

ANTINUTRITIVNE MATERIJE LUCERKE (MEDICAGO SATIVA)

I. Delić, Nada Vučurević, Jovanka Lević

Pregledni znanstveni rad
UDK 636.084/636.087 (497.1) (05)
Primljeno: 22. 8. 1990.

SAŽETAK

Na osnovu podataka iz literature i rezultata sopstvenih ispitivanja dat je celovit pregled o antinutritivnim materijama u lucerki – saponini, tanini, tripsin inhibitor. U radu su prikazani sledeći aspekti: deponovanje i raspodela pojedinih antinutritivnih materija u lucerki i produktima njene prerade; hemijske i biološke karakteristike antinutritivnih materija; načini inaktivisanja i separacije antinutritivnih materija pomoću aditiva i metoda tehnološke obrade; digestija i apsorpcija antinutritivnih materija u životinjskom organizmu; granične doze pojedinih antinutritivnih materija u krmnim smešama; praktične preporuke za adekvatno uključivanje lucerkinog brašna u krmne smeše za živinu i svinje.

Uvod

Lucerkino brašno sadrži izuzetno velike količine celuloze (oko 25%), inkrustirajućeg lignina (oko 10%) i antinutritivnih materija (oko 6%). Ove balastne i antinutritivne materije drastično pogoršavaju usvojivost energije, aminokiselina, vitamina, pigmentata i stimulativnih materija. Stoga konvencionalno lucerkino brašno ima mali udeo i lošu svarljivost proteina (17 – 20% i 50 – 60%), enormno malu energetska gustinu (800 – 1.200 Kcal/kg za piliće), malu nasipnu masu (300 – 350 kg/m³) i gorak ukus za svinje i živinu.

U ovom radu se razmatraju bitni aspekti lucerkinih saponina, tanina i tripsin inhibitora: akumulacija i raspodela

antinutritivnih materija u biljci i produktima njene prerade; hemijske i biološke karakteristike antinutritivnih materija; digestija i apsorpcija antinutritivnih materija; načini inaktivisanja i separacije antinutritivnih materija pomoću aditiva i tehnoloških postupaka; nutritivno tolerantne i kritične doze antinutritivnih materija u obrocima; praktične preporuke za adekvatno uključivanje lucerkinog brašna u krmne smeše za svinje i živinu.

Dr. Ilija Delić, naučni savetnik, dr. Nada Vučurević, naučni savetnik, mr. Jovanka Lević, asistent u naučnoistraživačkom radu, Tehnološki fakultet, Institut za tehnologiju stočne hrane, Novi Sad.

Deponovanje i raspodela antinutritivnih materija u lucerki i produktima njene prerade (tabela 1)

Thompson (1958) i Cheeke sa drugima (1977) su ustanovili relativno male udele saponina u suvoj materiji lucerke: 1,0 i 1,7%; Nada Vučurević sa drugima (1965) i Delić (1972) intermedijarne udele: 1,8 i 2,2%, a Hanson (1963) najveće udele: 2,6%. Na bazi iznetih podataka može se zaključiti da lucerka sadrži oko 2,0% saponina. Citirani autori navode da se saponini pretežno akumuliraju u listu, starijoj biljci (cvet) i poznijim otkosima (treći, četvrti). Po Nadi Vučurević i drugima (1965) list sadrži dva puta veću količinu saponina nego stabljika, a starija biljka – cvet 25 – 30% više nego mlađa biljka – pupoljak. Po Hanson i drugima (1963) i Nadi Vučurević i drugima (1965) lucerkinu brašno iz trećeg i četvrtog otkosa sadrži 39 – 40% više saponina nego lucerkinu brašno iz prvog otkosa. Cheeke i drugi (1977) saopštili su da jedna niskosaponinska sorta lucerke sadrži samo 0,4% saponina.

Thompson (1958), Milić i drugi (1972) i Delić (1972) su našli iste udele tanina u suvoj materiji lucerkinog brašna: 3,0%. Milić i drugi (1970) su konstatovali da se tanini najviše deponuju u listu, starijoj biljci – cvet i poznijim otkosima (treći, četvrti).

U publikovanoj literaturi skoro i nema podataka o udelu tripsin inhibitora u lucerkinom brašnu, jer se ovaj obično

izražava u Tij ili % proteolitičke inhibicije. Međutim, Ramirez i Mitchell (1960) su izneli da lucerka sadrži ispod 1,0% čistog tripsin inhibitora, a Stojanović i drugi (1968), te Delić (1972) da suva materija lucerkinog brašna sadrži 2,5 i 2,8% sirovog odnosno 1% čistog tripsin inhibitora. Iz publikovanih podataka se vidi da se tripsin inhibitor pretežno deponuje u listu i starijoj biljci (Cheng i drugi, 1978; Pusztai, 1967; Stojanović i drugi, 1968). Poslednji autori su ustanovili da list sadrži tri puta veću količinu inhibitora nego stabljika.

Na osnovu podataka iz literature može se konstatovati da su udeli saponina, tanina i tripsin inhibitora u pozitivnoj korelaciji s udelom proteina u lucerki. To znači da antinutritivne materije organski prate proteinsku komponentu lucerke.

