Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (2), 39-50 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Оценка на степента на въздействие на факторите температура и време на съхранение върху качествените показатели на варианти пробиотични продукти от козе мляко

Петя Методиева*, Илиана Начева, Мария Донева, Камелия Логиновска

Институт по криобиология и хранителни технологии, бул.Черни връх 53, 1407 София, България

Assessment of the degree of impact of factors such as temperature and storage period on the qualitative indicators of probiotic goat milk variants

Petya Metodieva*, Iliana Nacheva, Maria Doneva, Kamelia Loginovska

Institute of Cryobiology and Food Technologies, 53 Cherni vrah Blvd., 1407 Sofia, Bulgaria

**E-mail: petya.metodieva@ikht.bg*

Received: 16.04.2018 *Accepted:* 02.05.2018 *Published:* 30.07.2018

РЕЗЮМЕ

На основата на козе мляко, чрез подбор и внасяне на допълнителни щамове към класическата закваска за кисело мляко, са извършени биоферментационни опити за получаване на пробиотични продукти. Проследено е влиянието на факторите температура и продължителност на съхранение върху основни качествени показатели на три варианта пробиотични продукти на основата на козе мляко.

Чрез двуфакторен дисперсионен анализ е оценена степента на въздействие на основните технологични параметри върху киселинността и общия брой микроорганизми на вариантите млечнокисели проби.

Статистическата обработка на получените данни показа, че по отно-

SUMMARY

On the basis of goat milk, by selecting and introducing additional strains to the classical yoghurt yeast, biofermentation experiments were carried out to obtain probiotic products. The influence of the factors as temperature and duration of storage on the main qualitative indicators of three variants of probiotic products based on goat milk were studied.

The degree of impact of the basic technological parameters on the acidity and the total number of micro-organisms of the lactic acid sample variants was assessed by the two-factor dispersion analysis.

The statistical processing of the data obtained showed that with respect to

шение на титруемата и активна киселинност факторът температура оказва по-голямо влияние, докато степента на въздействие на фактора време на съхранение оказва основно влияние върху общият брой микроорганизми.

Ключови думи: пробиотични продукти, козе мляко**,** двуфакторен дисперсионен анализ

УВОД

Пробиотичните продукти са консумирани в продължение на векове като храна с диетична, профилактична и лечебна стойност. Най-широко разпространените млечни пробиотични продукти са ферментиралите млека (Chandan, 1999).

Пробиотичните млечни продукти водят до подобряване преживяемостта на полезни за здравето бактерии и адхезия на живи микроорганизми в гастроинтестиналната флора, като по този начин се подобрява микробния баланс на стомашно-чревния тракт.

В индустриализирания свят, пробиотичните храни са се превърнали в част от ежедневната диета и са се доказали с потенциалните ползи за здравето отвъд широко приетите хранителни ефекти (López et al., 2014).

Предлагането на пробиотични продукти е предизвикателство, тъй като различни фактори влияят на жизнеспособността на пробиотичните микроорганизми в процеса на обработка и съхранение. Ето защо през последните десетилетия непрекъснато се правят опити за производство на нови, безопасни и качествени продукти (Tripathi and Giri, 2014). За да се запази доверието на потребителите в пробиотичните продукти е важно да се осигури висока преживяемост на микробното съдържание по време на производство, както и при съхранение на продуктите (Saxelin et al., 1999; Cruz et al., 2010).

Целта на настоящето изследване е чрез двуфакторен дисперсионен анализ да се оцени степента на въздействие на основни технологични параметри върху киселинността и общия брой микроорганизми на варианти млечнокисели продукти.

titratable and active acidity, the temperature factor had a greater impact, whereas the degree of impact of the storage time factor had a major influence on the total number of microorganisms.

Key words: probiotic products, goat milk, two-factor dispersion analysis

INTRODUCTION

Probiotic products have been consumed for centuries as a diet with dietary, prophylactic and healing value. The most widespread dairy probiotics are fermented milk (Chandan, 1999).

Probiotic dairy products improve the survival of healthy bacteria and the adhesion of living microorganisms in the gastrointestinal flora, thus improving the microbial balance of the gastrointestinal tract.

In the industrialized world, probiotic foods have become part of the daily diet and have been proven with potential health benefits beyond widely accepted nutritional effects (López et al., 2014).

Providing probiotic products is a challenge as various factors influence the viability of probiotic microorganisms in the processing and storage process. Therefore, over the last decades, attempts have been made to produce new, safe and quality products (Tripathi and Giri, 2014). In order to preserve consumer confidence in probiotic products, it is important to ensure a high survival of microbial content during production and storage of the products (Saxelin et al., 1999; Cruz et al., 2010).

The aim of the present study is to assess the degree of impact of basic technological parameters on acidity and the total number of microorganisms of lactic acid product variants by means of two-factor dispersion analysis.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В изследването е използвано прясно козе мляко с pH – 6.70 и ºT=18, пастьоризирано при 93-95 °C за 15 минути и охладено до 45-46 °C. Оптималната температура за протичане на ферментационния процес е 44±2 °C.

За получаване на пробиотичните продукти са използвани лиофилизирани щамове *Lactobacillus bulgaricus* 1381, *Streptococcus thermophilus* 1374, *Lactobacillus casei* 1014 и *Bifidobacterium longum 1714,* осигурени от колекциите на ИКХТ. Микроорганизмите са съчетани в три пробиотични комбинации, съдържащи класическа закваска за кисело мляко обогатени с щамове млечно-кисели бактерии в следното съотношение:

Вариант 1 – *L.bulgaricus: Str. thermophilus, 1:3;*

Вариант 2 – *L. bulgaricus: Str. thermophilus: L. casei, 1:3:1;*

Вариант 3 – *L.bulgaricus: Str. thermophilus: B. bifidum,1:3:1.*

Физикохимични анализи: активна киселинност (pH) – потенциометрично; титруема киселинност (ºT), (БДС 1111-80).

Микробиологични анализи

• Определяне на общия брой млечнокисели бактерии (CFU/ml). Анализът е извършен чрез преброяване на колонии образуващите единици на ml на характерни за щамовете селективни среди. За изброяване на колонии на *S.thermophilus* – M 17 агар или ST agar, за *L.bulgaricus* – MRS-агар и за *Lactobacillus case*i – LC-agar. Щамовете се инкубират за 72 часа при температури, съответстващи на спецификата им. Броят на млечнокиселите бактерии се изчислява, съгласно IDF стандарт 117 B:1991 по формулата:

MATERIAL AND METHODS

The study used fresh goat milk with pH – 6.70 and ºT=18, pasteurized at 93-95 °C for 15 minutes and cooled to 45-46 °C. The optimum temperature for the fermentation process is 44±2 °C.

