorcih trav in črne detelje
Table 1. Contents of CF, NDF, ADF and ADL (g kg^{-1} DM) in grass and red clover samples

	Črna detelja Red clover	Mnogocvetna ljudjka Italian ryegrass	Mačji rep Timothy	Trpežna ljudjka Perennial ryegrass
n	19	28	13	16
	Surova vlaknina / Crude fiber			
Povprečje / Average	226	292	294	282
SD	40	44	48	42
Največ / Maximum	293	375	364	368
Najmanj / Minimum	163	218	219	209
	NDV / NDF			
Povprečje / Average	428	558	632	582
SD	42	58	47	69
Največ / Maximum	493	662	703	678
Najmanj / Minimum	308	458	549	415
	KDV / ADF			
Povprečje / Average	290	323	350	323
SD	46	47	42	48
Največ / Maximum	382	403	264	405
Najmanj / Minimum	209	241	264	223
	KDL / ADL			
Povprečje / Average	44	30	44	31
SD	13	11	15	9
Največ / Maximum	74	55	58	45
Najmanj / Minimum	20	15	24	13

n = število vzorcev/ number of samples; SD = standardni odklon/ standard deviation

Vsebnosti SV_{FV} so bile pri vseh analiziranih vzorcih večje od vsebnosti SV. Največja odstopanja smo ugotovili pri deteljah, saj so v povprečju vsebnosti SV_{FV} odstopale za $-17 (\pm 14) \text{ g kg}^{-1}$ SS (7,5 %); tudi vsebnost $acSV_{FV}$ pri deteljah je bila večja od vsebnosti SV za 8 g kg^{-1} SS (3,5 %). Vzrok za nekoliko manjše vsebnosti SV glede na vsebnosti SV_{FV} oz. $acSV_{FV}$ je lahko v tem, da razredčena kislina ($1,25 \text{ M H}_2\text{SO}_4$) in nato razredčen lug ($1,25 \text{ M KOH}$) ne prodreta skozi pore vrečk do celotne količine vzorca enakomerno, kar lahko preprečujejo netopni delci vzorca. Ti netopni delci pa lahko preprečujejo tudi prehod raztopljenega dela vzorca do in skozi pore vrečke.

Najbolje smo vsebnost SV napovedali, ko smo v niz podatkov vključili vzorce trav in detelj pripravljenih s filtrskimi vrečkami, pri tem pa vzorcev črne detelje nismo spirali z acetonom ($R^2 = 0,89$, $SEE = 1,73$; enačba 1 v pregl. 3, grafikon 1). Ta regresijska premica ima naklon statistično značilno manjši od 1 ($\beta \neq 1$; $P < 0,01$), odsek na osi y pa je večji od 20 g kg^{-1} SS, ki pa ni statistično značilno različen od 0 ($\alpha = 0$; $P > 0,05$). Ker je naklon premice nekoliko manjši od 1, odsek na osi y pa ne zelo različen od 0, se pri vzorcih detelje in trav boljše kakovosti vsebnosti SV in SV_{FV} ne razlikujejo, medtem ko je pri manj kakovostnih vzorcih vsebnost SV (vzorcih z veliko vsebnostjo SV) nekoliko podcenjena.

Preglednica 2. Povprečne vsebnosti SV, NDV, KDV in KDL (g kg^{-1} SS) določene na podlagi različnih metod ter odstopanja med njimi

Table 2. Average contents of CF, NDF, ADF and ADL (g kg^{-1} DM) determined with different methods and deviations between them

	Povprečje Average	đ	sd	Največ Maximum	PAR	p =
Črna detelja / Red clover (n = 19)						
SV / CF	226					
SVFV / CFFB	243	-17	14	8	17	<0,0001
acSVFV / acCFFB	234	-12	18	8	16	0,0060
NDV / NDF	428					
NDVFV / NDFFB	474	-46	27	6	47	<0,0001
acNDVFV / acNDFFB	443	-15	17	4	16	0,0008
KDV / ADL	290					
KDVFV / ADLFB	356	-66	28	-30	66	<0,0001
acKDVFV / acADLFB	307	-17	22	18	21	0,0033
KDL / ADL	44					
KDLFV / ADLFB	79	-35	14	-16	34	<0,0001
acKDLFV / acADLFB	49	-5	7	7	6	0,0066
Mnogocvetna ljujka / Italian ryegrass (n = 19)						
SV / CF	292					
SVFV / CFFB	298	-6	22	53	17	0,1572
NDV / NDF	558					
NDVFV / NDFFB	561	-3	13	23	10	0,1689
KDV / ADL	323					
KDVFV / ADLFB	339	-16	13	5	17	<0,0001
KDL / ADL	30					
KDLFV / ADLFB	41	-11	11	2	11	<0,0001
Mačji rep / Timothy (n = 13)						
SV / CF	294					
SVFV / CFFB	307	-13	11	5	14	0,0011
NDV / NDF	632					
NDVFV / NDFFB	620	12	9	27	13	0,0002
KDV / ADL	350					
KDVFV / ADLFB	363	-13	11	10	15	0,0010
KDL / ADL	44					
KDLFV / ADLFB	49	-5	8	9	9	0,0286
Trpežna ljujka / Perennial ryegrass (n = 16)						
SV / CF	282					
SVFV / CFFB	297	-15	15	-48	18	0,0012
NDV / NDF	582					
NDVFV / NDFFB	574	8	12	26	12	0,0192
KDV / ADL	323					
KDVFV / ADLFB	343	-20	13	-1	20	<0,0001
KDL / ADL	40					
KDLFV / ADLFB	31	-9	9	2	10	0,0005