Privlače pažnju podaci da je udeo antinutritivnih materija u proteinsko-karotinoidnim koncentratima od soka lucerke nekonzistentan i znatno manji nego u lucerkinom brašnu i soku iz prese (tabela 1). Takvi podaci su logični kada se ima u vidu da se znatne količine u vrućoj vodi rastvorljivih antinutritivnih materija odvajaju od koagulisane proteinske mase i odvođe u deproteiniziranu frakciju. Efekat navedenog odvajanja zavisi od nekoliko faktora: pH soka pri koagulaciji, aditiva koji pospešuju separaciju, tehničko-tehnoloških rešenja separacije i ceđenja, dopunskog ispiranja koagulata i dr. (Fufunso i Byers, 1977;

Udeo antinutritivnih materija u lucerki i produktima njene prerade (% suve materije)
Level of antinutrients in alfalfa and its products (% of dry matter)

Tabela 1 – Table 1

| hraniva od lucerke Alfalfa feedstuffs | sirovi saponini Crude saponins | ukupni tanini Total tannins | sirovi tripsin inhibitor Crude trypsin inhibitor | čisti tripsin inhibitor Pure trypsin inhibitor |
|---|-----------------------------------|--------------------------------|---|---|
| dehidrirano brašno Dehydrated meal | 2,0 | 3,0 | 2,5 | 1,00 |
| list Leaf | 2,8 | 4,4 | 4,5 | 1,60 |
| stabljika Steam | 1,3 | 2,0 | 1,4 | 0,56 |
| sok iz prese Juice from press | 1,6 | 2,5 | 3,5 | 1,40 |
| proteinsko-karotenoidni koncentrat od soka lucerke Protein-carotenoid concentrate of alfalfa juice | 0,3 – 0,8 | 0,5 – 1,3 | tragovi / traces | — |
| primenjene analitičke metode Applied analytical methods | Van Atta et al. (1961) | Burns (1963) | Ramirez & Mitchell (1960) | |

Sirovi saponini sadrže oko 75% čistih saponina, sirovi tripsin inhibitor oko 40% čistog tripsin inhibitora, a ukupni tanini oko 85% čistih tanina.

Crude saponins contain 75% of pure saponins, crude trypsin inhibitor contains about 40% of pure trypsin inhibitor, and total tannins 85% of pure tannins.

Bondi i drugi, 1973; Vorgan i Wilkins, 1977; Grebenyuki drugi, 1988; Novikov i drugi, 1988).

Hemijske karakteristike antinutritivnih materija (tabela 2, 3, 4)

Lucerkini saponini spadaju u grupu triterpenoida. Njihova molekulska težina iznosi 1.400 – 1.500, a tačka topljenja 255 – 256°C. Saponini su jedinjenja sapogenina i prostih šećera u približnom odnosu 45 – 48 : 55 – 52%. Za sada je detektovano 10 sapogenina i 6 prostih šećera (Gestetner i drugi, 1968 i 1970; Shany i drugi, 1970; Ishaaya i drugi, 1969; Djerassi i drugi, 1957; Massiot, 1988; Delić, 1972). Glavni nosilac inhibitorne moći lucerkinih saponina je medikagenska kiselina. Medikagenska kiselina je dihidro-dikarbonska kiselina s formulom C₃₀H₄₆O₆. Lucerkini saponini su rastvorljivi u hladnoj i toploj vodi.

Lucerkini tanini su kompleksna jedinjenja galotanina (hidrolizovani tanini) i kondenzovanih tanina (nehidrolizovani tanini). Ukupni tanini sadrže oko 80% galotanina i

20% kondenzovanih tanina. Galotanini su esterigalne kiseline i prostih šećera (glukoza). Slobodna galna kiselina (nosilac inhibitorne moći) ima formulu C₇H₆O₅, a tačku topljenja 171 – 172°C. Kondenzovani tanini su kompleksne inertne materije, rezistentne na digestivne enzime. Galotanini su rastvorljivi u hladnoj i toploj vodi (Armstrong i drugi, 1957; Pigeon i drugi, 1962; Milić i drugi, 1970; Delić, 1972).

Lucerkin tripsin inhibitor je polipeptid – nekoagulirajući protein ili gliko-protein, rastvorljiv u hladnoj i toploj vodi (Ramirez i Mitchell, 1960; Kendell, 1951; Chein i Mitchell, 1970; Chang i drugi, 1978). Autori ovog rada su ustanovili da lucerkin tripsin inhibitor ima sledeće karakteristike: dve izražene elektroforetske frakcije; S–H veze 24,2 mol/10⁵ g proteina; S–S veze 11,9 mol/10⁵ g proteina i aglutininsku komponentu. Lucerkin tripsin inhibitor sadrži enormno velike udele cistina, prolina i treonina, a samo tragove metionina i triptofana (tabela 4). Interesantno je pomenuti da su Puszati (1967), te Kakede i drugi (1969) detektovali visoke udele cistina u proteinu tripsin inhibitora iz pasulja: 17 – 20% i 15,5 – 18,5%.

Hemijske karakteristike saponina Chemical properties of saponins

Tabela 2 – Table 2

| ingredijenti Ingredients | Djerassi et al. (1957) Chany et al. (1970) Gestetner et al. (1970) | naši nalazi (1972) Our findings (1972) |
|---|--|---|
| a) sapogenini / Sapogenins | 45,0% | 48,0% |
| – sojasapogenol A / Soysapogenol A | + | + |
| – sojasapogenol B / Soysapogenol B | + | + |
| – sojasapogenol C / Soysapogenol C | + | + |
| – sojasapogenol D / Soysapogenol D | + | + |
| – sojasapogenol E / Soysapogenol E | + | + |
| – medikagenska kiselina Medicagenic acid | +++ | +++ |
| – lucerkina kiselina / Lucerne acid | + | + |
| – sapogenin / Haderagenin | + | + |
| b) šećeri / Sugars | | |
| – glukoza / Glucose | +++ | +++ |
| – arabinoza / Arabinose | +++ | +++ |
| – ksiloza / Xylose | +++ | +++ |
| – raminoza / Ruminose | + | + |
| – galaktoza / Galactose | + | + |
| – galakturonska kiselina Galacturonic acid | + | + |

+ Udeo sapogenina i šećera u saponinu
+ Share of sapogenin and sugar in saponin

Massiot i drugi (1988) su detektovali bayogenin i zanhic kiselinu.
Massiot et al. (1988) detected bayogenin and zanhic acid.