Lyophilized strains of *Lactobacillus bulgaricus* 1381, *Streptococcus thermophilus* 1374, *Lactobacillus casei* 1014 and *Bifidobacterium longum* 1714 provided by the ICFT collections were used to obtain the probiotic products. The microorganisms are combined in three probiotic combinations containing classical yoghurt starter enriched with strains of lactic acid bacteria in the following ratio:

Variant 1 – *L.bulgaricus: Str. thermophilus, 1:3;*

Variant 2 – *L. bulgaricus: Str. thermophilus: L. casei, 1:3:1;*

Variant 3 – *L.bulgaricus: Str. thermophilus: B. bifidum, 1:3:1.*

Physicochemical analyzes: active acidity (pH) – potentiometric; titratable acidity (ºT), (BSS 1111-80).

Microbiological analyzes

• Determination of the total number of lactic acid bacteria (CFU/ml). The analysis will be performed by counting the colonies forming units per ml of typical for strains of selective media. For enumeration of colonies of *S.thermophilus* – M17 agar or ST agar, for *L.bulgaricus* – MRS-agar and for *Lactobacillus casei* – LC-agar. The strains were incubated for 72 hours at temperatures corresponding to their specificity. The number of lactic acid bacteria is calculated according to IDF standard 117B: 1991 by the formula:

$$N = \frac{\sum C}{V \times (n_1 + 0{,}1 \times n_2) \times d}$$

Където: ΣC е сумата от всички изброени колонии в двете последователни разреждания, V – обем на посевния

Where: Σ C is the sum of all the listed colonies in the two successive dilutions, V – seed volume, n_1 is the number of

материал, n_1 е броя на използваните петрита за първото разреждане, n_2 е броя на използваните петрита за второто разреждане и d е фактора на разреждане.

• Отчитане преживяемостта на включените щамове млечнокисели бактерии при съхранение и съотношението между тях във всеки от опитните образци – изчислява се на базата на количеството клетки в ml на отделните щамове.

Статистическа обработка

Получените резултати са обработени статистически с Minitab 16 Statistical Software.

petri dishes used in the first dilution, n_2 is the number of petri dishes used in the second dilution, and d is the dilution factor.

• Reporting survival of the included strains of lactic acid bacteria during storage, and the ratio between them in each of test samples – it is calculated on the basis of the amount of cells per ml of the different strains.

Statistical processing

The results obtained are statistically processed with the Minitab 16 Statistical Software.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При продължително съхранение промените в състава на пробиотичните продукти са неизбежни. Чрез вариране и контролиране на технологичните показатели – температурен режим и продължителност на съхранение могат да бъдат създадени оптимални условия за получаване на пробиотични продукти с добра вкусова възприемчивост и запазени качествени показатели.

Изследваните проби са съхранявани различен период от време (1, 7, 14 и 21 дни) при температури 5, 10 и 15 °C.

Чрез двуфакторен дисперсионен анализ е оценена степента на въздействие на основните технологични параметри върху киселинността и общия брой микроорганизми на вариантите млечнокисели проби.

На Фигури 1, 2 и 3 са представени данните от статистическата обработка по двуфакторен дисперсионен анализ за влиянието на факторите време и температура на съхранение върху промяната на титруема киселинност на вариантите млечнокисели проби.

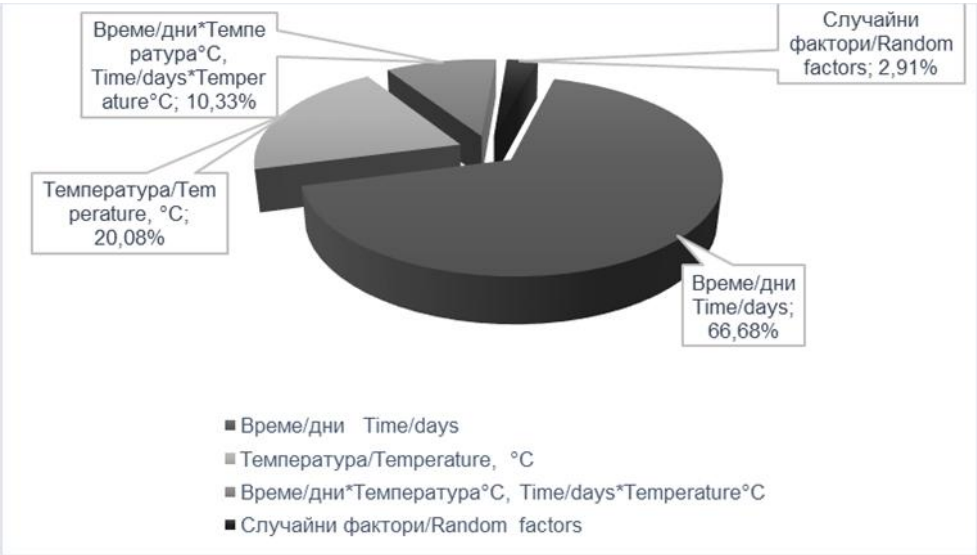
RESULTS AND DISCUSSION

During prolonged storage changes in the composition of the probiotic products are inevitable. By varying and controlling the technological parameters – temperature regime and duration of storage can be created optimal conditions for obtaining probiotic products with good flavour receptivity reserved qualitative indicators.

The samples tested were stored for a different period of time (1, 7, 14 and 21 days) at temperatures of 5, 10 and 15 °C.

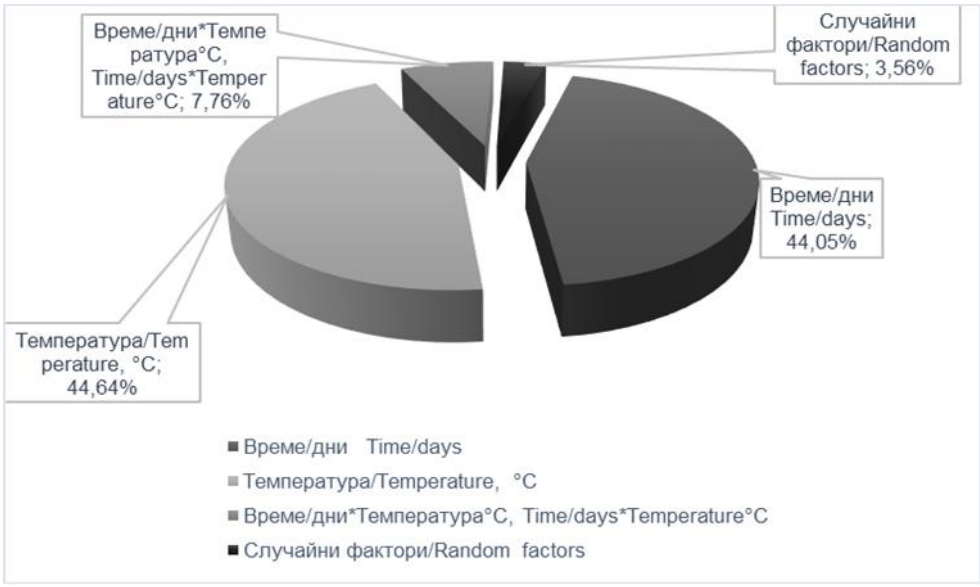
The degree of impact of the basic technological parameters on the acidity and the total number of microorganisms of the lactic acid sample variants was assessed by the two-factor dispersion analysis.