đ = povprečna razlika / average difference; sd = standardni odklon razlik / standard deviation of difference; PAR = povprečje absolutnih posamičnih odstopanj vsebnosti SV, NDV, KDV in KDL od vsebnosti SV, NDV, KDV in KDL, dobljenih s filtrskimi vrečkami / average of absolute individual deviations of CF, NDF, ADF and ADL contents from CF, NDF, ADF and ADL contents obtained with filter bags

Preglednica 3. Regresijske enačbe za napovedovanje vsebnosti vlaknine (SV, NDV, KDV oz. KDL) na podlagi vsebnosti vlaknine, določene s filtrskimi vrečkami

Table 3. Regression equations for prediction of fibre contents (CF, NDF, ADF or ADL) on the basis of the fibre contents, determined with filter bags

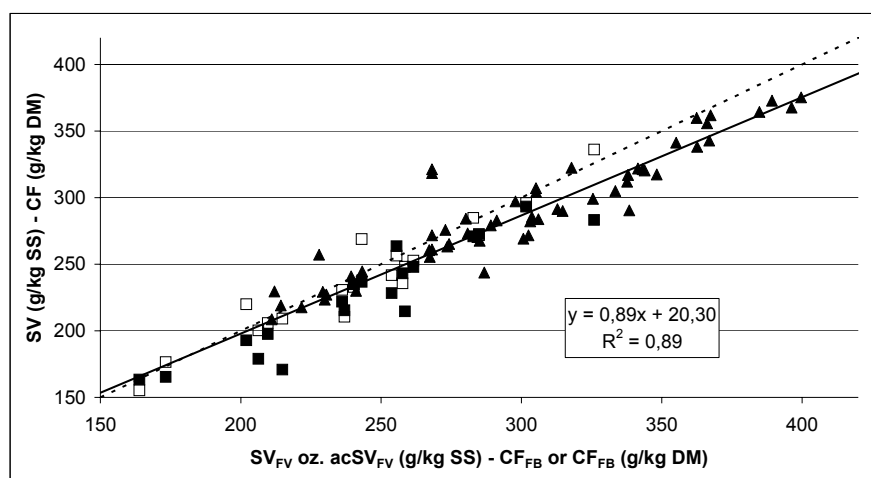
Št. No.	Neodvisna spremenljivka (x) Independent variable (x)	Odvisna spremenljivka (y) Dependent variable (y)	Enačba Equation	R ²	SEE
1	$SV_{FV}(t)^\dagger / CF_{FB}(g)^\dagger$ $SV_{FV}(d)^\dagger / CF_{FB}(c)^\dagger$	SV / CF	$20,30 + 0,89x$	0,89	1,73
2	$SV_{FV}(t) / CF_{FB}(g)$ $acSV_{FV}(d) / acCF_{FB}(c)$	SV / CF	$26,23 + 0,87x$	0,89	1,92
3	$NDV_{FV}(t) / NDF_{FB}(g)$ $NDV_{FV}(d) / NDF_{FB}(c)$	NDV / NDF	$-138,83 + 1,23x$	0,94	2,63
4	$NDV_{FV}(t) / NDF_{FB}(g)$ $acNDV_{FV}(d) / acNDF_{FB}(c)$	NDV / NDF	$-59,25 + 1,11x$	0,98	1,62
5	$KDV_{FV}(t) / ADF_{FB}(g)$ $ADV_{FV}(d) / ADF_{FB}(c)$	KDV / ADF	$5,87 + 0,90x$	0,70	3,19
6	$ADV_{FV}(t) / ADF_{FB}(g)$ $acADV_{FV}(d) / acADF_{FB}(c)$	KDV / ADF	$-9,83 + 0,98x$	0,90	1,80
7	$KDL_{FV}(t) / ADL_{FB}(g)$ $KDL_{FV}(d) / ADL_{FB}(c)$	KDL / ADL	$13,56 + 0,44x$	0,62	0,94
8	$KDL_{FV}(t) / ADL_{FB}(g)$ $acKDL_{FV}(d) / acADL_{FB}(c)$	KDL / ADL	$7,34 + 0,65x$	0,69	0,84

[†] = vsebnost vlaknine v travah (t) in deteljah (d) / contents of fiber in grasses (g) and clovers (c); SEE = standardna napaka ocene / standard error of the estimate

Spiranje vzorcev črne detelje pred obdelavo ne izboljša točnosti ocene vsebnosti SV; koeficient determinacije (R²) je ostal nespremenjen, nekoliko pa se je povečala standardna napaka ocene (SEE = 1,92; enačba 2). V literaturi nismo zasledili raziskav, ki bi obravnavale povezave med vsebnostjo SV in SV_{FV} oz. acSV_{FV}, kar je najverjetneje posledica dejstva, da se določanje vsebnosti SV zaradi številnih pomanjkljivosti počasi, toda zanesljivo umika drugim oblikam določanja vlaknine, kot so NDV, KDV in KDL (Giger-Reverdin, 1995; Van Soest in Robertson, 1985). Kljub temu pa je vsebnost SV potrebno določiti, če želimo izračunati vsebnosti presnovljive energije in neto energije za laktacijo v krmi (Babnik in Verbič, 2000; Babnik in sod., 2001).

