



UTJECAJ DODATKA MIKRONIZIRANOG ZEOLITA KLINOPTILOLITA NA ZDRAVLJE VIMENA, PROIZVODNJU I SASTAV MLIJEKA KRAVA HOLSTEIN PASMINE RAZLIČITIH LAKTACIJA U UVJETIMA ROBOTIZIRANE MUŽNJE

INFLUENCE OF MICRONIZED ZEOLITE CLINOPTILOLITE SUPPLEMENTATION ON UDDER HEALTH, MILK PRODUCTION AND COMPOSITION OF HOLSTEIN COWS IN DIFFERENT LACTATIONS UNDER ROBOTIC MILKING CONDITIONS

**M. Didara, M. Brlić, Vesna Gantner, Martina Pavlić, S. Lončar, Marcela Šperanda**

Izvorni znanstveni članak – Original scientific paper  
Primljeno - Received: 02. svibanj – May 2022

SAŽETAK

Prirodni zeolit klinoptilolit je mikroporozni alumosilikatni mineral čvrste anionske rešetke, otvorene trodimenzionalne strukture u čijim porama su izmjenjivi kationi. Dodatak zeolita u obroku sve se više primjenjuje u hranidbi životinja. Cilj pokusa bio je ustanoviti utjecaj dodatka mikroniziranog zeolita klinoptilolita na zdravlje vimena i sastav mlijeka krava različitih laktacija u uvjetima robotizirane mužnje. Krave su hranjene parcijalnim obrokom za krave u mužnji (PMR) s dodatkom 200 g po kravi mikroniziranog zeolita klinoptilolita (Zeotex®, Mevex, Hrvatska) i koncentratom na robotskoj jedinici za hranjenje, tijekom 42 dana pokusa. Značajno ( $P < 0,05$ ) manji broj somatskih stanica utvrđen je u mlijeku krava 1. i 2. laktacije nakon 42 dana konzumacije zeolita u odnosu na početak pokusa. Udio mliječne masti u mlijeku krava 1. laktacije bio je značajno ( $P < 0,05$ ) veći nakon 42 dana konzumacije zeolita u odnosu na početak i 21. dan pokusa. Značajno ( $P < 0,05$ ) veća koncentracija ureje u mlijeku utvrđena je nakon 21 dan konzumacije zeolita okusa u odnosu na početak pokusa kod krava nižih laktacija. Značajno ( $P > 0,05$ ) smanjenje broja somatskih stanica nakon 42 dana primjene zeolita u obroku mliječnih krava potvrđuje sposobnost zeolita da pozitivno utječe na zdravlje vimena. Smanjenje broja somatskih stanica samo kod krava u 1. i 2. laktaciji daje naslutiti ograničenu sposobnost zeolita prema kroničnim infekcijama vimena kod krava viših laktacija. Značajno ( $P < 0,05$ ), ali prolazno povećanje ureje u mlijeku 21. dana pokusa, vjerojatno je odraz prilagodbe mikropopulacije buraga na novonastale uvjete hranidbe dodatkom zeolita. Povećanje udjela mliječne masti kod krava u prvoj laktaciji govori u prilog pozitivnog djelovanja zeolita na poboljšanje kvalitete mlijeka.

Ključne riječi: mliječne krave, zeolit klinoptilolit, kvaliteta mlijeka, broj somatskih stanica

izv. prof. dr. sc. Mislav Didara, e-mail: [mislav.didara@fazos.hr](mailto:mislav.didara@fazos.hr), [orcid.org/0000-0002-0748-1228](https://orcid.org/0000-0002-0748-1228), Matej Brlić, mag. ing. agr., prof. dr. sc. Vesna Gantner, [orcid.org/0000-0002-1962-3131](https://orcid.org/0000-0002-1962-3131), prof. dr. sc. Marcela Šperanda, [orcid.org/0000-0003-0785-5485](https://orcid.org/0000-0003-0785-5485), Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek, Hrvatska  
Martina Pavlić, mag. ing. preh. teh., [orcid.org/0000-0002-6400-6589](https://orcid.org/0000-0002-6400-6589), Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Vinkovačka cesta 63c, 31000 Osijek, Hrvatska  
Saša Lončar mag. ing. agr., [orcid.org/0000-0003-3188-5422](https://orcid.org/0000-0003-3188-5422), PP Orahovica d.o.o., Pustara 1, 33513 Zdenci, Hrvatska