Figures 1, 2 and 3 show statistical data from a two-factor dispersion analysis for the influence of storage time and storage temperature factors on the change in titratable acidity of lactic acid sample variants.



Фиг. 1. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху титруемата киселинност на Вариант 1
Fig. 1. Impact of temperature and storage time factors on titratable acidity of Variant 1

Фиг. 2. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху титруемата киселинност на Вариант 2
Fig. 2. Impact of temperature and storage time factors on titratable acidity of Variant 2



Фиг. 3. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху титруемата киселинност на Вариант 3
Fig. 3. Impact of temperature and storage time factors on titratable acidity of Variant 3

При варианти 1 и 2 се установява, че титруемата киселинност се повлиява в по-голяма степен от фактора време на съхранение и в незначителна степен от температурата. Докато при вариант 3 влиянието на фактора време намалява за сметка на увеличение на фактора температура.

При извършените изследвания влиянието на двата фактора, както и съчетанието по между им е статистически значимо при ниво на значимост 0,05 ($p<0,05$).

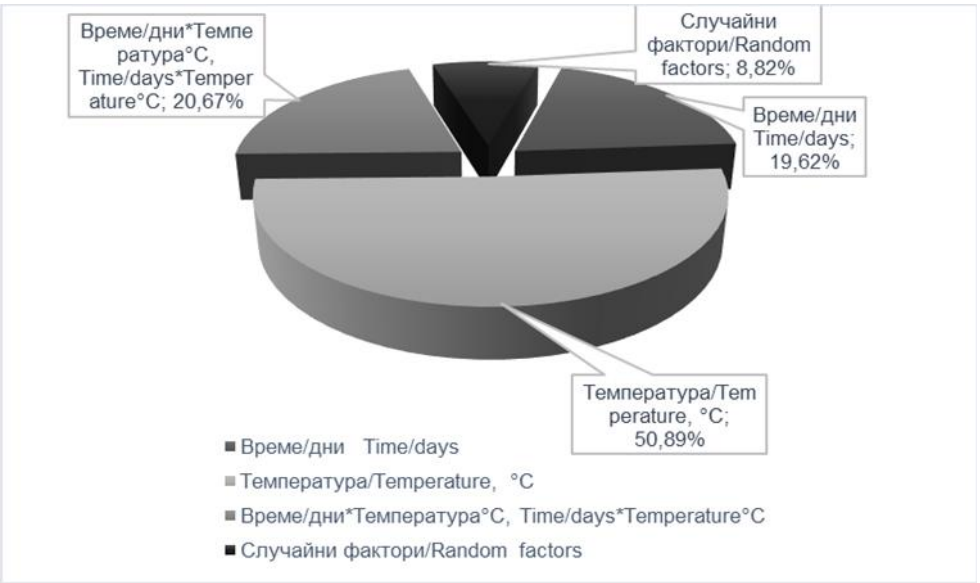
На Фигури 4, 5 и 6 са представени данните от статистическата обработка по двуфакторен дисперсионен анализ за влиянието на факторите време и температура на съхранение върху промяната на активната киселинност на пробиотичните варианти.

In variants 1 and 2 it was found that titratable acidity was influenced to a greater extent by the storage time factor and to a negligible degree by the temperature. While in variant 3 the influence of the time factor decreases at the expense of an increase of the temperature factor.

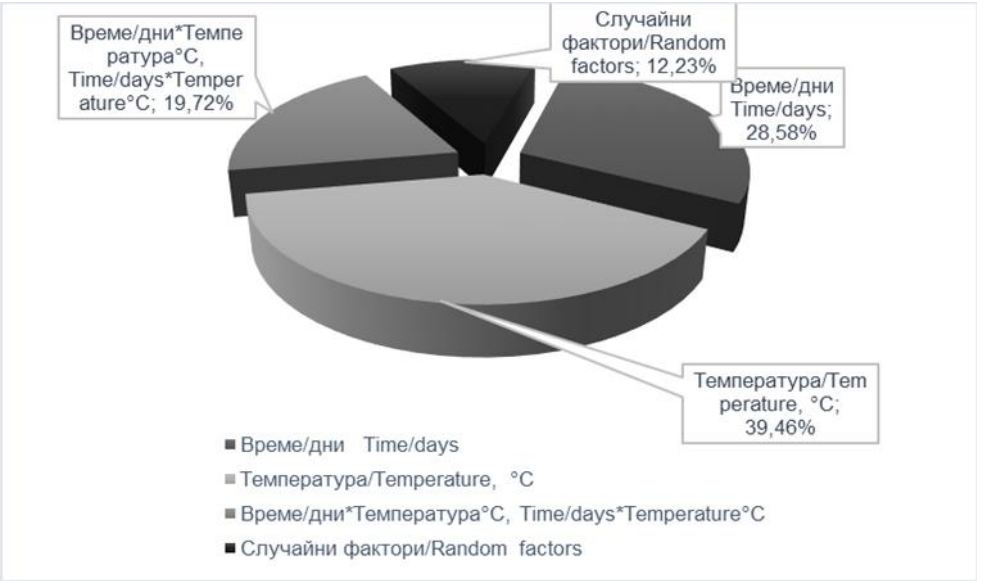
In the studies performed the influence of both factors as well as the combination between them was statistically significant at a level of significance of 0.05 ($p <0.05$).

Figures 4, 5 and 6 show statistical data from a two-factor dispersion analysis for the influence of storage time and temperature factors on the change in the active acidity of the probiotic variants.

Фиг. 4. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху активната киселинност на Вариант 1
Fig. 4. Impact of temperature and storage time factors on the active acidity of Variant 1



Фиг. 5. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху активната киселинност на Вариант 2
Fig. 5. Impact of temperature and storage time factors on the active acidity of Variant 2



Фиг. 6. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху активната киселинност на Вариант 3
Fig. 6. Impact of temperature and storage time factors on the active acidity of Variant 3

При вариант 1 влиянието на фактора температура е най-голям процент. Отчита се, че взаимодействието между факторите е статистически незначимо при ниво на значимост 0,05.

Статистическата обработка на резултатите и при вариант 2 показва, че температурата оказва по-силно влияние върху промяната на активната киселинност.

При вариант 3 се отчита влиянието на фактурите температура и време, но същевременно се проявява и взаимното влияние на двата фактора.