Hemijske karakteristike tanina Chemical properties of tannins

Tabela 3 – Table 3

| ingredijenti Ingredients | naši nalazi (% u suvoju (materiji) (1972) Our findings (% in dry matter) (1972) |
|--|--|
| 1. hidrolizovani tanini (galotanini) – galna kiselina – glukoza Hydrolyzed tannins (gallotannins) – Gallic acid – Glucose | 80 |
| 2. nehidrolizovani tanini (kondenzovani tanini) Non-hydrolyzed tannins (condensed tannins) | 20 |
| 3. slobodna galna kiselina Free gallic acid | tragovi traces |
| 4. neidentifikovani tanini Unidentified tannins | tragovi traces |

Hemijske karakteristike tripsin inhibitora Chemical properties of trypsin inhibitor

Tabela 4 – Table 4

| ingredijenti Ingredients | Chang et al. (1978) | naši nalazi (1972) Our findings (1972) |
|--|------------------------|---|
| – S-H veze S–H bonds | — | 24,2 mol/10 ⁵ g proteina of protein |
| – S–S veze S–S bonds | — | 11,9 mol/10 ⁵ g proteina of protein |
| – elektroforetske frakcije Electrophoretic fractions | — | 2 |
| – hemaglutininska komponenta Hemaglutinic components | — | + |
| – T. I. J. / mg suve materije T. I. J. / mg of dry matter | 22 | 18 |
| aminokiseline (mol %) / Amino acids (mol %) | | |
| lizin / Lysine | 4,2 | — |
| histidin / Histidine | 2,0 | — |
| arginin / Arginine | 1,9 | — |
| asparaginska kiselina / Aspartic acid | 9,5 | — |
| treonin / Threonine | 11,9 | — |
| serin / Serine | 5,0 | — |
| glutaminska kiselina / Glutamic acid | 5,8 | — |
| prolin / Proline | 12,1 | — |
| glicin / Glycine | 2,4 | — |
| alanin / Alanine | 4,8 | — |
| cistin / Cystine | 25,1 | — |
| valin / Valine | 0,9 | — |
| metionin / Methionine | 0,0 | — |
| izoleucin / Isoleucine | 7,2 | — |
| leucin / Leucine | 1,7 | — |
| tirozin / Tyrosine | 1,7 | — |
| fenilalanin / Phenylalanine | 3,9 | — |
| triptofan / Tryptophane | tragovi / traces | — |

Bioške karakteristike antinutritivnih materija (tabela 5)

Lucerkini saponini imaju sledeće bioške karakteristike: vrše hemolizu crvenih krvnih zrnaca; izazivaju jaku penušavost i inhibiraju respiraciju; snažno inhibiraju enzim lipazu, a po nekim autorima i tripsin; agregiraju s proteinima, a s lipidima formiraju nesvarljive polimere; osetno reduciraju holesterin i askorbinsku kiselinu u krvi; imaju snažnu emulgirajuću moć; imaju gorak ukus, pa reduciraju uzimanje hrane; uneti preko injekcije izazivaju toksične i letalne alteracije. Veće doze od 0,2 – 0,3% u obroku deluju

odbojno na uzimanje hrane; veće doze od 0,5% prouzrokuju snažan inhibitorski efekat na proizvodne performanse živine i svinja, izazivajući hiperemije i hemoragije u digestivnom traktu; doze preko 0,8% u obroku su letalne. Medikagenska kiselina ima najveću inhibitorsku i toksičnu moć, soja sapogenini najmanju, a ostali sapogenini intermedijarnu. Interesantno je primetiti da saponini iz korena lucerke ispoljavaju 10 puta veću hemolitičnu moć nego saponini iz vegetativnog dela biljke (Coulson, 1958; Djerassi i drugi, 1957; Gestetner i drugi, 1968. i 1969; Ishaaya i drugi, 1969; Shany i drugi, 1970; Delić, 1972; Cheeke i drugi, 1977).

Bioške karakteristike antinutritivnih materija Biological properties of antinutrients

Tabela 5 – Table 5

| bioška dejstva Biological effects | saponini Saponins | tanini Tannins | tripsin inhibitor Trypsin inhibitor |
|---|----------------------|-------------------|--|
| hemoliza crvenih krvnih zrnaca Hemolysis of red blood cells | +++ | — | — |
| aglutinacija crvenih krvnih zrnaca Agglutination of red blood cells | — | — | + |
| inhibicija respiracije Respiration inhibition | +++ | — | — |
| formiranje pene Foam production | +++ | — | — |
| nekroza i hipertrofija jetre Necrosis and hypertrophy of liver | — | +++ | — |
| hipertrofija pankreasa Pancreas hypertrophy | — | — | +++ |
| inhibicija tripsina Trypsin inhibition | — | + | +++ |
| inhibicija lipaze Lipase inhibition | +++ | ++ | — |
| inhibicija alfa-amilaze Alpha-amylase inhibition | — | + | — |
| adiciona jedinjenja sa proteinima Addition compounds with proteins | + | +++ | ++ |
| adiciona jedinjenja sa lipidima Addition compounds with lipids | +++ | — | — |
| adiciona jedinjenja sa mineralnim elementima Addition compounds with mineral matters | — | + | + |
| transformacija metionina u cistin Transformation of methionine into cystine | — | — | +++ |
| gorak ukus Bitter taste | +++ | +++ | — |
| inhibicija proizvodnih svojstava Inhibition of production properties | +++ | ++ | + |