Tudi v vsebnosti NDV je najbolj odstopala črna detelja, saj so v povprečju vsebnosti NDV_{FV} odstopale za od vsebnost NDV za 46 (± 27) g kg⁻¹ SS (10,7 %). Vsebnost NDV je bila pri vzorcih črne detelje manjša tudi od vsebnosti acNDV_{FV}, vendar samo za 3,5 % (pregl. 2). Pri mačjem repu in trpežni ljuljki so bile vsebnosti NDV večje od vsebnosti NDV_{FV} za 1,9 (povprečno za 12 g kg⁻¹ SS pri mačjem repu) oz. 1,4 % (v povprečju za 8 g kg⁻¹ SS), medtem ko pri mnogocvetni ljuljki razlike med vsebnostjo NDV in NDV_{FV} praktično ni bilo (povprečno za 3 g kg⁻¹ SS oz. 0,5 %). S spiranjem črne detelje z acetonom smo verjetno odstranili snovi, ki se nalagajo v porah vrečk in tako preprečujejo prehod detergenta do substrata oz. prehod raztopljenih delcev iz vrečk. Do podobnih ugotovitev je prišel tudi Kelley (2001), ki je s spiranjem listov tropskih dreves z acetonom zmanjšal razlike med NDV in NDV_{FV}. Njegov opis površine vrečk (na površini je bila prosojna in zdrizasta plast) je odgovarjal tudi izgledu naših vrečk, zato predvidevamo, da bi razlike v vsebnostih NDV in NDV_{FV} lahko bile posledica nalaganja pektinskih snovi v pore vrečk. Pektinske snovi v nevtralnem detergentu nabreknejo (Robertson in Van Soest, 1985), zaradi česar lahko (za)mašijo pore vrečk. Spanghero in sod. (1997) so določili vsebnost NDV in NDV_{FV} (z aparatom ANKOM Analyzer) v vzorcih

voluminozne krme, močnih krmil in popolnih krmnih mešanic (enolončnice oz. »total mixed ration«). Ugotovili so, da se vsebnosti NDV in NDV_{FV} pri voluminozni krmi med seboj statistično značilno ne razlikujejo, medtem ko prihaja do velikih razlik v vsebnostih NDV in NDV_{FV} pri močnih krmilih (za okoli 40 %) in popolnih krmnih mešanicah (za okoli 13 %), čeprav so v obeh primerih uporabili termostabilno α -amilazo v vodi za izpiranje. Komarek in sod. (1994) in Jung (1991) ugotavljajo, da med vsebnostmi NDV in NDV_{FV} pri voluminozni krmi ni statistično značilnih razlik, prav tako pa Komarek in sod. (1994) ne poroča o razlikah v vsebnostih NDV in NDV_{FV} v pšeničnih otrobih in koruznem zrnju, če so pri obdelavi uporabili termostabilno α -amilazo. Za razliko od naših rezultatov in rezultatov, ki jih navajajo Spanghero in sod. (1997), pa Vogel in sod. (1999) navajajo, da so bile v voluminozni krmi vsebnosti NDV_{FV} manjše od vsebnosti NDV, kar pripisujejo izgubi delcev skozi pore vrečk oz. boljšemu stiku med vsebino vrečk in nevtralnemu detergentom kot pri »klasični« analizi.

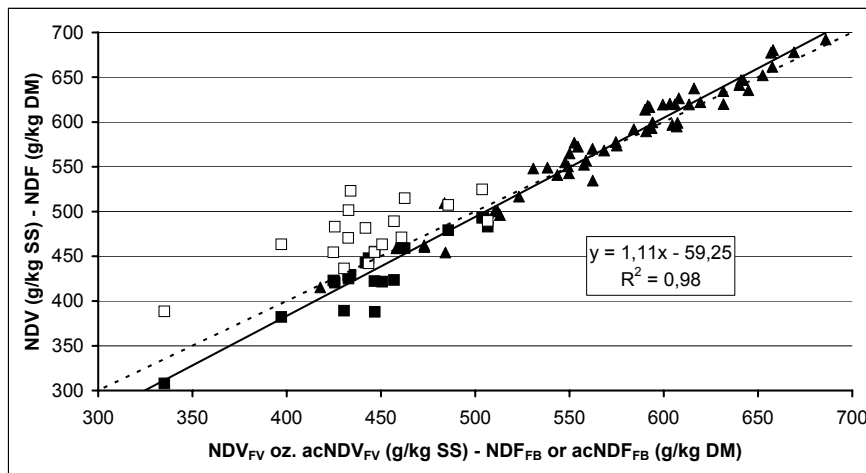


Grafikon 1. Povezava med vsebnostmi SV ($y = x$; ----) ter vsebnostmi SV_{FV} oz. SV_{FV} pri vzorcih trav, ki niso bili predhodno sprani z acetonom (▲) in vzorcih črne detelje, ki so bili (■) oz. niso bili sprani z acetonom (□). Prikazana je le tista regresijska premica, s katero smo najbolje ocenili vsebnosti vlaknine.

Graph 1. Relation between the CF contents ($y = x$; ----) and the CF_{FV} or $acCF_{FV}$, contents in grass samples, which were not rinsed with acetone (▲) and red clover samples, which were either rinsed (■) or not (□) with acetone. Only the regression equation is presented which best predicted fibre contents.