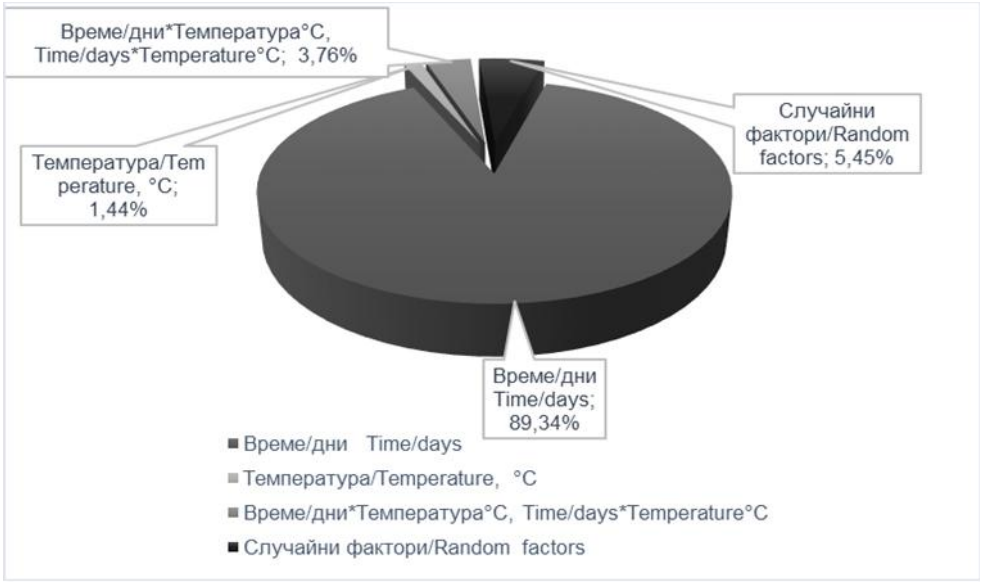
На Фигури 7, 9 и 11 са представени данните от статистическата обработка по двуфакторен дисперсионен анализ за влиянието на факторите време и температура на съхранение върху общия брой пръчковидни микроорганизми във вариантите млечнокисели проби.

In variant 1, the influence of the temperature factor is the highest. It is reported that the interaction between the factors is statistically insignificant at a significance level of 0.05.

The statistical treatment of the results in variant 2 also shows that temperature has a stronger influence on the change in active acidity.

Variant 3 takes into account the influence of the temperature and time factors, but also the mutual influence of the two factors.

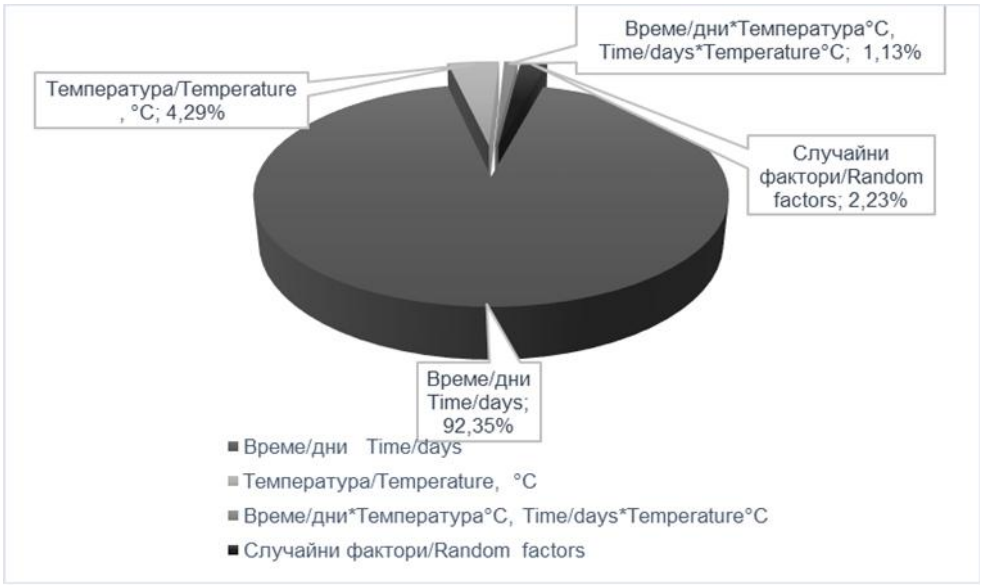
Figures 7, 9 and 11 show the data from the statistical processing by two-factor dispersion analysis for the influence of the storage time and temperature factors on the total number of rod-like microorganisms in the lactic acid sample variants.



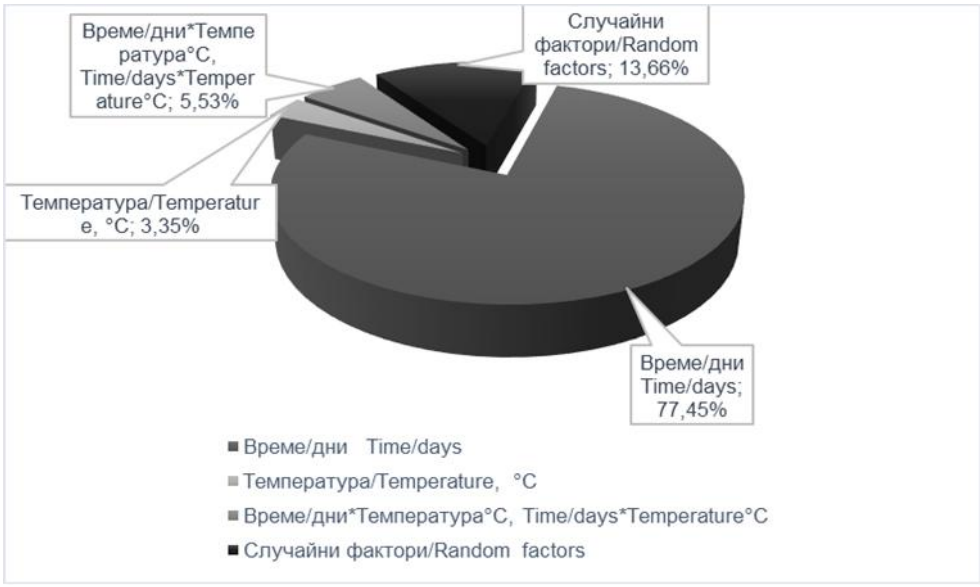
Фиг. 7. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху общия брой пръчковидни микроорганизми на Вариант 1
Fig. 7. Impact of temperature and storage time factors on the total number of rod-shaped micro-organisms of Variant 1

Фиг. 8. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху общия брой стрептококи на Вариант 1
Fig. 8. Impact of temperature and storage time factors on the total number of streptococci of Variant 1