+ Stepen inhibitorne moći
+ Degree of inhibitory power

Lucerkini tanini imaju sledeće bioške karakteristike: vrše nekrozu i hipertrofiju jetre; povećavaju nivo lipida u jetri; povećavaju holesterin u krvi; smanjuju koncentraciju hemoglobina; galotanini inhibiraju lipazu, a kondenzovani tanin tripsin i alfa-amilazu; formiraju polimere s proteinima

i adiciona jedinjenja s mineralnim elementima; imaju gorak ukus i onemogućuju uzimanje hrane; uneti preko injekcije izazivaju toksične i letalne alteracije. Veće doze od 0,4 – 0,5% deluju odbojno na uzimanje hrane; veće doze od 1,0% prouzrokuju snažne inhibitorske efekte na proizvodne

performanse živine i svinja izazivajući hemoragije, edeme i čireve u digestivnom traktu; doze preko 1,5% u obroku su letalne (Chang i Fuller, 1964; Van Buren i Robinson, 1969; Armstrong i drugi, 1957; Pigeon i drugi, 1962; Calderoni drugi, 1968; Tamir i Alumast, 1969; Delić i drugi, 1972).

Lucerkin tripsin inhibitor ima sledeće biološke karakteristike: snažno inhibira tripsin; vrši transformaciju metionina u cistin; s proteinima formira adicijona jedinjenja; vrši hipertrofiju pankreasa; veći udeli u obroku (0,3 – 0,5%) inhibiraju rast životinja i konverziju hrane (Ramirez i Mitchell, 1960; Kendell, 1951; Chein i Mitchell, 1970; Mooijmun, 1965; Delić i drugi, 1972). Po Kendellu (1951) i Hemphriesu (1980) lucerkin tripsin inhibitor ima znatno slabiju moć inhibiranja tripsina nego sojin (8 – 22 T. I. J. / mg suve materije).

Uticaj faktora prerade na antinutritivne materije

Hemijski sastav i aktivnost saponina se ne menja tokom dehidracije i hidrotermičke obrade lucerke, što znači da su oni termostabilni (Gestetner i drugi, 1969. i 1970; Coulson, 1958; Djerassi i drugi, 1957; Heywing i Bird, 1954; Peterson, 1950; Delić, 1972).

Hemijske i biološke karakteristike tanina se delimično menjaju tokom dehidracije i hidrotermičke obrade lucerke (Potter i Fuller, 1968; Vohra i drugi, 1966; Pigeon i drugi, 1962; Singelton i Kratzer, 1969; Delić, 1972).

Grupa istraživača je ustanovila da se pri sušenju lucerke na 98°C u trajanju od 0,5 – 1,0 časova reducira inhibicija tripsina za 2/3 (Kendell, 1951; Chein i Mitchell, 1951; Ramirez i Mitchell, 1960). Međutim, Delić (1972) je registrovao da se pri trenutnom sušenju lucerke na visokim temperaturama (700 – 800°C) reducira inhibicija tripsina samo za 26%. Izgleda da trajanje sušenja presudno utiče na reduciranje tripsin inhibicije lucerkinog brašna. Hidrotermička obrada u celosti inaktiviše tripsin inhibiciju izolovanog tripsin inhibitora iz lucerke (Chein i Mitchell, 1951; Ramirez i Mitchell, 1960; Delić, 1972). Hamphries (1980) je našao da hidrotermička prerada lucerkinog brašna reducira njegovu tripsin inhibiciju samo do 50%. Citirani autori su ustanovili da se pri dehidraciji i hidrotermičkoj obradi kidaju disulfidne veze tripsin inhibitora, što potvrđuje da je on termolabilan.

Hemoglutininska komponenta tripsin inhibitora lucerke nije proučena. Delić (1972) je otkrio da lucerkin tripsin inhibitor vrši aglutinaciju crvenih krvnih zrnaca i da je njegova hemoglutininska komponenta – za razliku od sojine – termostabilna.

Neki istraživači su ukazali na mogućnost količinskog reduciranja antinutritivnih materija u proteinskim koncentratima od soka lucerke pomoću specijalnih aditiva, ade-

kvatnih tehničko-tehnoloških rešenja separacije i ceđenja koaguluma, te naknadnog ispiranja koagulovane proteinske mase (Bondi i drugi, 1973; Vorgan i Wilkins, 1977; Fufunso i Byers, 1977). Poslednji autori su, na primer, unošenjem polivinilpirolidona (PVP) u sok pre koagulisanja količinski reducirali tanine u proteinskom koncentratu za 50%.

Digestija i apsorpcija antinutritivnih materija u životinjskom organizmu

U želucu i tankom crevu ne vrši se razlaganje saponina. Hidrolizu saponina na sapogenine i proste šećere vrši mikroflorni enzim glikozidaza u cekumu i debelom crevu. Oslobođeni šećeri se apsorbuju, a sapogenin izlučuje fecesom. U fecesu su dokazani saponini, sapogenini, polimeri saponina i sapogenina s lipidima i proteinima. Saponini i sapogenini se ne apsorbuju u krv (Gestetner i drugi, 1968; Heywing i Bird, 1954; Ishaaya i drugi, 1969; Delić, 1972; Cheeke i drugi, 1977).

Kondenzovani tanini su rezistentni na digestivne enzime, tako da se oni nepromenjeni izlučuju u fecesu kao flobafeni. Pod uticajem enzima tanaze galotanini se razlažu na galnu kiselinu i glukozu. Deo galne kiseline se izlučuje u fecesu, a deo resorbuje u krv. U jetri i urinu su dokazani sledeći produkti razlaganja galne kiseline: pirogalol kao produkt dekarboksilacije, 4 – 0-metil galna kiselina kao produkt metilacije, i galokatehin. Navedeni produkti razlaganja galne kiseline nisu škodljivi (Armstrong i drugi, 1957; Pigeon i drugi, 1962; Hawarth, 1963; Potter i Fuller, 1968). Značajno je istaći da se u fecesu izlučuju znatne količine nesvarljivih složenih jedinjenja – agregirani kompleksi tanina i proteina.