## UVOD

Prirodni zeolit klinoptilolit je mikroporozni aluminosilikatni mineral čvrste anionske rešetke otvorene trodimenzionalne strukture u čijim porama su izmjenjivi kationi (Deniz, 2014.). Zahvaljujući jedinstvenim kemijskim i fizikalnim svojstvima reverzibilno otpuštaju i vežu vodu, adsorbiraju tvari odgovarajućeg promjera i izmjenjuju katione iz svoje rešetke s kationima iz okruženja, poput  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  i  $\text{NH}_4^+$ , bez značajnih strukturnih promjena (Khachlouf i sur., 2019.). Svojstvo da u buragu postupno oslobađaju ione stvorio je mogućnost njihove uporabe kao dodatka obroku za preživaače, uglavnom radi poboljšanja proizvodnih svojstava i prevencije određenih metaboličkih bolesti kod mliječnih goveda (Valpotić i sur., 2017.). Velike količine lakoprobavljivih ugljikohidrata u obroku mliječnih krava mogu dovesti do probavnih poremećaja poput subakutne ruminalne acidoze (Zhao i sur., 2018.), što se nastoji prevenirati uporabom egzogenih pufera poput natrijevog bikarbonata (Clark i sur., 2009.), učinkovitog zbog visokog kapaciteta neutraliziranja kiseline u buraga. Mahdavid i sur. (2021.) utvrdili su da se prosječni pH buragova sadržaja tijekom 5 tjedana primjene dodatka zeolita nije razlikovao od pH buragova sadržaja krava hranjenih dodatkom natrijevog bikarbonata, ali je bio značajno veći u odnosu na pH buragovog sadržaja skupine krava hranjene bez dodatka pufera. S obzirom da zeolit klinoptilolit ima i snažan imunostimulacijski i antioksidativni učinak (Bacakova i sur., 2018.), predstavlja dobru alternativu klasičnim puferima.

Dodatak zeolita obroku mliječnih krava može poboljšati iskorištavanje dušika, jer zeoliti postupno oslobađaju višak amonijaka u buragu što omogućava mikroorganizmima buraga bolje iskorištavanje tog amonijaka za izgradnju mikrobnog proteina (Mumpton, 1999.). Johnson i sur. (1988) dokazali su povećanje pH buraga nakon dodatka sintetskog zeolita u hranu krava, doduše uz negativno odražavanje na probavljivost i proizvodnju mlijeka (Dschaak i sur., 2010.).

Učinkovitost zeolita u prevenciji intoksikacije miktoksinima, kao i povećan interes za dodatke koji ne ostavljaju metabolite u mesu ili mlijeku, svakako će povećati upotrebu zeolita kao dodatka obroku (Khachlouf i sur., 2018.). Pojedina istraživanja pokazuju učinkovitost zeolita u proizvodnji mlijeka i smanjenju pojavnosti mastitisa (Bosi, 2001.).

Cilj pokusa bio je ustanoviti utjecaj mikroniziranog zeolita klinoptilolita (Zeotex®, Mevex, Hrvatska) na zdravlje vimena te količinu i sastav mlijeka krava različitih laktacija u uvjetima robotizirane mužnje.

## MATERIJAL I METODE

### Organizacija pokusa i hranidba

U pokusu je sudjelovalo 60 muznih krava ujednačene tjelesne kondicije od kojih je u prvoj laktaciji bilo 30 krava, u drugoj 10, trećoj 10 te u četvrtoj i višim laktacijama 10 krava. Na početku provedbe pokusa krave su prosječno bile 160 dana u laktaciji. Krave su hranjene parcijalnim obrokom za krave u laktaciji (PMR) u količini od 40 kg dnevno u koji je umiješano 200 g po kravi mikroniziranog zeolita klinoptilolita (Zeotex®, Mevex, Hrvatska) i koncentratom na robotskoj jedinici za hranjenje (s obzirom na proizvodnju krava u pokusu prosječno 4,5 kg na dan), tijekom 42 dana pokusa. Kemijski sastav PMR-a i koncentrata prikazan je u Tablici 1. Sastav zeolita bio je:  $\text{SiO}_2$  68–74 %,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  11–14 %,  $\text{CaO}$  2,5–4,5 %,  $\text{MgO}$  0,6–1,5 %,  $\text{K}_2\text{O}$  3–4 %,  $\text{Na}_2\text{O}$  0,5–1,5 %,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  1,3–2,5 %. Zeolit ovog proizvođača korišten je zbog izrazite adsorpcijske sposobnosti koja je rezultat mikroniziranja i aktiviranja te konačne prosječne veličine čestica od 0,664 mikrometra.

Prije početka primjene zeolita (0. dan) uzeti su uzorci mlijeka te je utvrđen 7-dnevni prosjek proizvodnje mlijeka. Nakon 21 i 42 dana primjene zeolita također su uzeti uzorci mlijeka i određen je 7-dnevni prosjek proizvodnje mlijeka. Uzorci mlijeka izuzimani su posebnim uređajem, koji se spaja na robot za mužnju. Pri ovom načinu uzorkovanja potpuno je onemogućena kontaminacija uzorka. Uzorci su poslani na analizu u nadležni HAPIH-ov laboratorij u Križevcima, a analize su provedene na uređajima Milcoscan (Njemačka) i Fossomatic (Danska). U mlijeku je određen broj somatskih stanica (SCC), udio mliječne masti, bjelančevina i laktoze te koncentracija ureje. Indeks provodljivosti mlijeka (MDI) određen je putem robota za mužnju V300 (DeLaval, Švedska).