Regresijski enačbi, ki napovedujeta vsebnost NDV na podlagi vsebnosti NDV_{FV} oz. $acNDV_{FV}$ sta podani v preglednici 3 z enačbama 3 in 4; enačba 4 je prikazana tudi na grafikonu 2. Z obema enačbama relativno točno ocenimo vsebnosti NDV, saj sta R^2 v obeh primerih večja od 0,94, SEE pa je manjši od $2,63 \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$. S spiranjem črne detelje z acetonom pred obdelavo z nevtralnimi detergenti smo povečali R^2 od 0,94 (enačba 3) na 0,98 (enačba 4) in zmanjšali SEE od $2,63$ (enačba 3) na $1,62 \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ (enačba 4). Vendar sta pri obeh premicah naklona večja od 1 ($1,23$ za premico v enačbi 3 in $1,11$ za premico v enačbi 4) in se v obeh primerih statistično značilno razlikujeta od 1 ($\beta \neq 1$, $P < 0,001$). Odseka na osi y sta negativna ter se statistično značilno razlikujeta od 0 ($-138,83$ v enačbi 3 in $-59,25 \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ v enačbi 4; $p < 0,001$). Spiranje črne detelje z acetonom je naklon premice približalo k $\beta = 1$, zmanjšalo pa je tudi odstopanje preseka premice na osi y od 0 ($\alpha = 0$), vendar so vsebnosti NDV pri velikih vsebnostih NDV_{FV} oz. $acNDV_{FV}$ nekoliko precenjene. V nasprotju z našimi rezultati pa Spanghero in sod. (1997) za voluminozno krmo navajajo, da je linearni regresijski koeficient nekoliko manjši od 1 ($\beta = 0,97$), pri tem pa navajajo tudi visok koeficient determinacije ($R^2 = 0,99$). Podobno visoke koeficiente

determinacije za določanje vsebnosti NDV na podlagi NDV_{FV} navajajo tudi Vogel in sod. (1999) ter Komarek in sod. (1994).



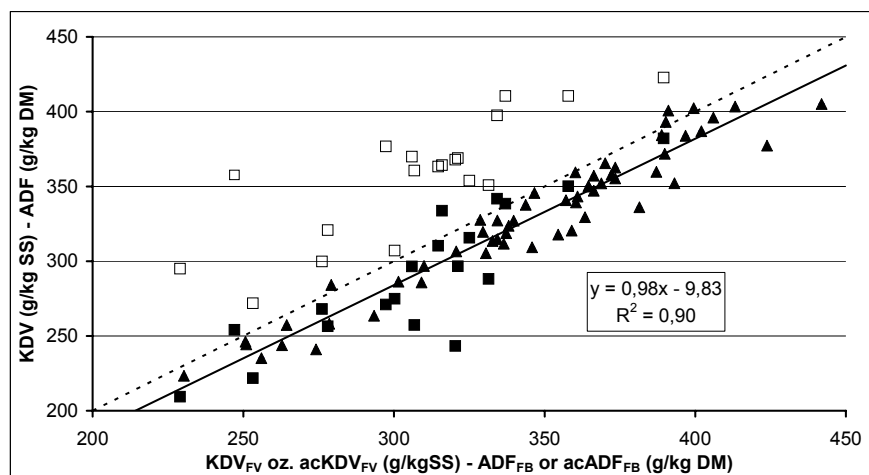
Grafikon 2. Povezava med vsebnostmi NDV ($y = x$; -----) ter vsebnostmi NDV_{FV} oz. $acNDV_{FV}$ pri vzorcih trav, ki niso bili predhodno sprani z acetonom (▲) in vzorci črne detelje, ki so bili (■) oz. niso bili sprani z acetonom (□). Prikazana je le tista regresijska premica, s katero smo najboljše napovedali vsebnosti vlaknine.

Graph 2. Relation between the NDF contents ($y = x$; -----) and the NDV_{FV} or $acNDF_{FV}$ contents in grass samples, which were not rinsed with acetone (▲) and red clover samples, which were either rinsed (■) or not (□) with acetone. Only the regression equation is presented which best predicted fibre contents.

V primerjavi vsebnosti KDV in KDV_{FV} oz. $acKDV_{FV}$ smo prišli do podobnih ugotovitev kot v primerjavi vsebnosti NDV in NDV_{FV} oz. $acNDV_{FV}$ (pregl. 2). Vsebnost KDV_{FV} je bila pri vzorcih črne detelje v povprečju za $66 (\pm 28) \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ (22,8 %) večja od vsebnosti KDV. Razlika v vsebnosti $acKDV_{FV}$ in KDV je bila precej manjša in je znašala le $17 (\pm 22) \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ (5,9 %). Nasprotno pa razlike v vsebnosti KDV_{FV} in KDV pri travah niso bile velike; vsebnosti KDV_{FV} so bile večje od vsebnosti KDV za $13 (\pm 11) \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ (3,7 %) pri mačjemu repu, za $16 (\pm 13) \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ (5,0 %) pri mnogocvetni ljujki in $20 (\pm 13) \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ (6,2 %) pri trpežni ljujki. S spiranjem črne detelje z acetonom smo, podobno kot pri določanju vsebnosti $acNDV_{FV}$, najverjetneje odstranili snovi, ki preprečujejo dostop kislega detergenta do vzorca oz. omogočili izstopanje raztopljenih delcev skozi pore vrečk. Za razliko od naših rezultatov pa Vogel in sod. (1999) navajajo, da so bile vsebnosti KDV_{FV} ob uporabi aparata ANKOM za 15 do $20 \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ manjše od vsebnosti KDV, vendar razlike niso bile statistično značilne. Vzroke za te razlike smo že omenili pri določanju NDV_{FV} oz. $acNDV_{FV}$. Tudi drugi raziskovalci (Jung, 1991; Komarek in sod., 1994; Spanghero in sod., 1997; Vogel in sod., 1999) poročajo, da je bila vsebnost KDV_{FV} ob uporabi aparata ANKOM manjša od vsebnosti KDV.