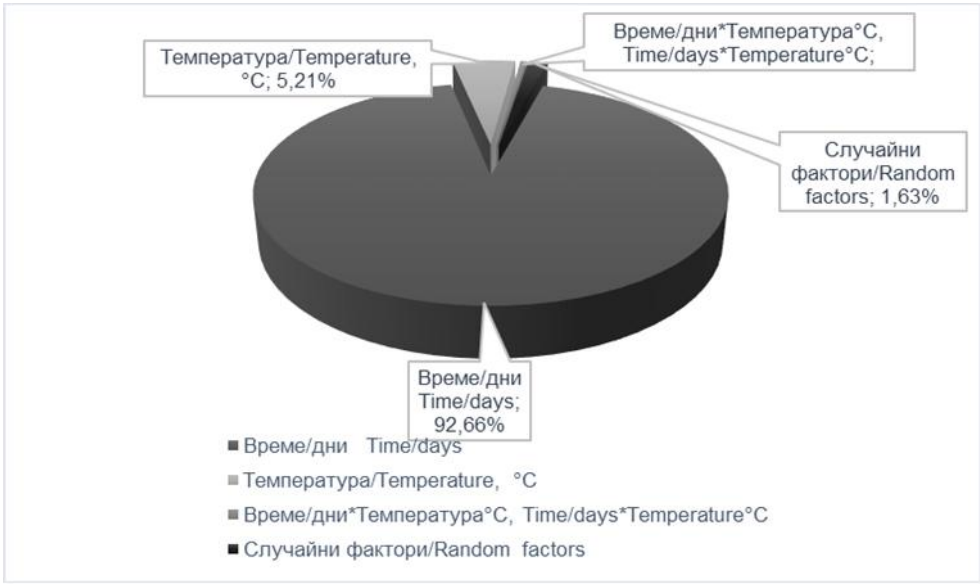
Фиг. 9. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху общия брой пръчковидни микроорганизми на Вариант 2
Fig. 9. Impact of temperature and storage time factors on the total number of rod-shaped micro-organisms of Variant 2



Фиг. 10. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху общия брой стрептококи на Вариант 2
Fig. 10. Impact of temperature and storage time factors on the total number of streptococci of Variant 2



Фиг. 11. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху общия брой пръчковидни микроорганизми на Вариант 3
Fig. 11. Impact of temperature and storage time factors on the total number of rod-shaped micro-organisms of Variant 3



Фиг. 12. Въздействие на факторите температура и време на съхранение върху общия брой стрептококи на Вариант 3
Fig. 12. Impact of temperature and storage time factors on the total number of streptococci of Variant 3

От получените резултати установихме, че общият брой пръчковидни микроорганизми се повлияват само от фактора време на съхранение, а фактора температура и взаимодействието между двата фактора са статистически незначими при ниво на значимост 0,05.

На Фигури 8, 10 и 12 са представени данните от статистическата обработка по двуфакторен дисперсионен анализ за влиянието на факторите време и температура на съхранение върху общия брой стрептококи във вариантите млечнокисели проби.

Резултатите показват, че влиянието на двата фактора е статистически значимо, но и тук фактора време оказва основно влияние върху броя на стрептококите при изследваните варианти.

From the results obtained, we found that the total number of rod-shaped micro-organisms responded only by the storage time factor, and the temperature factor and the interaction between the two factors were statistically insignificant at a significance level of 0.05.

Figures 8, 10 and 12 show statistical data from a two-factor dispersion analysis for the influence of storage time and temperature factors on the total number of streptococci in the lactic acid sample variants.

The results show that the influence of the two factors is statistically significant, but here as well the time factor has a major influence on the number of streptococci in the studied variants.

ИЗВОДИ

Статистическата обработка на получените данни чрез двуфакторен дисперсионен анализ показва, че по отношение на титруемата и активната киселинност факторът температура оказва по-голямо влияние, докато степента на въздействие на фактора време на съхранение оказва основно влияние върху общият брой микроорганизми.

CONCLUSIONS

The statistical processing of the obtained data by two-factor dispersion analysis indicates that with respect to titratable and active acidity, the temperature factor has a greater impact, whereas the degree of impact of the storage time factor has a major influence on the total number of microorganisms.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Chandan, R.**, 1999. Enhancing market value of milk by adding cultures. *Journal of Dairy Science*, 82, 2245-2256.
2. **Cruz, A., J. Faria, S. Saad, , H. Bolini, A. Sant'Ana and M. Cristianini**, 2010. High pressure processing and pulsed electric fields: Potential use in probiotic dairy foods processing. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 483-493.
3. **López, E., E. Palou and A. López-Malo**, 2014. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria, *Journal of Dairy Science,* 97, 2578-2589.
4. **Saxelin, B., U. Grenov, R. Svensson, R. Fonden, T. Reniero and T. Mattila-Sandholm**, 1999. The technology of probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 387-392.
5. **Tripathi, M. and S. Giri**, 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods,* 9, 225-241.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (2), 51-60 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Електрофоретичен профил на ферментирали пробиотични продукти от козе мляко

Петя Методиева*, Мария Донева, Светла Дянкова, Илиана Начева

Институт по криобиология и хранителни технологии, бул.Черни връх 53, 1407 София, България

Electrophoretic profile of fermented probiotic products from goat milk

Petya Metodieva*, Maria Doneva, Svetla Dyankova, Iliana Nacheva

Institute of Cryobiology and Food Technologies, 53 Cherni vrah Blvd., 1407 Sofia, Bulgaria
**E-mail: petya.metodieva@ikht.bg*

Received: 16.04.2018 *Accepted:* 02.05.2018 *Published:* 30.07.2018

РЕЗЮМЕ

Козето мляко е доказано здравословна храна с ценно белтъчно съдържание. За разлика от кравето мляко, което може да причини алергии и нарушено храносмилане, козето мляко има по-висока смилаемост и по-ниски алергенни свойства. Ето защо поради хранителните и здравни ползи търсенето на козе мляко и продукти от него нараства през последните години.

Целта на изследването е да се характеризират протеиновите профили на варианти пробиотични продукти от козе мляко. Продуктите са получени чрез подбор и включване на допълнителни щамове към класическата закваска и вариране и на технологичните показатели – температурен режим и продължителност на съхранение. Проведени са серия биохимични изследвания върху белтъчния спектър на опитните образци. Установено е, че протеиновите профили на трите вида пробиотични продукти, не показват значими различия. Факторите период и температура на съхранение в по-голяма

SUMMARY

The goat milk is a proven healthy product with valuable protein content. Unlike cow milk that can cause allergies and indigestion, goat milk has a higher digestibility and lower allergenic properties. Therefore, due to nutritional and health benefits, the demand for goat milk and goat milk products has increased in recent years.

The purpose of the study is to characterize the protein profiles of different probiotic goat milk products. The products are obtained by selecting and including additional strains to the classic starter and variation and the technological parameters – temperature mode and storage duration.