### Statistička analiza

Deskriptivna statistika za pokazatelje zdravlja vimena i kvalitete mlijeka napravljena je korištenjem programa STATISTICA (TIBCO Software Inc. 2018). Pravilnost distribucije podataka provjerena je upo-

trebom Shapiro–Wilk testa. S obzirom da je distribucija broja somatskih stanica bila nepravilna podaci su logaritmirani kako bi se postigla normalnost distribucije. Za procjenu učinka tretmana ovisno o vremenu pokusa na pokazatelje zdravlja vimena i kvalitete mlijeka pojedinačnih životinja korišten je sljedeći fiksni statistički model zasebno po razredima redosljedja laktacije ( $L_j$ ,  $j = 1., 2., 3.$  te  $4.+$ ):

$$y_{ijk} = \mu + b_1(d_i/305) + b_2(d_i/305)^2 + b_3 \ln(305/d_i) + b_4 \ln^2(305/d_i) + T_i + e_{ijk}$$

gdje je:

$y_{ijk}$  = procijenjeni parametar (pokazatelj zdravlja vimena ili kvalitete mlijeka);

$\mu$  = intercept;

$b_1, b_2, b_3, b_4$  = regresijski koeficijent (laktacijska krivulja po Ali i Schaeffer, 1987.);

$d_i$  = dani u laktaciji,  $i$  ( $i = 28$  do  $498$  dana);

$T_i$  = fiksni utjecaj vremena uzorkovanja  $i$  ( $i = 0.$  dan,  $21.$  dan i  $42.$  dan);

$e_{ijk}$  = ostatak.

Značajnost razlika između analiziranih pokazatelja s obzirom na fiksni utjecaj vremena i razreda laktacije testiran je *post hoc* Tukey testom na razini značajnosti  $P < 0,05$  PROC GLM procedurom putem programa STATISTICA (TIBCO Software Inc. 2018).

## REZULTATI I RASPRAVA

Na početku pokusa (dan 0) te 21. i 42. dana pokusa u mlijeku krava utvrđeni su pokazatelji kvalitete mlijeka: broj somatskih stanica (SCC), udio mliječne masti, udio bjelančevina, udio laktoze, koncentracija ureje, indeks provodljivosti mlijeka (MDI) te prosječna proizvodnja mlijeka tijekom prethodnih 7 dana (Tablica 2.). Statistički značajne ( $P < 0,05$ ) promjene vrijednosti tijekom trajanja pokusa u mlijeku krava svih laktacija, utvrđene su za somatske stanice, udio mliječne masti i koncentraciju ureje. Razlike ( $P < 0,05$ ) između vrijednosti pokazatelja kvalitete mlijeka i zdravlja vimena u mlijeku krava različitih kategorija laktacija tijekom trajanja pokusa utvrđene su za broj somatskih stanica, udio mliječne masti i proteina te koncentraciju ureje u mlijeku (Tablica 3.).

**Tablica 1. Kemijski sastav parcijalnog obroka (PMR) za krave u mužnji i koncentrata na robotskoj jedinici za hranjenje**

**Table 1 Chemical composition of partial mixed ration (PMR) for dairy cows and concentrate on a robotic feeding unit**

Kemijski sastav (u odnosu na suhu tvar) Chemical composition (DM based)	Parcijalni obrok (PMR) <sup>1</sup> Partial mixed ration (PMR) <sup>1</sup>	Koncentrat na robotskoj jedinici za mužnju <sup>2</sup> Concentrate at milking robotic unit <sup>2</sup>
Udio suhe tvari Dry matter	52 %	90,5 %
Sirove bjelančevine Crude protein	18 %	18,2 %
Sirova mast Crude fat	1,9 %	3,5 %
Sirova vlaknina Crude fibre	19,1 %	6,3 %
Sirovi pepeo Crude ash	6,8 %	6,8 %

1 Sastav parcijalnog obroka (PMR): sijeno lucerne 5 %, sjenaža lucerne 25 %, silaža kukuruza 57,5 %, silaža zrna kukuruza 5 %, Omega IPE 440 (Fanon, Hrvatska) 5 %, vitaminski dodatak 0,05 %kg, Glycerol 1,25 %

2 Sastav koncentrata na robotskoj jedinici: kukuruz, pšenica, suncokretova sačma (hidro-termički obrađena), sačma uljane repice (hidro-termički obrađena), pšenično krmno brašno, pogača uljane repice (hidro-termički obrađena), kukuruzno glutensko brašno, melasa šećerne repe, biljna ulja i masti (zaštićena), vapnenac, natrijev klorid, mono-kalcijev fosfat, magnezijev oksid, vitamin A (3a672a) 10.500 IJ, vitamin D3 (3a671) 1.800 IJ, vitamin E (Tokoferil-acetat - E 3a700) 42 mg, cink sulfat, monohidrat (3b605) 120 mg, natrijev selenit (E8) 1,5 mg, bakar-sulfat pentahidrat (3b405) 27 mg, mangan oksid. (3b502) 84 mg, željezo sulfat monohidrat (3b103) 24 mg, kalij jodid (3b201) 4,1 mg, kobalt (3b305 kobalt-II-sulfat, heptahidrat) 0,8 mg.

1 Partial mixed ration (PMR): alfalfa hay 5%, alfalfa hay 25%, corn silage 57.5%, corn grain silage 5%, Omega IPE 440 (Fanon, Croatia) 5%, vitamin supplement 0.05% kg, Glycerol 1.25%.