Regresijske enačbe, ki jih prikazujemo za ocenjevanje vsebnosti KDV na podlagi vsebnosti KDV_{FV} oz. $acKDV_{FV}$, so označene z zaporednima številčkama 5 in 6 (pregl. 3 in grafikon 3). Naklon premic je bil v obeh primerih manjši od 1 (0,90 v enačbi 5 oz. 0,98 v enačbi 6), vendar se linearna regresijska koeficienta v nobenem primeru nista statistično razlikovala od 1 ($p > 0,05$). Enako velja tudi za odseka na osi y, ki sta v obeh primerih statistično enaka 0 ($p > 0,05$). Do podobnih rezultatov so prišli tudi Spanghero in sod. (1997), ki navajajo enak linearni regresijski koeficient ($\beta = 0,979$), kot smo ga ugotovili v naši raziskavi. Vsebnosti KDV so torej nekoliko podcenjene le zaradi odseka premice na osi y. Vendar pa z enačbo, v katero smo vključili

podatke o črni detelji sprani z acetonom (enačba 6), točneje napovemo vsebnost KDV, saj je R^2 za 20 % večji ($R^2 = 0,90$) kot pri nizu podatkov, kjer spiranja nismo opravili ($R^2 = 0,70$). Podobno visoke koeficiente determinacije, kot smo jih ugotovili za niz podatkov, kamor smo vključili vzorce črne detelje sprane z acetonom, navajajo tudi Vogel in sod. (1999) ter Komarek in sod. (1994). S spiranjem črne detelje smo zmanjšali tudi SEE od 3,19 (enačba 5) na 1,80 g kg^{-1} SS (enačba 6).



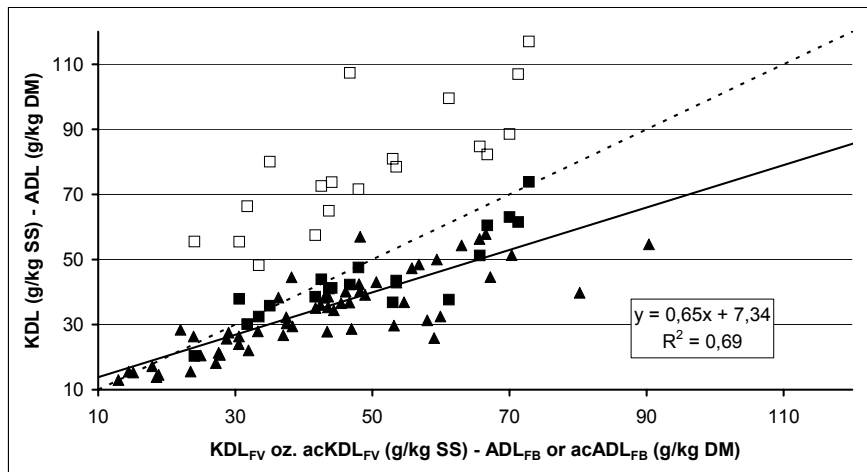
Grafikon 3. Povezava med vsebnostmi KDV ($y = x$; -----) ter vsebnostmi KDV_{FV} oz. acKDV_{FV} pri vzorcih trav, ki niso bili predhodno sprani z acetonom (\blacktriangle) in vzorci črne detelje, ki so bili (\blacksquare) oz. niso bili sprani z acetonom (\square). Prikazana je le tista regresijska premica, s katero smo najboljše napovedali vsebnosti vlaknine.

Graph 3. Relation between the ADF contents ($y = x$; -----) and the ADF_{FV} or acADF_{FV} contents in grass samples, which were not rinsed with acetone (\blacktriangle) and red clover samples, which were either rinsed (\blacksquare) or not (\square) with acetone. Only the regression equation is presented which best predicted fibre contents.

Ker smo med vsebnostmi NDV in NDV_{FV} oz. KDV in KDV_{FV} pri metuljnicah ugotovili velika odstopanja in ker s spiranjem vzorcev z acetonom ta odstopanja močno zmanjšamo, se postavlja vprašanje, pri kakšnem deležu metuljnic v vzorcih naravnih travnikov oz. travno deteljnih mešanic, je smiselno vzorce spirati z acetonom. V krajši dodatni raziskavi, katere rezultati niso prikazani, smo ugotovili, da se večje razlike v vsebnosti NDV in NDV_{FV} pojavijo šele takrat, ko metuljnica presežejo 20 % delež v mešanici. Vendar je te ugotovitve potrebno še potrditi, saj je bilo število tako pripravljenih mešanic premajhno in so se rezultati razlikovali glede na vrsto trave, ki smo jo poleg črne detelje uporabili v raziskavi.