A series of biochemical tests were performed on the protein spectrum of the test specimens. It was found that the protein profiles of the three probiotic products did not show significant differences. The storage temperatures and period are more important to the

степен са определящи за изменение състоянието на белтъчните вещества при изследваните опитни групи.

Ключови думи: електрофоретичен профил, пробиотични продукти, козе мляко

УВОД

Козето мляко е доказано здравословна храна с ценно белтъчно съдържание. Напоследък използването на козе мляко за производство на редица продукти се превръща в динамична и развиваща се индустрия и е важна част от икономиката в много страни (Haenlein, 2005).

Ферментиралите млека са една изключително подходяща форма за усвояване на хранителните субстанции в млякото от една страна и за въздействие на здравословните свойства на млечнокиселите бактерии върху различни функции на организма от друга (Slacanac et al., 2010). Този тип продукти са резултат на ферментация с млечнокисели бактерии – *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc* и др. в процеса на която се постигат трансформации на различните компоненти на млякото и се получават млечни продукти с нови физиологични ефекти, различни от хранителните функции на изходната суровина.

При продължително съхранение промените в състава на пробиотичните продукти са неизбежни. Едно от изискванията при съхранение е да запазят в максимална степен първоначалния си химичен и микробиологичен състав, за да не се променят органолептичните им качества и биологичната им стойност (Champagne, 2005*).* Обработката на млякото и последващото съхранение на ферментирали пробиотични продукти води до редица физикохимични промени в млечните протеини. Настъпващи промени могат да са: денатуриране на суроватъчни протеини, взаимодействията между денатурираните протеини на суроватка и мицелите на

change in the status of protein substances in the test groups studied.

Key words: electrophoretic profile, probiotic products, goat milk

INTRODUCTION

Goat milk is a proven healthy product with valuable protein content. Recently, the use of goat milk to produce a number of products has become a dynamic and growing industry and is an important part of the economy in many countries (Haenlein, 2005).

Fermented milk is an extremely appropriate form of absorption of nutrients in milk on the one hand, and of the influence of the health properties of lactic acid bacteria on various functions of the organism, on the other hand (Slacanac et al., 2010).

This type of products are the result of fermentation with lactic acid bacteria – *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc* and others, in the process of which transformations of the various milk components are achieved and dairy products with new physiological effects other than the nutritional functions of the raw material are obtained.

During prolonged storage changes in the composition of probiotic products are inevitable. One of the storage requirements is to preserve to the maximum extent their original chemical and microbiological composition in order not to change their organoleptic qualities and biological value (Champagne, 2005).

The processing of milk and the subsequent storage of fermented probiotic products lead to a number of physicochemical changes in milk proteins. Progressive changes may be: denaturation of whey proteins, interactions between denatured whey proteins and casein micelles. The casein

казеина. Казеинът е основният протеинов компонент на млякото, който представлява 75-80% от всички млечни протеини. Поради сложния си състав казеинът принадлежи към групата на фосфо-гликопротеините. Също така, казеинът принадлежи към групата на термостабилните протеини, защото не коагулира, когато е подложен на висока топлинна обработка. Фракцията на суроватъчния протеин представлява около 18-20% от всички млечни протеини и съдържа четири основни протеина: β-лактоглобулин (β-Lg), α-лакталбумин (α-La), серумен албумин (BSA) и имуноглобулин (Ig) и допълнителни малки протеини и ензими. Тези протеини представляват съответно 50%, 20%, и 10% фракция на суроватъчния протеин. Степента на денатурация на суроватъчен протеин често се определя от степента на деструкция на β-Lg, тъй като тя представлява около 50% от всички суроватъчни протеини (Morr, 1985; Fox and McSweeney, 1998).

Целта на това изследване е да характеризира протеиновите профили на пробиотични продукти, създадени на основата на козе мляко, получени чрез подбор и включване на допълнителни щамове към класическата закваска.

is the main protein component of milk, which represents 75-80% of all milk proteins. Because of its complex composition, casein belongs to the group of phospho-glycoproteins. Also, casein belongs to the group of thermostable proteins because it does not coagulate when subjected to high heat treatment.

The whey protein fraction represents about 18-20% of all milk proteins and contains four major proteins: β-lactoglobulin (β-Lg), α-lactalbumin (α-La), serum albumin (BSA) and immunoglobulin (Ig) and small proteins and enzymes.

These proteins represent respectively 50%, 20%, 10% and 10% whey protein fraction. The degree of whey protein denaturation is often determined by the degree of destruction of β-Lg, as it is about 50% of all whey proteins (Morr, 1985; Fox and McSweeney, 1998).

The purpose of this study is to characterize the protein profiles of probiotic products based on goat milk obtained by selecting and including additional strains to classic starter.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В изследването е използвано прясно козе мляко с pH – 6 .70 и °T=18, пастьоризирано при 93-95 °C за 15 минути и охладено до 45-46 °C. Оптималната температура за протичане на ферментационния процес е 44±2 °C. За получаване на пробиотичните продукти са използвани лиофилизирани щамове *Lactobacillus bulgaricus* 1381, *Streptococcus thermophilus* 1374, *Lactobacillus casei* 1014 и *Bifidobacterium longum* 1714, осигурени от колекциите на ИКХТ. Микроорганизмите са съчетани в три пробиотични комбинации, съдържащи класическа закваска за кисело мляко обогатени с щамове млечнокисели бактерии в следното съотношение:

MATERIAL AND METHODS

The study used fresh goat milk with pH – 6 .70 and °T=18, pasteurized at 93-95 °C for 15 minutes and cooled to 45-46 °C.

The optimal temperature for the fermentation process is 44±2 °C. Lyophilized strains of *Lactobacillus bulgaricus* 1381, *Streptococcus thermophilus* 1374, *Lactobacillus ca*sei 1014 and *Bifidobacterium longum* 1714 provided by the ICFT collections were used to obtain the probiotic products. The microorganisms are combined in three probiotic combinations containing classical yoghurt starter enriched with strains of lactic acid bacteria in the following ratio:

L. bulgaricus: Str.thermophilus, 1:3 (Продукт 1);

L. bulgaricus: Str. thermophilus: L. casei, 1:3:1 (Продукт 2);

*L.bulgaricus: Str. thermophilus: B. bifidum,*1:3:1 (Продукт 3).

Сравнени са електрофоретичните профили на трите вида пробиотични продукти – Продукт 1, Продукт 2 и Продукт 3 съхранявани при различни температури – 5, 10 и 15°C и срок на съхранение – 1, 11 и 21 дни.