Hemijske i biološke karakteristike tripsin inhibitora bitno se menjaju u digestivnom traktu: u njemu se značajno smanjuje zastupljenost S–S veza. Posledično navedenim hemijskim promenama, osetno se reducira njegova moć inhibicije tripsina. Međutim, izolovani tripsin inhibitor iz fecesa ispoljava visoku aglutinirajuću moć i za sada je nejasno da li se on delimično resorbuje u krv ili se u celosti izlučuje u fecesu.

Tolerantne (neškodljive) doze antinutritivnih materija u krmnim smešama (tabela 6)

Na osnovu podataka iz literature procenjeni su granični (neškodljivi) udeli saponina i tanina u krmnim smešama: za toвне piliće 0,10 – 0,15% saponina i 0,20 – 0,30% tanina; za koke nesilje 0,20 – 0,30% saponina i 0,35 – 0,45% tanina; za toвне svinje 0,15 – 0,25% saponina i 0,3 – 0,4% tanina (Heywing i Bird, 1953; Heywing i drugi, 1959; Anderson, 1957; Vohra i drugi, 1966; Glick, 1981; Chang i Fuller, 1964). Sa aspekta

Škodljivosti antinutritivnih materija, u krmne smeše se mogu uneti sledeće količine lucerkinog brašna: za brojlere 5,0 – 7,5%, za nosilje 10,0 – 15,0%, za tovne svinje 7,5 – 12,0%. Procenjeni nivoi slažu se i s nalazima iz praktičnih ogleda, gde su ispitivani obroci s lucerkinim brašnom. Naime, ustanovljeno je da sledeći udeli lucerkinog brašna u smeši nisu pokazali depresivan efekat na proizvodne performanse životinja: za brojlere 6,0% (Delić i drugi, 1965); za koke nesilje 16,0% (King i Sullivan, 1964); za tovne svinje 10 – 15% (Becker, 1956).

Međutim, u krmne smeše se mogu unositi veće količine proteinsko-karotenoidnih koncentrata. Neki istraživači su ustanovili da su udeli od 10 do 20% proteinskih koncentrata od soka lucerke – kao proteinska zamena sojine sač-

me – pokazali ekvivalentnu ili bolju nutritivnu vrednost (Kuzmicky i Kohler, 1977; Dolgovi drugi, 1978; Suba, Ran i Singh, 1980). Komparativna hranljiva vrednost proteinskih koncentrata iz soka lucerke i lucerkinog brašna može se sagledati iz sledećih odnosa: svarljivost proteina 88 : 59%, energetska gustina za živinu 2.900 : 1.200 Kcal/kg (Kuzmicky i Kohler, 1977). Takve razlike u hranljivoj vrednosti su svakako uzrokovane različitim količinama lignoceluloze i antinutritivnih materija u proteinskom koncentratu i brašnu.

U tabeli 6 su iznete procene tolerantnih količina lucerkinog brašna s aspekta antinutritivnih materija u krmnim smešama za živinu, svinje i kuniće.

Granični udeli lucerkinog brašna i antinutritivnih materija u obroku (%)
Highest levels of alfalfa meal and antinutrients in ration (%)

Tabela 6 – Table 6

| životinje Animals | lucerkino brašno Alfalfa meal | sirovi saponini Crude saponins | ukupni tanini Total tannins |
|--|--|---|--------------------------------------|
| brojleri / Broilers | 5,0 | 0,10 | 0,15 |
| koke nesilje / Laying hens | 12,0 | 0,24 | 0,36 |
| čurke (0 – 12 nedelja) / Turkeys (0 – 12 weeks) | 7,5 | 0,15 | 0,25 |
| čurke (preko 12 nedelja) Turkeys (over 12 weeks) | 15,0 | 0,30 | 0,45 |
| tovne svinje (20 – 60 kg) Fattening pigs (20 – 60 kg) | 7,0 | 0,14 | 0,20 |
| tovne svinje (60 – 100 kg) Fattening pigs (60 – 100 kg) | 12,0 | 0,24 | 0,36 |
| krmače / Sows | 15,0 | 0,30 | 0,45 |
| kunići / Rabbits | 50,0 | 1,00 | 1,50 |

Kunići nisu osetljivi na gorak ukus lucerke.
 Rabbits are not sensitive to bitter taste of alfalfa.

Granični udeli lucerkinog brašna su procenjeni na osnovu strogih kriterijuma.
 The highest shares of alfalfa meal were estimated based on extremely strict criteria.

Načini inaktivisanja antinutritivnih materija pomoću aditiva (tabela 7)

U metaboličkim i praktičnim ogledima s pilićima, pacovima i svinjama ustanovljeno je da životinjska mast, holesterin, biljna ulja i fitosteroli formiraju nesvarljive komplekse sa saponinima i sapogeninima u digestivnom traktu. Navedeni aditivi, i u obrocima s 0,5 – 1,0% saponina, vrše delimičnu, a nekada i značajnu inaktivaciju sapogenina (Gestetner i drugi, 1970; Shany i drugi, 1970; Ishaya i drugi, 1969; Peterson, 1950; Delić i drugi, 1974, 1975, 1977). Privlače pažnju podaci Petersona

(1950) da su dodaci od 4% biljnog ulja + 0,5% holesterina, odnosno 4% biljnog ulja + 0,5% sojinih sterola, u smeši s 20% lucerkinog brašna, potpuno neutralisali štetno dejstvo 4 g saponina/kg smeše u ishrani brojlera. Autori su konstatovali da su ovi aditivi povećali dnevni prirast mladih pilića za 72%. Posebnu pažnju privlače noviji nalazi Tissa gbea i drugih (1987), iz kojih se vidi da je dobro odmerena doza vitamina B₆ (9 – 10 mg/kg smeše) u obroku s 20% LPC neutralisala štetno dejstvo saponina, povećala prirast brojlera za 27% i poboljšala konverziju hrane za 15%. Isti autori su ustanovili da vitamin K ima snažan inaktivirajući efekat na saponine.