Vsebnost KDL_{FV} je bila v vzorcih črne detelje v povprečju za 34 (± 14) g kg^{-1} SS (80 %) večja od vsebnosti KDL (pregl. 2). Po spiranju z acetonom smo razliko zmanjšali na 5 (± 7) g kg^{-1} SS oz. na 11 %. Majhne razlike smo ugotovili tudi med vsebnostma KDL in KDL_{FV} pri mnogocvetni ljujki (10 (± 11) g kg^{-1} SS) in pri mačjem repu (5 (± 8) g kg^{-1} SS). Pri trpežni ljujki je bila vsebnost KDL_{FV} celo nekoliko manjša od vsebnosti KDL (za 9 (± 9) g kg^{-1} SS). Jung (1991) je ugotovil, da pri vzorcih voluminozne krme med vsebnostma KDL in KDL_{FV} ni velikih razlik. Pri tem navaja, da je bila variabilnost med ponovitvami pri določanju vsebnosti KDL_{FV} nekoliko večja kot pri določanju vsebnosti NDV_{FV} in KDV_{FV} . Tudi pri ocenjevanju vsebnosti KDL na podlagi vsebnosti KDL_{FV} oz. acKDL_{FV} velja, podobno kot pri določanju vsebnosti NDV na podlagi vsebnosti NDV_{FV} oz. acNDV_{FV} in vsebnosti KDV na podlagi vsebnosti KDV_{FV} oz. acKDV_{FV} , da s spiranjem črne detelje z acetonom odstranimo snovi, ki

vplivajo na vsebnosti. Zaradi velikih odstopanj, ki smo jih ugotovili pri določanju vsebnosti KDV in posledično tudi vsebnosti KDL s pomočjo vsebnosti KDV_{FV} in KDL_{FV} , je Kelley (2001) analiziral tudi nekatere naše najbolj odstopajoče vzorce trav in detelje, vendar razlike med vsebnostma KDV in KDL_{FV} niso bile, kljub uporabi aparata ANKOM, bistveno manjše in so pri posameznih vzorcih dosegle tudi vrednosti, ki so presegale 200 %. Vsebnosti KDL_{FV} , ki jih je Kelley (2001) določil pri nekaterih naših vzorcih, so bile le za dobrih 18 % manjše od pri nas ugotovljenih vsebnosti KDL_{FV} oz. $acKDL_{FV}$. Tolikšna odstopanja med vsebnostmi KDL in KDL_{FV} oz. $acKDL_{FV}$ so najverjetneje posledica zelo majhne količine vzorca, ki nam ostane po določitvi vsebnosti KDV_{FV} . Količina KDV_{FV} , ki smo jo uporabili za določanje vsebnosti KDL_{FV} , ne presega 160 mg, medtem ko ostanek po raztapljanju KDV_{FV} z 72 % H_2SO_4 ne presega 18 mg. Tako majhne mase pa z obstoječimi analitskimi tehnicami zelo težko določamo, zato so napake lahko zelo velike. Poleg tega lahko na vsebnost KDL_{FV} vpliva tudi mašenje por filtrskih vrečk. Kelley (2001) meni, da bi do razlik v vsebnosti KDL in KDL_{FV} oz. $acKDL_{FV}$ lahko prišlo tudi zaradi nepopolno sprane kisline pred sušenjem in njene reakcije z vlago. To dvojje lahko učinkuje na strukturo filtrskih vrečk, na kar pa nismo mogli vplivati. Po njegovem mnenju na vsebnost KDL_{FV} vpliva tudi to, da pri določanju KDV_{FV} nismo uporabili aparata ANKOM, ampak smo vsebnosti določili s kuhanjem vzorcev v filtrskih vrečkah, ki smo jih namestili v čaše.



Grafikon 4. Povezava med vsebnostmi KDL ($y = x$; -----) ter vsebnostmi KDL_{FV} oz. $acKDL_{FV}$, pri vzorcih trav, ki niso bili predhodno sprani z acetonom (\blacktriangle) in vzorci črne detelje, ki so bili (\blacksquare) oz. niso bili sprani z acetonom (\square). Prikazana je le tista regresijska premica, s katero smo najbolj napovedali vsebnosti vlaknine.

Graph 4. Relation between the ADL contents ($y = x$; -----) and the ADL_{FV} or $acADL_{FV}$ contents in grass samples, which were not rinsed with acetone (\blacktriangle) and red clover samples, which were either rinsed (\blacksquare) or not (\square) with acetone. Only the regression equation is presented which best predicted fibre contents.

Za regresijski enačbi za napovedovanje vsebnosti KDL na podlagi KDL_{FV} oz. $acKDL_{FV}$ je značilno, da imata majhna R^2 (0,62 v enačbi 7 in 0,69 v enačbi 8). Tudi v tem primeru je razvidno, da s predhodnim spiranjem črne detelje z acetonom izboljšamo točnost ocene vsebnosti KDL, saj se tako R^2 kot SEE izboljšata, vendar pa to izboljšanje ni bilo tako očitno, kot je bilo to v primeru napovedovanja vsebnosti NDV ali KDV. Naklon premice, predstavljene v enačbi 7 je statistično različen od 1 ($p < 0,001$), medtem to ne velja za linearni regresijski koeficient iz enačbe 8 ($p > 0,05$). Odsek na osi y je vedno večji od $7,56 \text{ g kg}^{-1} \text{ SS}$ in je v obeh primerih

statistično značilno različen od 0. Ker se naklon regresijske premice tako zelo razlikuje od 1, so zato pri velikih vsebnostih KDL_{FV} vsebnosti KDL močno podcenjene.