2 Composition of concentrate on the milking robotic unit: corn, wheat, sunflower meal (hydro-thermally processed), rapeseed meal (hydro-thermally processed), wheat fodder flour, rapeseed cake (hydro-thermally processed), gluten-free corn flour, sugar beet molasses, vegetable oils and fats (protected), limestone, sodium chloride, mono-calcium phosphate, magnesium oxide, vitamin A (3a672a) 10,500 IU, vitamin D3 (3a671) 1,800 IU, vitamin E (Tocopheryl acetate - E 3a700) 42 mg, zinc sulphate, monohydrate (3b605) 120 mg, sodium selenite (E8) 1.5 mg, copper sulphate pentahydrate (3b405) 27 mg, manganese oxide. (3b502) 84 mg, iron sulphate monohydrate (3b103) 24 mg, potassium iodide (3b201) 4.1 mg, cobalt (3b305 cobalt II sulphate, heptahydrate) 0.8 mg.

**Tablica 2. Procijenjene srednje vrijednosti (LSMeans) sastava mlijeka i pokazatelja zdravlja vimena krava svih laktacija hranjenih dodatkom zeolita**

**Table 2 Estimated mean values (LSMeans) of milk composition and udder health indicators of cows of all lactations fed zeolite supplementation**

Dan Day	0	21	42
logSCC, x10 <sup>3</sup> /mL logSCC, x103/mL	2,51 <sup>A</sup>	2,31 <sup>AB</sup>	2,15 <sup>B</sup>
MDI MDI	1,42	1,33	1,33
Mast, % Milk fat, %	3,67 <sup>A</sup>	3,35 <sup>B</sup>	3,82 <sup>A</sup>
Bjelančevine, % Milk protein, %	3,52	3,52	3,45
Laktoza, % Lactose, %	4,69	4,65	4,66
Urea, mg/100 mL Urea, mg/100 mL	23,79 <sup>A</sup>	26,74 <sup>B</sup>	22,39 <sup>A</sup>
Mlijeko prosjek 7 dana, L Milk 7 days average, L	30,22	30,15	29,54

SCC – broj somatskih stanica, MDI-indeks provodljivosti mlijeka  
<sup>AB</sup> –vrijednosti označene različitim slovima značajno se razlikuju (P<0,05)  
 SCC – somatic cell count, MDI- index of milk conductivity  
<sup>AB</sup> –values with different letters differ significantly (P<0.05)

### Zdravlje vimena

#### Broj somatskih stanica

Povišeni broj somatskih stanica u mlijeku indikator je mastitisa (Græsbøll i sur., 2016.). U istraživanju Đuričić i sur. (2020.) utvrđeno je da su krave kojima je u obrok dodavan zeolit imale dvostruko manji rizik od intramamarnih infekcija čime je potvrđen antibakterijski, detoksikacijski, antioksidativni i imunostimulirajući učinak prirodnog, vibroaktiviranog i mikroniziranog zeolita klinoptilolita. Rezultati Josipović i sur. (2020.) upućuju na imunostimulacijski učinak vibroaktiviranog i mikroniziranog klinoptilolita kao dodatka obroku na zdravlje vimena mliječnih krava s utvrđenim smanjenjem brojem somatskih stanica. I u našem istraživanju utvrdili smo značajno (P<0,05) smanjenje broja somatskih stanica nakon 42 dana primjene zeolita u obroku. Smanjenja broja somatskih stanica nije bilo (P<0,05) u prvih 21 dan pokusa pa možemo zaključiti da je za značajno djelovanje zeolita u pogledu poboljšanja zdravlja vime-

na potrebno više od tri tjedna. Značajno (P<0,05) manji broj somatskih stanica utvrđen je u mlijeku krava 1. i 2. laktacije na kraju pokusa u odnosu na vrijeme prije dodavanja zeolita u obrok. S obzirom na izraženije djelovanje zeolita kod krava u nižim laktacijama, može se spekulirati da zeolit djeluje na poboljšanje zdravlja vimena u slučajevima kada nisu u tolikoj mjeri zastupljene kronične infekcije vimena. Kod krava viših laktacija češće su kronične infekcije uzročnicima na koje niti antibiotici ne djeluju adekvatno. Starije krave su podložnije infekcijama, najvjerojatnije zbog šireg ili trajno djelomično otvorenog sisnog kanala. Također, mliječni epitel starijih krava ima povećanu propusnost, uglavnom zbog nepovratnih oštećenja uzrokovanih prethodnim upalama (Cheng i Han, 2020.).