Изследвани са следните опитни образци:

Вариант 1 – Продукт 1, температура на съхранение 5 °C;
Вариант 2 – Продукт 1, температура на съхранение 10 °C;
Вариант 3 – Продукт 1, температура на съхранение 15 °C;
Вариант 4 – Продукт 2, температура на съхранение 5 °C;
Вариант 5 – Продукт 2, температура на съхранение 10 °C;
Вариант 6 – Продукт 2, температура на съхранение 15 °C;
Вариант 7 – Продукт 3, температура на съхранение 5 °C;
Вариант 8 – Продукт 3, температура на съхранение 10 °C;
Вариант 9 – Продукт 3, температура на съхранение 15 °C.

Биохимичните изследвания върху белтъчния спектър на опитните образци се провежда съгласно метода на Laemmli (1970).

Отделените гелове са анализирани със софтуера GelAnalyzer за Windows версия 2010.

Полиакриламиден гел – 6% събирателен и 10% разделителен. Електролитен буфер: Tris – глицин, pH 8,5 с 0,1 % SDS. Електрофорезата се провежда при сила на тока – 25 mA. Гелът се оцветява с 0,1% Coomassie blue (30-40 min), а зоните от гела, в които липсват ивици протеин се обезцветяват за 24h. Измерват се разстоянията от старта до всяка ивица и се определят Rf – стойностите.

L. bulgaricus: Str.thermophilus, 1:3 (Product 1);

L. bulgaricus: Str. thermophilus: L. casei, 1:3:1 (Product 2);

L.bulgaricus: Str. thermophilus: B. bifidum, 1:3:1 (Product 3).

The electrophoretic profiles of the three types of probiotic products – Product 1, Product 2 and Product 3 stored at different temperatures – 5, 10 and 15°C and a storage life of 1, 11 and 21 days are compared.

The following test specimens were studied:

Variant 1 – Product 1, storage temperature 5 °C;
Variant 2 – Product 1, storage temperature 10 °C;
Variant 3 – Product 1, storage temperature 15 °C;
Variant 4 – Product 2, storage temperature 5 °C;
Variant 5 – Product 2, storage temperature 10 °C;
Variant 6 – Product 2, storage temperature 15 °C;
Variant 7 – Product 3, storage temperature 5 °C;
Variant 8 – Product 3, storage temperature 10 °C;
Variant 9 – Product 3, storage temperature 15 °C.

Biochemical tests on the protein spectrum of the test specimens were performed according to the Laemmli method (1970).

The separated gels are analyzed with the GelAnalyzer software for Windows version 2010.

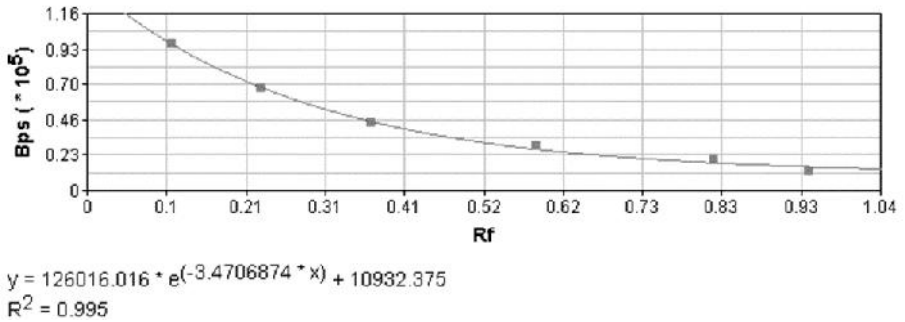
Polyacrylamide gel – 6% stacking and 10% separating. Electrolyte buffer: Tris – glycine, pH 8.5 with 0.1% SDS. Electrophoresis is performed at a current strength of 25 mA. The gel was stained with 0.1% Coomassie blue (30-40 min) and the gel areas lacking protein bands were discolored for 24h. The distances from the start to each strip are measured and the Rf values are determined.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Изменението в състоянието на белтъчните вещества при вариантите козе кисело мляко се установява при електрофоретичното им разделяне. При проведения SDS-PAGE анализ всички протеини се идентифицират чрез сравняване с пречистени протеинови маркери. На Фигура 1 е посочена стандартна крива на използвания в това проучване протеинов маркер.

RESULTS AND DISCUSSION

The change in the protein state of the goat yoghurt variants is determined by electrophoretic separation. In the SDS-PAGE analysis, all proteins were identified by comparison with purified protein markers. Figure 1 shows a standard curve for the protein marker used in this study.



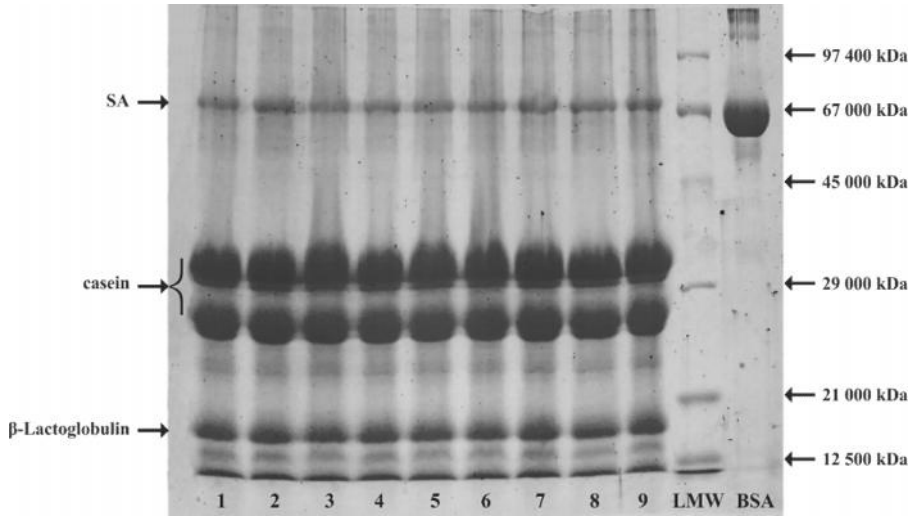
Фиг. 1. Стандартна крива на протеинов маркер
Fig. 1. Standard Protein Marker Curve

Млякото съдържа четири основни типа казеинови белтъци – αs1, αs2, β и κ които се отличават по състав и аминокиселинна последователност в полипептидната верига. Както бе посочено, млякото съдържа група протеини, известни като суроватъчни протеини, които могат да взаимодействат и да образуват химически комплекси (Jovanovic et al., 2007).