SKLEPI

Vsebnosti, ki smo jih dobili s filtrskimi vrečkami (SV_{FV} , NDV_{FV} , KDV_{FV} in KDL_{FV}), so bile na splošno vedno večje od vsebnosti SV, NDV, KDV in KDL, izmerjene z metodami, ki jih opisujejo Naumann in Bassler (1976) in Goering in Van Soest (1970). Razlike med vsebnostmi SV in SV_{FV} niso bile zelo velike, kot niso bile velike razlike med NDV in NDV_{FV} , KDV in KDV_{FV} ter KDL in KDL_{FV} pri vzorcih trav. Nasprotno pa so bila odstopanja med vsebnostmi NDV in NDV_{FV} , KDV in KDV_{FV} ter KDL in KDL_{FV} zelo velika pri vzorcih črne detelje. S spiranjem vzorcev črne detelje (metuljnic) z acetonom pred obdelavo z reagenti ($acNDV$, $acKDV_{FV}$ in $acKDL_{FV}$) smo te razlike zmanjšali. Spiranje vzorcev črne detelje z acetonom nam je omogočilo tudi uvedbo regresijskih enačb z visokimi koeficienti determinacije, saj le ti presegajo 89%. To nam omogoča relativno točno ocenimo vsebnosti SV, NDV in KDV v vzorcih voluminozne krme, medtem ko so vsebnosti KDL pri vzorcih slabše kakovosti oz. pri vzorcih z veliko vsebnostjo teh snovi močno podcenjene. Pri določanju vsebnosti KDL s pomočjo v tem prispevku predstavljene metode moramo biti zelo previdni, saj so napake, ki jih naredimo pri samem rokovanju (tehtanje) z vzorcem, lahko zelo velike. Zato ta metoda ni primerna za določanje vsebnosti KDL v voluminozni krmi. Določanje vsebnosti KDL s pomočjo filtrskih vrečk in aparata ANKOM (Kelley, 2001) je vrednosti sicer približalo vrednostim »klasične« analize, vendar pa so tudi tu razlike med vsebnostmi KDL in KDL_{FV} pri posameznih vzorcih presegale 200 %. Ker so odstopanja med vsebnostmi NDV in NDV_{FV} oz. KDV in KDV_{FV} pri črni detelji (metuljnicah) zelo velika, je potrebno vse vzorce, ki imajo povečan delež metuljnic, pred obdelavo z detergenti sprati z acetonom. Ugotovili, smo da je to smiselno, če je metuljnic v vzorcih več kot 20 %, vendar je potrebno te rezultate še dodatno potrditi.

SUMMARY

Determinations of crude fiber (CF) and determination of detergent fibres according to Van Soest procedures, thus, neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) are time consuming and requires trained personal, because the procedure requires many manipulations with samples. On contrary, ANKOM Corp. developed methods to determine fibre contents with the use of filter bags, which are simpler and do not require excessive sample manipulations. In this paper the CF (Naumann and Bassler, 1976) and NDF, ADF and ADL (Goering and Van Soest, 1970) contents of 76 samples of Italian ryegrass, timothy, perennial ryegrass and red clover, harvested in different morphological stages were compared with a contents of CF, NDF, ADF and ADL obtained with modified method with filter bags (CF_{FB} , NDF_{FB} , ADF_{FB} and ADL_{FB}). The fibre fractions were prepared by the treatment of the samples sealed in the ANKOM's filter bags (F57) in 400 ml beakers containing 100 ml of boiling reagents according to the procedures described by Naumann and Bassler (1976) for CF and by Goering and Van Soest (1970) for NDF, ADF and ADL.

The CF_{FB} , NDF_{FB} , ADF_{FB} and ADL_{FB} contents were generally greater than the contents of CF, NDF, ADF and ADL (table 2). These differences were small in grass species; the differences varied on average from 3 g kg⁻¹ DM between NDV and NDV_{FB} in Italian ryegrass to 20 g kg⁻¹ DM between ADF and ADF_{FB} in perennial ryegrass. On contrary, these differences were particularly large in red clover samples (on average from 17 g kg⁻¹ DM between CF and CF_{FB} to 66 g kg⁻¹ DM between ADF and ADF_{FB}). In order to reduce these differences, the red clover samples were rinsed with acetone prior to the treatment with reagents and the contents labelled

as $acCF_{FB}$, $acNDF_{FB}$, $acADF_{FB}$ and $acADL_{FB}$. The acetone rinse had little effect on CFFB contents (the average difference between CF and CF_{FB} contents diminished from 17 to 12 g kg⁻¹ DM), but largely affected the NDF and NDF_{FB} , ADF and ADF_{FB} and ADL and ADL_{FB} contents, where the average differences diminished from 46 to 15 g kg⁻¹ DM, from 66 to 15 g kg⁻¹ DM and from 35 to 5 g kg⁻¹ DM, respectively. We suggest that the reason for the decrease in detergent fibre fractions is that acetone removed the substances which accumulate in the pores of bags aggravating the passage of detergent to the substrate or the passage of digested substrate from the bags.

Regression equations for predicting CF, NDF, ADF and ADL contents (dependent variable) by using CF_{FB} , NDF_{FB} , ADF_{FB} and ADL_{FB} contents of grasses and red clover and CF_{FB} , NDF_{FB} , ADF_{FB} and ADL_{FB} of grasses and $acCF_{FB}$, $acNDF_{FB}$, $acADF_{FB}$ and $acADL_{FB}$ contents of red clover as independent variables were proposed and are presented in table 3. The acetone rinse of red clover samples increased the coefficients of determination (R^2) and decreased the standard errors of estimate (SEE) if NDF, ADF or ADL contents were estimated (the R^2 increased from 0.94 to 0.98 in prediction equation for NDF content, from 0.70 to 0.90 in prediction equation for ADF content and from 0.62 to 0.69 in prediction equation for ADL content). On contrary, when acetone rinsed CF contents ($acCF_{FB}$) of red clover were included in regression equations for CF content prediction the R^2 did not change ($R^2 = 0.89$ in both regression equations) and the standard error of the estimate (SEE) decreased from 1.92 to 1.73. Regression equations revealed that with higher CF_{FB} , NDF_{FB} , ADF_{FB} and ADL_{FB} contents of grasses and higher $acCF_{FB}$, $acNDF_{FB}$, $acADF_{FB}$ and $acADL_{FB}$ contents of red clover slightly underestimated the CF and ADF contents, while the ADL contents were greatly underestimated (graphs from 1, 3 and 4). Only the NDF contents were slightly overestimated with increasing amounts of NDF_{FB} or $acNDF_{FB}$.