#### Električna provodljivost mlijeka

Promijenjena električna provodljivost mlijeka rani je indikator i koristi se za detekciju subkliničkog mastitisa (Norberg i sur., 2004.). Promjene mliječne žlijezde zbog razvoja mastitisa uvjetuju povećanje Na<sup>+</sup> i Cl<sup>-</sup> iona u mlijeku, što povećava električnu provodljivost mlijeka zaraženih četvrti. Većina automatskih sustava za mužnju ima ugrađene senzore za mjerenje električne provodljivosti mlijeka. Važno je naglasiti da ponekad nije dovoljno izmjeriti apsolutnu vrijednost provodljivosti (mS) kako bi se odredilo da pojedina četvrt ima upalne promjene, već je nužno pratiti promjene provodljivosti mlijeka u određenoj četvrti kroz vrijeme i odstupanje provodljivosti mlijeka u određenoj četvrti u odnosu na ostale četvrti te životinje. Na taj način izračunavamo indeks provodljivosti mlijeka (MDI), čija nam povišena vrijednost govori o većem riziku nastanka kliničkog mastitisa (DeMol i sur., 1999.). U našem istraživanju indeks provodljivosti mlijeka nije se značajno (P>0,05) mijenjao.

#### Proizvodnja mlijeka

Dosadašnja istraživanja pokazuju da dodatak zeolita utječe na proizvodnju mlijeka, ali taj utjecaj ovisi o dozi. Prosječna proizvodnja mlijeka se povećava ako se u obrok zeolit dodaje u količinama ispod 300 g/kravi/dan. Ako se dodaju količine veće od 400 g/kravi/dan, učinak je suprotan. Osim doze i brojni drugi čimbenici utječu na učinak zeolita s obzirom na proizvodnju mlijeka prvenstveno su to sastav obroka, dnevni unos suhe tvari, veličina čestica obroka te kationsko anionski odnos (Khachloui i sur.,

2018.). Mnoga istraživanja pokazuju pozitivni učinak zeolita na povećanje mliječnosti, a to se prvenstveno odnosi na ona istraživanja koja su obuhvaćala obroke s većim udjelom koncentriranih krmiva i gdje se uloga zeolita mogla očitovati kroz njegov pufer-ski potencijal. Osim toga, učinku zeolita se pripisuje poboljšanje energetskog statusa životinja, što se dovodi u vezu s poboljšanjem proizvodnje mlijeka (Karatzia i sur., 2013.). Katsoulos i sur. (2006.) također navode da bi povećana količina mlijeka mogla biti posljedica povećanja koncentracije propionata u buragu, poboljšanja mikrobne sinteze proteina te poboljšanja postruminalne probavljivosti škroba. Autori koji su u istraživanjima utvrdili smanjenje proizvodnje mlijeka primjenom zeolita u obroku, kao razlog navode smanjenje unosa suhe tvari, koje je i inače u korelaciji s proizvodnjom mlijeka (Bosi i sur., 2002.). Pojedini autori također izvješćuju da zeolit nije utjecao na proizvodnju mlijeka (Grabherr i sur., 2009.; Katsoulos i sur., 2006.). Ako su obroci

sadržavali adekvatne udjele vlaknine te čestice krmi-va dostatne veličine, utjecaj dodatka zeolita na proizvodnju mlijeka nije utvrđen (Khachlouf i sur., 2018.). U našem istraživanju količina mlijeka je opadala tijekom trajanja pokusa što je sukladno laktacijskim krivuljama i u drugim istraživanjima (Strucken i sur., 2015.) Prosječno smanjenje proizvodnje mlijeka nakon dostizanja vrhunca laktacije iznosi 10-15 % na mjesec (Keown i sur., 1986.). U našem istraživanju nismo utvrdili značajnu ( $P > 0,05$ ) promjenu sedmodnevnog prosjeka proizvodnje mlijeka tijekom trajanja pokusa. Poznato je da je dodatak zeolita poboljšao energetski status mliječnih goveda, poglavito tijekom rane laktacije (Katsoulos i sur., 2006.), no količina mlijeka tijekom rane i srednje laktacije nije se značajno mijenjala. S obzirom da su na početku našeg istraživanja krave prosječno bile 150 dana u laktaciji (sredina laktacije), sukladno istraživanju Katsoulos i sur. (2006.), nije ni bilo za očekivati značajnu promjenu količine mlijeka.

**Tablica 3. Procijenjene srednje vrijednosti (LSMeans) sastava mlijeka i pokazatelja zdravlja vimena krava različitih laktacija hranjenih dodatkom zeolita**

**Table 3 Estimated mean values (LSMeans) of milk composition and udder health indicators of cows in different lactation categories fed zeolite supplementation**

Laktacija Lactation	1			2			3			4+		
	0	21	42	0	21	42	0	21	42	0	21	42
Dan Day												
logSCC, $\times 10^3$ /mL logSCC, $\times 10^3$ /mL	2,17 <sup>A</sup>	2,04 <sup>AB</sup>	1,77 <sup>B</sup>	2,63 <sup>A</sup>	2,30 <sup>AB</sup>	2,12 <sup>B</sup>	2,45	2,25	2,32	2,77	2,50	2,53
MDI MDI	1,15	1,12	1,17	1,69	1,43	1,29	1,50	1,30	1,37	1,40	1,33	1,46
Mast, % Milk fat, %	3,61 <sup>A</sup>	3,37 <sup>A</sup>	3,98 <sup>B</sup>	3,85	3,44	3,72	3,70	3,34	3,76	3,71	3,05	3,66
Bjelančevine, % Milk protein, %	3,56	3,54	3,50	3,69	3,62	3,62	3,30	3,41	3,30	3,55 <sup>A</sup>	3,44 <sup>AB</sup>	3,30 <sup>B</sup>
Laktoza, % Lactose, %	4,82	4,76	4,80	4,59	4,61	4,56	4,68	4,69	4,68	4,66	4,58	4,56
Urea, mg/100 mL Urea, mg/100 mL	25,24 <sup>A</sup>	27,88 <sup>A</sup>	21,71 <sup>B</sup>	22,21 <sup>A</sup>	26,47 <sup>B</sup>	23,69 <sup>AB</sup>	20,76 <sup>A</sup>	27,05 <sup>B</sup>	22,61 <sup>AB</sup>	24,75	24,47	23,82
Mlijeko prosjek 7 dana, L Milk 7 days average, L	26,91	26,32	25,93	30,62	27,91	26,85	32,52	32,36	33,38	31,61	30,66	32,10