**Inaktivatori (aditivi) antinutritivnih materija
Inactivators (additives) of antinutrients**

Tabela 7 – Table 7

1. inaktivatori saponina / Saponin inactivators
 - životinjska mast / Animal fat
 - biljna ulja / Plant oil
 - holesterin / Cholesterol
 - fitosteroli / Phytosterol
 - vitamin B₆ / Vitamin B₆
 - vitamin K / Vitamin K
2. inaktivatori tanina / Tannin inactivators
 - metionin / Methionine
 - holin hlorid / Cholin chloride
 - betain / Betaine
 - polivinilpirolidon / Polyvinylpyrrolidone
 - balansirani suplementi aminokiselina
Balanced supplements of amino acids
3. inaktivatori tripsin inhibitora / Trypsin inhibitor inactivators
 - AlCl₃ (Al³⁺)
 - Fe(NO₃)₃ (Fe³⁺)
 - FeSO₄ (Fe²⁺)
 - Th(NO₃)₄ (Th⁴⁺)
 - proteolitički enzimi / Proteolytic enzymes

Neki istraživači su ustanovili da dobro odmerena doza holin hlorida i metionina ili njihove kombinacije osetno neutrališu štetno dejstvo tanina (obroci s 0,5 – 1,0% galne kiseline) u ishrani pilića, pacova i svinja (Armstrong i drugi, 1973; Vahra i drugi, 1966; Chain i Fuller, 1964; Delić i drugi, 1975, 1977). Vohra i drugi (1966), te Chain i Fuller (1964) našli su da se oslobođene metil grupe čvrsto vežu za reaktivnu grupu galne kiseline i tako vrše delimično ili potpuno neutralisanje štetnog dejstva tanina. Holin hlorid, metionin i betain su biološki najefikasniji metil donatori. Međutim, s ekonomskog i praktičkog aspekta najbolje je dozirati holin hlorid u broke s povećanim udelom lucerkinog brašna.

Dobro je poznato da preparati proteolitičkih enzima uspešno neutrališu inhibitornu moć lucerkinog tripsin inhibitora. Pokazalo se, međutim, da dvo-, tri- i četvorovalentni metalni katjoni razaraju peptidne veze tripsin inhibitora i tako u većoj ili manjoj meri neutrališu njegovu aglutinirajuću moć. U eksperimentalnim uslovima vrlo dobre rezultate su pokazale ove mineralne soli: Th(NO₃)₃ – Th⁴⁺, AlCl₃ – Al³⁺, Fe(NO₃)₃ – Fe³⁺, FeSO₄ – Fe²⁺ (Liener, 1959; Delić i drugi, 1973, 1975, 1977). Po Lieneru (1959) dobro odmerene doze katjona su neutralisale aglutininsku moć u sledećem opsegu: Th⁴⁺ = 100%, Al³⁺ = 100%, Fe³⁺ = 100%, Fe²⁺ = 82%.

Zaključci

Na osnovu podataka iz literature i rezultata sopstvenih istraživanja sačinjen je celovit pregled antinutritivnih materija lucerke. Daju se sledeći zaključci:

1. Lucerkinog brašna u svojoj suvoj materiji sadrži oko 2,0% sirovih saponina, 3,0% ukupnih tanina, 1,0% čistog tripsin inhibitora. U radu su prikazani podaci o sadržaju i raspodeli antinutritivnih materija u pojedinim morfološkim delovima i produktima prerade lucerke (tabela 1).

2. Prikazane su hemijske karakteristike antinutritivnih materija: saponini sadrže 45 – 48% sapogenina, u kojima dominira medikagenska kiselina kao glavni nosilac inhibitorne moći. Tanini sadrže oko 80% galotanina – galna kiselina je isključivi nosilac inhibitorne moći. U radu su detaljnije prikazane hemijske karakteristike tripsin inhibitora, saponina i tanina (tabele 2, 3, 4).

3. Prikazane su biološke karakteristike, digestija i apsorpcija per os unetih saponina, tanina i tripsin inhibitora (tabela 5).

4. Dat je kritički osvrt o tolerantnim i kritičnim dozama per os unetih antinutritivnih materija i na osnovu toga predloženi optimalni udeli lucerkinog brašna u krmnim smešama za živinu, svinje i kuniće (tabela 6).

5. Predloženi su aditivi koji mogu osetno suzbiti štetno dejstvo antinutritivnih materija u ishrani svinja i živine (tabela 7).

6. Iznet je uticaj faktora prerade na hemijske i biološke karakteristike antinutritivnih materija, a inicirane su neke savremene metode i aditivi koji mogu doprineti da se količinski reduciraju antinutritivne materije u proteinskim koncentratima od soka lucerke.