The filter bag technique presented in this paper allows relatively accurate determinations of CF, NDF and ADF contents. On contrary, with the filter bag technique the ADL contents in low quality samples or in samples with increased ADL contents are greatly underestimated. We suppose that this happened because the weighing of small residues after acid digestion is very inaccurate, thus rendering the technique unsuitable for ADL determination in forages. When ADL contents were determined with ANKOM's apparatus (Kelley, 2001) the differences between conventional and fiber bag techniques diminished, but still remained greater than 200 % in individual samples. Because of the large differences between NDF and NDF_{FB} and ADF and ADF_{FB} contents in red clover, all the samples with increased portion of red clover (legumes) should be rinsed with acetone prior to the treatment with detergents. We suggest that this should be done when the portion of legumes exceeded 20 %, although this has to be confirmed with additional experiment(s).

VIRI

- Babnik, D./ Verbič, J. Ocenjevanje energijske vsebnosti krme s travinja. Zb. Bioteh. Fak. Univ. v Ljublj. Kmet. Zooteh., 76(2000)2, 61–74.
- Babnik, D./Verbič, J./ Žnidaršič, T. Ocenjevanje energijske vsebnosti mrve. Zb. Bioteh. Fak. Univ. v Ljublj. Kmet. Zooteh., 78(2001)2, 137–149.
- DLG. Futterwerttabellen. Wiederkauer. Frankfurt, DLG Verlag, 1997, 212 str.
- Goering, H.K./ Van Soest, P.J. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agricultural Handbook No. 379, Washington, ARS USDA, 1970.
- Giger-Reverdin, S. Review of the main methods of cell wall estimation: interest and limits for ruminants. Anim. Feed Sci. Technol., 55(1995), 295–334.
- Hoffman, P KDV_{FV} ob uporabi aparata ANKOM fiber analyzer za 15 do 20 g kg⁻¹ SS manjše od vsebnosti $KDV.C./$ Sievert, S.J./ Shaver, R.D./ Welch, D.A./ Combs, D.K. In situ dry matter, protein, and fiber degradation of perennial forages. J. Dairy Sci. 76(1993), 2632–2643.

- Jung, H.G. Comparison of the Ankom filter bag method with conventional fiber analysis of forages. St. Paul, USDA-ARS, University of Minnesota, 1991.
- Kelley, C.L. Določanje vlaknine z uporabo filtrskih vrečk. Fairport, Ankom Techol. Corp., osebni vir, maj 2001.
- Komarek, A.R./ Robertson, J.B./ Van Soest, P.J. A comparison of methods for determining ADF and NDF using the Filter bag technique versus conventional filtration. V: ASAS/ADSA Meeting, national Conference on Forage Quality, Evaluation, and Utilization, University of Nebraska, 1994.
- Lavrenčič, A./ Stefanon, B. Prediction of *in situ* degradability of dry matter and neutral detergent fiber of temperate forages with *in vitro* gas production and fibre fractions. Zoot. Nutr. Anim., 27(2001), 179–192.
- Naumann, K./ Bassler, R. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch. Band 3, Neudamm, Verlag Neumann, 265 str.
- Orešnik, A./ Lavrenčič, A. Količina in kakovost vlaknine kot izhodišči za ocenjevanje njenega pomena v prehrani živali. V: Zbornik predavanj 8. posvetovanja o prehrani domačih živali »Zadravčevi-Erjavčevi dnevi« (ur. Pen, A.), Radenci, 1999-10-28/29, Živinorejski-veterinarski zavod za Pomurje, Murska Sobota, 1–10.
- Schubiger, F.X./ Bosshard, H./ Lehmann, J. Nahwert von English Raigrassorten. Agrarforschung, 4(1997a)4, 169–172.
- Schubiger, F.X./ Bosshard, H./ Lehmann, J. Nahwert von Italienish und Bastard Raigrassorten. Agrarforschung, 4(1997b)5, 213–216.
- SAS/STAT User Guide. 4th ed., Cary, SAS Inst. Inc., 1994, 1686 str.
- Spanghero, M./ Moscardini, S./ Susmel, S./ Stefanon, B./ Lavrenčič, A. A comparison between two systems for NDF and ADF analysis. J. Dairy Sci., 80(1997)Suppl. 1, 260.
- Van Soest, P.J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. J. Anim. Sci., 26(1967), 119–128.
- Van Soest, P.J./ Robertson, J.B. Analysis of forages and fibrous foods. A laboratory manual for Animal Science 613. Cornell University, 1985, 212 str.
- Van Soest, P.J./ Robertson, J.B./ Lewis, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci., 74(1991), 3583–3597.
- Vogel, K.P./ Pedersen, J.F./ Masterson, S.D./ Toy, J.J. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. Crop Sci., 39(1999)1, 276–279.