SCC – broj somatskih stanica, MDI-indeks provodljivosti mlijeka

A,B – unutar kategorije laktacije, vrijednosti označene različitim slovima značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ )

SCC – somatic cell count, MDI- index of milk conductivity

A,B –within lactation category, values with different letters differ significantly ( $P < 0,05$ )

### Sastav mlijeka

#### Udio proteina mlijeka

Dodatak zeolita nije djelovao na udio proteina u mlijeku tijekom rane i srednje laktacije (Katsoulos i sur., 2006.). Međutim, Dschaak i sur. (2010.) utvrdili su značajno povećanje udjela proteina u mlijeku tijekom kasne laktacije, što se odrazilo i na ukupnu količinu proteina tijekom laktacije. Smatra se da puferi mogu povećati probavljivost sirovog proteina i neutralnih detergentnih vlakana (NDF), a na taj način i opskrbljenost mliječne žlijezde aminokiselinama. U našem istraživanju nismo utvrdili značajnu ( $P > 0,05$ ) promjenu udjela proteina mlijeka krava svih laktacija, ali smo utvrdili značajno ( $P < 0,05$ ) smanjenje udjela bjelančevina u mlijeku krava 4. i viših laktacija na kraju u odnosu na početak pokusa. Pretpostavljamo da je kod tih krava, zbog povećanja pH buragova sadržaja, uslijed puferskog djelovanja zeolita, došlo do umnažanje mikropopulacije koja proizvodi manje propionata pa je zato udio proteina u mlijeku bio niži (Xu i sur., 1994.).

#### Udio mliječne masti

U istraživanjima drugih istraživača udio mliječne masti nije se mijenjao nakon dodatka zeolita u obrok krava (Khachlouf i sur., 2018.). U našem istraživanju značajno ( $P < 0,05$ ) manji udio mliječne masti utvrđen je nakon 21 dan dodatka zeolita u odnosu na početak i 42. dan pokusa kod krava svih laktacija. Suprotno, udio mliječne masti u mlijeku krava 1. laktacije bio je značajno ( $P < 0,05$ ) veći nakon 42 dana dodavanja zeolita u odnosu na početak pokusa i 21. dan pokusa. Prolazno smanjenje udjela mliječne masti 21. dana pokusa može se pripisati prilagodbi mikropopulacije buraga na nove uvjete nakon početka primjene dodatka zeolita. Normalizacija odnosno povećanje udjela mliječne masti kod krava u prvoj laktaciji mogući je pokazatelj puferskog djelovanja zeolita ka povećanju pH buragovog sadržaja. Veći pH favoriziraju celulolitičke bakterije što se očituje kroz povećanje udjela mliječne masti (Komisarek i sur., 2022.). Kako bi se preciznije odredilo djelovanje zeolita na udjele proteina i masti u mlijeku, poželjno bi bilo odrediti pH buragovog sadržaja tijekom primjene zeolita.

#### Koncentracija ureje u mlijeku

U istraživanjima Khachlouf i sur. (2018.) dokazana je negativna korelacija između koncentracije amonijaka u buragu i količine dodanog zeolita. Zeolit ima sposobnost vezanja amonijaka te postupnog otpuštanja, što omogućava bolju iskoristivost amonijaka od strane bakterija u buragu (Beukes i sur., 2018.). Ipak različita istraživanja sa drugim puferima ukazuju na različite učinke, od povećanja do smanjenja koncentracije amonijaka u buragu (Khachlouf i sur., 2018.). U našem istraživanju značajno ( $P < 0,05$ ) veća koncentracija ureje u mlijeku krava svih laktacija zabilježena je 21. dana pokusa u odnosu na početak i 42. dan pokusa. Značajno ( $P < 0,05$ ) veća koncentracija ureje u mlijeku utvrđena je 21. dana pokusa u odnosu na početak pokusa kod krava u laktacijama nižim od četvrte. Istraživanja pokazuju da je pH buraga u korelaciji sa brzinom prijenosa amonijaka i ureje kroz stijenkuru buraga (Spek i sur., 2013.). Abdoun i sur. (2010.) utvrdili su da se protok amonijaka kroz stijenkuru buraga smanjuje kada se pH sluznice smanjuje. Sukladno ovome povećanje koncentracije ureje u mlijeku 21. dana našeg pokusa, mogla bi biti posljedica većeg dotoka ureje iz buraga uslijed povećanja pH sluznice. Povratak vrijednosti ureje u mlijeku na niže vrijednosti 42. dana pokusa, govori u prilog djelovanja zeolita s obzirom na sposobnost vezanja amonijaka i njegovo postupno otpuštanje te bolju iskoristivost dušika.