Literatura

1. **Anderson, O. J.:** Effect of alfalfa saponin on the performance of chicks and laying hens. Poultry Department, Utah State Agricultural College, Logan, Utah, 1957.
2. **Armanious, M. W., Britton, W. M., Fuller, H. L. (1973):** Effect of methionine and choline on tannic acid and tannin toxicity on the laying hen. Poultry Sci. 51, 6.
3. **Armstrong, D. M., Clarke, E. G. C., Cotchin, E. (1957):** A note on the acute toxicity of hydrolysable and condensed tannins. J. Pharm. Pharmac. 9, 98-101.
4. **Beker, D. E., Hanson, L. J., Jensen, A. H., Terrill, S. W., Norton, H. W. (1956):** Dehydrated alfalfa meal as dietary ingredient for swine. Animal Sci. 15, 3.
5. **Bondi, A., Birk, Y., Gestetner, B. (1973):** Forage saponins. Chem. and Biochem. of Herbage 1, 511-528, London and New York: Academic Press.
6. **Burns, R. E.:** Methods of tannin analysis for forage crop evaluation. Georgian Agricultural Experiment Stations, 1963.
7. **Calderon, P., Van Buren, Y., Robinson, B. Y. (1968):** Factors influencing formation of precipitates and hazes by gelatin and condensed and hydrolyzable tannins. J. Agric. Food Chem. 16, 3.
8. **Chang, S. J., Fuller, H. L. (1964):** Effect of tannin content of grain sorghums on their feeding value for growing chicks. Poultry Sci. 43, 1.
9. **Chang, N. J., Reecn, G. R., Mitchell, H. L. (1978):** Alfalfa trypsin inhibitor. J. Agric. Fd. Chem. 26, 1453-1454.