### ZAKLJUČAK

Značajno ( $P > 0,05$ ) smanjenje broja somatskih stanica nakon 42 dana primjene zeolita u obroku mliječnih krava potvrđuje sposobnost zeolita da pozitivno utječe na zdravlje vimena. Smanjenje broja somatskih stanica samo kod krava 1. i 2. laktaciji daje naslutiti ograničenu sposobnost zeolita prema kroničnim infekcijama vimena kod krava viših laktacija. Značajno ( $P < 0,05$ ), ali prolazno povećanje ureje u mlijeku 21. dana pokusa, vjerojatno je odraz prilagodbe mikropopulacije buraga na novonastale uvjete hranidbe dodatkom zeolita. Povećanje udjela mliječne masti kod krava u prvoj laktaciji govori u prilog pozitivnog djelovanja zeolita na poboljšanje kvalitete mlijeka.

## LITERATURA

1. Abdoun, K., Stumpff, F., Rabbani, I., Martens, H. (2010.): Modulation of urea transport across sheep rumen epithelium in vitro by SCFA and CO<sub>2</sub>. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal Liver Physiology*, 298: 190–202.
2. Ali, T. E., Schaeffer, L. R. (1987.): Accounting for covariances among test day milk yields in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 67: 637–644.
3. Bacakova, L., Vandrovцова, M., Kopova, I., Jirka, I. (2018): Applications of zeolites in biotechnology and medicine—a review. *Biomaterials science*, 6(5): 974–989.
4. Beukes, P. C., Gregorini, P. Waghorn, G. C., Selbie, P. B. (2018.): Effects of a daily dose of zeolite on rumen ammonia of lactating dairy cows consuming fresh-cut ryegrass pasture. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 78: 137–141.
5. Bosi, P., Creston, D., Casin, L. (2002.): Production performance of dairy cows after the dietary addition of clinoptilolite. *Ital J Anim Sci.*, 1: 187–195.
6. Cheng, W. N., Han, S. G. (2020.): Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - A review. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 33(11): 1699–1713.
7. Clark, J. H., Christensen, R. A., Bateman, H. G., Cummings, K. R. (2009.): Effects of sodium sesquicarbonate on dry matter intake and production of milk and milk components by Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 92: 3354–3363.
8. DeMol, R. M., Keen, A., Kroeze, G. H., Achten, J. M. F. H. (1999.): Description of a detection model for oestrus and diseases in dairy cattle based on time series analysis combined with a Kalman filter. *Comput. Electron. Agric.*, 22: 171–185.
9. Deniz, A. U. (2014.): Efficacy of clinoptilolite supplementation on milk yield and somatic cell count. La eficacia de la suplementación con clinoptilolita sobre la producción de leche y el recuento de células somáticas. *Revista MVZ Córdoba*, 19(3): 4242–4248.
10. Dschaak, C. M., Eun, J. S., Young, A. J., Stott, R. D., Peterson, S. (2010.): Effects of supplementation of natural zeolite on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactational performance of dairy cows. *The Professional Animal Scientist*, 26: 647–654.
11. Đuričić, D., Sukalić, T., Marković, F., Kočila, P., Žaja, I. Ž., Menčik, S., Dobranić, T., BeniĆ, M., Samardžija, M. (2020.): Effects of Dietary Vibroactivated Clinoptilolite Supplementation on the Intramammary Microbiological Findings in Dairy Cows. *Animals (Basel)*, 10(2): 202.
12. Grabherr, H., Spolders, M., Füll, M., Flachowsky G. (2009.): The effect of several doses of zeolite A on feed intake, energy metabolism and on mineral metabolism in dairy cows around calving. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 93: 221–236.
13. Græsbøll, K., Kirkeby, C., Nielsen, S. S., Halasa, T., Toft, N., Christiansen, L. E. (2016.): Models to Estimate Lactation Curves of Milk Yield and Somatic Cell Count in Dairy Cows at the Herd Level for the Use in Simulations and Predictive Models. *Frontiers in Veterinary Science*, 3
14. Johnson, M. A., Sweeny, T. F., Muller, L. D. (1988.): Effects of feeding synthetic Zeolite A and sodium bicarbonate on milk production, nutrient digestion, and rate of digesta passage in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71: 946–953.
15. Josipović, T., Đuričić, D., Samardžija, M., BeniĆ, M., Turk, R. (2020.): The effect of the dietary supplement zeolites clinoptilolite on somatic cell count, udder health and the chemical composition of milk in the cows of Holstein breed. *Hrvatski veterinarski vjesnik*, 28(1): 21–23.
16. Karatzia, M. A., Katsoulos, P. D., Karatzias, H. (2013.): Diet supplementation with clinoptilolite improves energy status, reproductive efficiency and increases milk yield in dairy heifers. *Anim. Prod. Sci.*, 53: 234–239.
17. Katsoulos, P. D., Panousis N., Roubies, N., Christaki, E., Arsenos, G., Karatzias, H. (2006.): Effects of long-term feeding of a diet supplemented with clinoptilolite to dairy cows on the incidence of ketosis, milk yield, and liver function. *Vet. Rec.*, 159: 415–418.
18. Keown, J. F., Everett, R. W., Empet, N. B., Wadell, L. H. (1986.): Lactation curves. *J. Dairy Sci.*, 69: 769–781.
19. Khachlouf, K., Gdoura, H. R., Gargouri, A. (2019.): Effects of dietary Zeolite supplementation on milk yield and composition and blood minerals status in lactating dairy cows. *Journal of applied animal research*, 47(1): 54–62.
20. Khachlouf, K., Hamed, H., Gdoura, R., Garfour, A. (2018.): Effects of zeolite supplementation on dairy cow production and ruminal parameters – a review. *Annals of Animal Science*, 18: 857–877.
21. Komisarek, J., Stefańska, B., Nowak, W. (2022.): The effect of ruminal fluid pH on milk fatty acids composition in cattle. *Annals of Animal Science*, 22(2): 625–631.
22. Mahdavarad, N., Chaji, M., Bojarpour, M., Dehghanbana-daky, M. (2021.): Comparison of the effect of sodium bicarbonate, sodium sesquicarbonate, and zeolite as rumen buffers on apparent digestibility, growth performance, and rumen fermentation parameters of Arabi lambs. *Trop Anim Health Prod.* 53: 465.

23. Mumpton, F. A. (1999.): La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96: 3463–3470.
24. Norberg, E., Hogeveen, H., Korsgaard, I. R., Friggens, N. C., Sloth, K. H. M. N., Løvendahl, P. (2004.): Electrical Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. *Journal of Dairy Science*, 87 (4): 1099–1107.
25. Spek, J., Dijkstra, J., van Duinkerken, G., Bannink, A. (2013.): A review of factors influencing milk urea concentration and its relationship with urinary urea excretion in lactating dairy cattle. *The Journal of Agricultural Science*, 151(3): 407–423.
26. Strucken, E. M., Laurenson, Y. C. S. M., Brockmann G. A. (2015.): Go with the flow—biology and genetics of the lactation cycle. *Frontiers in Genetics*, 6.
27. Valpotić, H., Gračner, D., Turč, R., Đuričić, D., Vince, S., Folnožić, I., Lojkić, M., Žaja, I. Ž., Bedrica, Lj., Mačesić, N., Getz, I., Dobranić, H., Samardžija, M. (2017.): Zeolite clinoptilolite nanoporous feed additive for animals of veterinary importance: potentials and limitations. *Periodicum Biologorum*, 119: 159–172.
28. Xu, S., Harrison, J. H., Riley, R. E., Loney, K. A. (1994): Effect of buffer addition to high grain total mixed rations on rumen pH, feed intake, milk production, and milk composition. *J. Dairy Sci.*, 77: 782–788.
29. Zhao, C., Liu, G., Li, X., Guan Y., Wang Y., Yuan X., Sun G., Wang Z., Li X. (2018.): Inflammatory mechanism of Rumenitis in dairy cows with subacute ruminal acidosis. *BMC Vet. Res.*, 14: 135.

## SUMMARY

Natural zeolite clinoptilolite is a microporous aluminosilicate mineral of an open three-dimensional solid anionic lattice structure with pores of exchangeable cations. The addition of zeolite in the diet is increasingly being used in animal nutrition. The aim of the experiment was to establish the effect of micronized clinoptilolite zeolite on udder health and milk composition of cows of different lactations under conditions of robotic milking. Cows were fed a partial mixed ration (PMR) for milking cows with the addition of 200 g per cow of micronized clinoptilolite zeolite (Zeotex®, Mevex, Croatia) and concentrate on a robotic feeding unit for 42 days of the experiment. Significantly ( $P < 0.05$ ) lower number of somatic cells was found in the milk of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> lactation cows after 42 days of zeolite supplementation compared to the beginning of the experiment. The content of milk fat in the milk of lactating cows was significantly ( $P < 0.05$ ) higher on the 42<sup>nd</sup> day of the experiment compared to the beginning and the 21<sup>st</sup> day of the experiment. Significantly ( $P < 0.05$ ) higher urea concentration in milk was found on the 21<sup>st</sup> day of the experiment compared to the beginning of the experiment in lower lactating cows. A significant ( $P > 0.05$ ) reduction in the number of somatic cells after 42 days of zeolite application in the diet of dairy cows confirms the ability of zeolite to positively affect udder health. The decrease in the number of somatic cells in cows of only 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> lactation suggests a limited ability of zeolites to chronic udder infections in higher lactating cows. Significant ( $P < 0.05$ ), but transient increase in urea in milk on day 21 of the experiment, is probably a reflection of the adaptation of the rumen micropopulation to the new feeding conditions with the addition of zeolite. The increase in the content of milk fat in cows in the first lactation speaks in favor of the positive effect of zeolite and the improvement of milk quality.

Key words: cows, zeolite clinoptilolite, milk quality, somatic cell count