- Cheeke, P. R., Kinzell, J. H., Pederson, M. W. (1977): Influence of saponins of alfalfa utilization by rats, rabbits and swine. *J. Anim. Sci.* 45, 3.
- Chen, T. F., Mitchell, H. L. (1970): Purification of trypsin inhibitor of alfalfa. *Phytochem.* 9, 717-720.
- Coulson, C. B. (1958): Triterpenoid saponins from lucerne and other species. *J. Sci. Food and Agric.* 9, 281-288.
- Delić, I., Vlahović, M., Stojsavljević, T., Vučurević, N., Milić, B., Ivić, M., Stanković, R. (1971): Physical properties, chemical composition and nutrition value of decellulosed alfalfa meal. *Savremena poljoprivreda.* 19, 9 (special supplement).
- Delić, I., Vučurević, N., Zdravković, R. (1977): Uticaj metil donoratora, holesterola i $\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ na hranljivu vrednost lucerkinog brašna u obrocima za svinje. *Stočarstvo* 31, 293-296.
- Delić, I., Stojanović, S., Vučurević, N., Stojsavljević, T. (1975): An investigation of the possibility for improving the nutritive value of alfalfa meal with supplements of cholesterol, methyl donors and $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. *Acta Veterinaria* 25, 3.
- Delić, I., Vučurević, N., Stojanović, S. (1973): An investigation of alfalfa saponin inactivation under in vivo conditions in mice. *Acta Veterinaria* 23, 6.
- Delić, I., Stojsavljević, T., Stojanović, S. (1974): An investigation of trypsin inhibitor inactivation in mice under in vivo conditions. *Acta Veterinaria* 24, 1.
- Delić, I., Vučurević, N., Šijački, N., Nikolić, N., Vapa, N. (1965): Uticaj različitih nivoa decelulozirane lucerke na proizvodne osobine, neke komponente krvi i fitomorfološke alteracije u pilića. *Veterinaria* 14, 3.
- Delić, I.: Prilog proučavanju hemijskih i bioloških karakteristika, kao i načina delovanja inhibitornih materija iz lucerke. *Novi Sad*, 1972.
- Dolgov, U. A., Novikov, J. F., Jacko, M. A.: Proteinovije koncentrat iz zelenih rastenij. »Kolos«, Moskva, 1978.
- Djerassi, C., Thomas, D. B., Livingston, A. L., Thompson, C. R. (1957): The structure and stereochemistry of medicagenic acid. *J. Amer. Chem. Soc.* 79, 5292-5297.
- Fufunso, M., Byers, M. (1977): Effect of pre-press treatments of vegetation on the quality of the extracted leaf protein. *J. Sci. Food and Agric.* 28, 4.
- Grebenjuk, B. D., Koganov, M. M., Šaparenko, L. T., Švan-ko, L. V., Kuznecov, N. N., Karnobackija, T. A., Bogdanova, N. A. (1988): Elektrodializnoe frakcionirivane termostabilnih rastvorimih belkov listostabilnoi biomassi, lucerni. *Fiziologija i biohimiya kult. rastenij* 20, 2.
- Gestetner, B., Shang, S., Tencer, Y., Yehudith Birk, Bondi, A. (1970): II, Purification and characterisation of saponin from lucerne tops and roots and characterisation of the isolated fractions. *J. Sci. Food and Agric.* 21.
- Gestetner, B., Yehudith Birk, Tencer, Y. (1968): Soybean saponins, rate of ingested soybean saponins on the physiological aspect on their hemolytic activity. *J. Agric. Food Chem.* 16, 6.
- Glick, Z. (1981): Modes of action of gallic acid in suppressing food intake of rats. *J. Nutr.* 111, 11.
- Hanson, H. C., Kohler, O. G., Dudley, W. J., Sorensen, L. E., Von Atta, R. G., Taylor, W. K., Pederson, W. M., Carnihan, L. H., Wilsil, P. C., Kehr, R. W., Lowe, C. C., Standiford, H. E., Jungen, A. J.: Saponin content of alfalfa as related to location, cutting, variety, and other variables. *Agricultural Research Service M. S., Department of Agriculture, ARS*, 34-44, 1963.
- Heyward, W. B., Thompson, R. C., Kemmerer, R. A. (1959): Effect of alfalfa saponin on laying chickens. *Poult. Sci.* 38, 4.
- Heywing, B. W., Bird, H. R. (1954): The effect of alfalfa saponin on the growth, diet consumption, and efficiency of diet utilization of chicks. *Poult. Sci.* 33, 2.
- Ishaaya, J., Yehudith Birk, Bondi, A., Tencer, Y. (1969): Soyabean saponins, IX. Studies of their effect on birds, mammals and cold-blooded organisms. *J. Sci. Food and Agric.* 20, 433.
- Kendall, K. A. (1951): Inhibition of the proteolytic activity of trypsin by green plant extracts. *J. Dairy Sci.* 34, 499-500.
- King, J. K., Sullivan, T. W. (1964): Effect of high levels of alfalfa meal on egg production, yolk color, fertility and hatchability. *Poult. Sci.* 43, 5.
- Kuzmicky, D. D., Kohler, G. O. (1977): Nutritional value of alfalfa leaf protein concentrate (Pro-Xan) for broilers. *Poult. Sci.* 56, 1510-1516.
- Liener, E. J. (1958): Inactivation studies on the soybean hemagglutinin. *J. Biol. Chem.* 233, 401-405.
- Milić, B. (1972): Lucerne Tannins I, Content and composition during growth. *J. Sci. Food and Agric.* 23, 1151.
- Mooijman, I. C. I. M. (1965): Purification and characterisation of the trypsin inhibitor in alfalfa. *Dissertation Abstr.* 25B, 4390.
- Massiot, G., Lavaud, C., Guillaume, D., Louissette Le M. O. (1988): Reinvestigation of the saponin and prosapogenin from alfalfa. *J. Agric. Food. and Chem.* 36, 902-909.
- Novikov, B. F., Koganov, M. M., Šaparenko, L. T., Golohova, B. J.: Biologičeskajii cenost piščevoga belki iz zelenoi masei lucerki, Moskva, 1988.
- Peterson, W. D. (1950): Effect of sterol on the growth of chicks fed high alfalfa diets or a diet containing quilloja saponin. *J. Nutrition* 42, 597-607.
- Pigeon, F. R., Camp, J. B., Dollahite, W. J. (1962): Oral toxicity and polyhydroxyphenol moiety of tannin isolated from *Quercus havary*. *American J. Vet. Besear.* 23, 97.
- Potter, D. K., Fuller, H. L. (1968): Metabolic fate of dietary tannins in chickens. *J. Nutr.* 36, 2.
- Pusztai (1967): Trypsin inhibitor of plant origin, their chemistry and potential role in animal nutrition. *Nutr. Abstr. and Rev.* 37, 1, 1-9.
- Ramirez, I. S., Mitchell, H. L. (1960): The trypsin inhibitor of alfalfa. *J. Agric. Food and Chem.* 8, 393-395.
- Shany, S., Gestetner, B., Yehudith Birk, Bondi, A. (1970): III, Effect of lucerne saponins on larval growth and their detoxification by various sterols. *J. Sci. Food Agric.* 21, 3.
- Singleton, V. L., Kratzer, F. K. (1969): Toxicity and related physiological activity of phenolic substances of plant origin. *J. Agric. and Food Chem.* 3.
- Stojanović, S., Đokić, N., Vlahović, M. (1968): Deponovanje i inhibitorna aktivnost tripsin inhibitora u lucerki i soji zavisno od starosti biljke. *Stočarstvo* 22, 311-316.
- Subba Raan, B. H., Singh, N. (1971): Studies on nutritive value of leaf protein from lucerne. *J. Sci. Food and Agric.* 22, 11.
- Tamir, M., Alumat, E. (1969): Inhibition of digestive enzymes by condensed tannins from green and ripe carobs. *J. Sci. Food Agric.* 20, 4.
- Thompson, C. R.: Alfalfa and other leaf meal. processed plant protein foodstuffs, Academic Press INC. Publishers, New York, 1958.
- Tsiagbe, V. K., Straub, R. I., Cook, M. E., Harper, A. E., Sunde, M. L. (1987): Critical vitamin supplementation of broiler diets high in alfalfa juice protein. *Poult. Sci.* 66, 11.
- Teeter, R. G., Sarani, S., Smith, M. O., Hibberd, C. A. (1986): Detoxification of high sorghum grain. *Poult. Sci.* 65, 1.
- Van Atta, G. A., Guggolz, J., Thompson, C. R. (1961): Determination of saponins in alfalfa. *J. Agric. and Food Chem.* 9.
- Van Buren, I. D., Robinson, W. B. (1969): Formation of complexes between protein and tannic acid. *J. Agric. and Food Chem.* 17, 4.
- Vohra, P., Kratzer, F. H., Joslin, M. A. (1966): The growth depressing and toxic effects of tannins to chicks. *Poult. Sci.* 45, 1.
- Vorgen, I. T., Wilkins, R. I.: The utilization of deproteinised forage juice. National College of Food Technology University of Reading, Grassland Research Institute Hurlay, 1977.
- Vučurević Nada, Delić, I., Milić, B., Turčić M. (1965): Dinamika deponovanja saponina u lucerki u zavisnosti od godišnjeg doba i stadijuma razvoja biljke. *Veterinaria* 15, 3

ANTINUTRIENTS IN ALFALFA (MEDICAGO SATIVA)

SUMMARY

Based on literature data and our own results, the whole issue concerning major antinutrients in alfalfa has been treated: saponin, tannin, trypsin inhibitor. The following aspects are shown in this report: quantitative share and distribution of particular antinutrients in the plant and in its morphological parts, depending on the provenience and the period of mowing; chemical properties and inhibitory activity of saponins, tannins and trypsin inhibitor; biochemical changes of antinutrients in the digestive tract of animals; the influence of technological treatment on chemical changes and biochemical activity of antinutrients; possible ways for inactivation of antinutrients by means of additives – cholesterol, phytosterol, oils, enzymes, vitamins, methyl donors, cations of mineral matters; discussion of nutritively tolerable and critical doses of saponins, tannins and trypsin inhibitors in rations and their influence on production performances in pigs and poultry; practical recommendations on effective methods for the neutralization of inhibitory influence of antinutrients in feed mixtures for pigs and poultry.