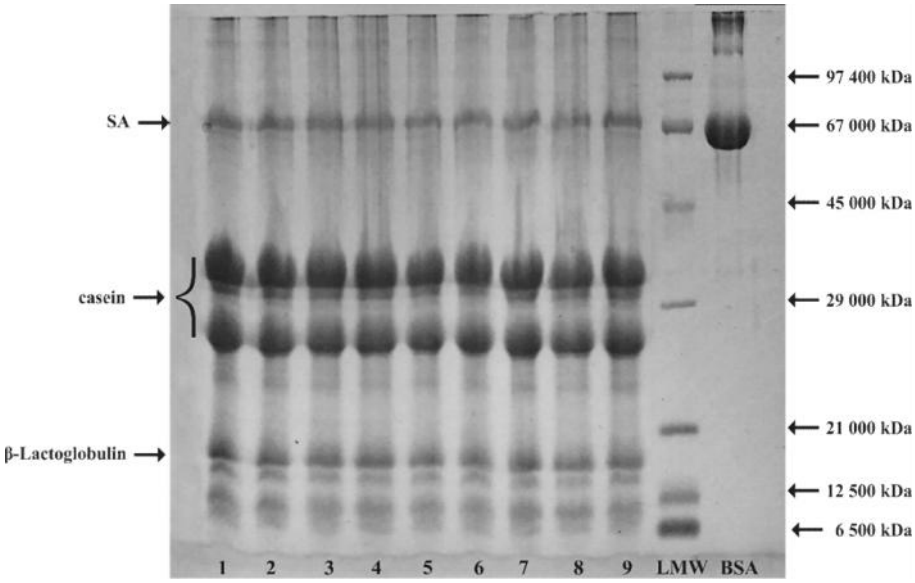
На Фигури 2, 3 и 4 са представени резултатите от електрофореза в полиакриламиден гел на проби козе кисело мляко след зададен период на съхранение при различни температури – 5, 10 и 15 °C.

The milk contains four major types of casein proteins – αs1, αs2, β and κ which differ in composition and amino acid sequence in the polypeptide chain. As mentioned, the milk contains a group of proteins known as whey proteins that can interact and form chemical complexes (Jovanovic et al., 2007).

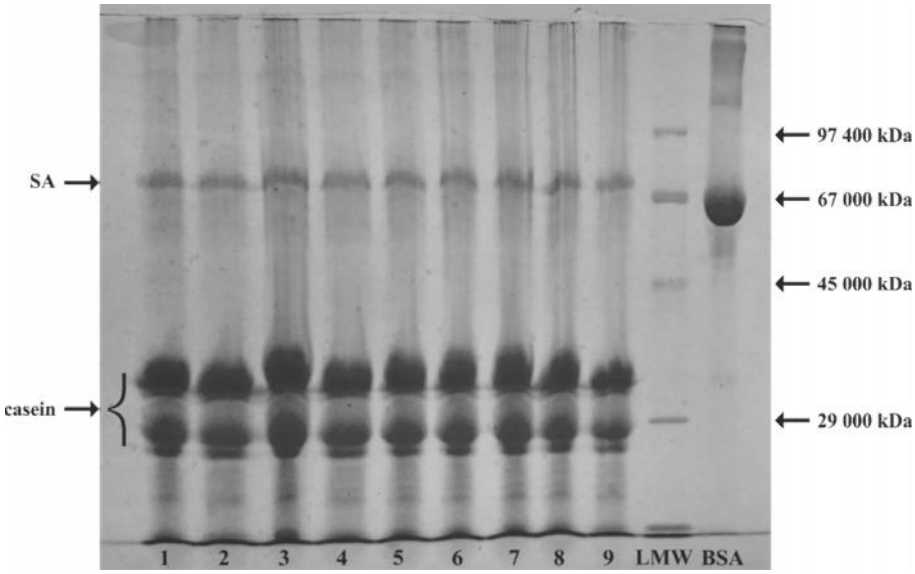
Figures 2, 3 and 4 show the result of the polyacrylamide gel electrophoresis on goat yoghurt samples after a set storage period at different temperatures of 5, 10 and 15 °C.



Фиг. 2. Електрофореза в полиакриламиден гел на проби козе кисело мляко съхранявано при температури – 5, 10 и 15 °C за период от време – 1 ден
Fig. 2. Polyacrylamide gel electrophoresis on goat yoghurt samples stored at 5, 10 and 15 °C for a period of time – 1 day



Фиг. 3. Електрофореза в полиакриламиден гел на проби козе кисело мляко съхранявано при температури – 5, 10 и 15 °C за период от време 11 дни
Fig. 3. Polyacrylamide gel electrophoresis on goat yoghurt samples stored at 5, 10 and 15 °C for a period of time – 11 days



Фиг. 4. Електрофореза в полиакриламиден гел на проби козе кисело мляко съхранявано при температури – 5, 10 и 15 °C за 21 дни
Fig. 4. Polyacrylamide gel electrophoresis on goat yoghurt samples stored at 5, 10 and 15 °C for a period of time – 21 days

Чрез дензитометричен анализ е определена електрофоретичната подвижност на белтъчните фракции на изследваните опитни варианти.

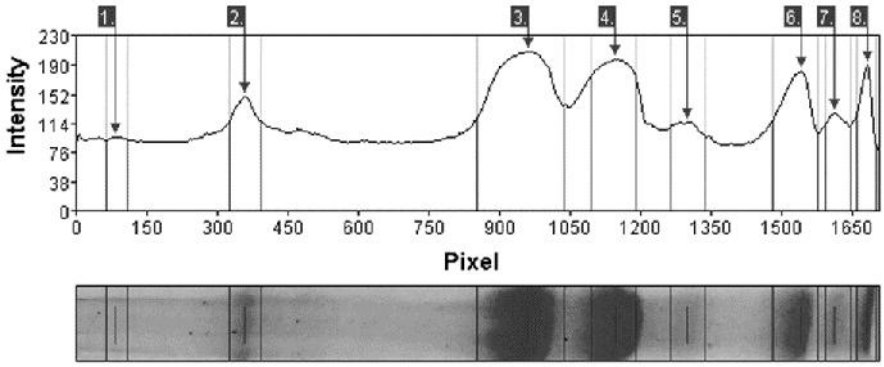
При вариант 1 (продукт 1) след съхранение 1 ден бяха отчетени Rf стойности в диапазона от 0,048 до 0,985, които имат молекулни тегла от 15,2 до 115 kDa.

На Фигура 5 е представена дензитометрична крива на белтъчните фракции при този вариант проба, който приемаме за контролен. От електрофоретичните изследвания на белтъчния спектър се установи, че се открояват главно 5 основни ивици отговарящи по молекулна маса на следните белтъчни фракции: казеинови фракции α-казеин (29,1 kDa) и β-казеин (23,4 kDa), а от суроватъчните белтъци отчетливо се проявяват β-лактоглобулин (16,6 kDa), α-лактоалбумин (14,2 kDa) и серумен албумин (71 kDa).

Densitometric analysis determined the electrophoretic motility of the protein fractions of the tested experimental variants.

In Variant 1 (Product 1), after storage for 1 day, Rf values ranging from 0.048 to 0.985, which have molecular weights from 15.2 to 115 kDa, were reported.

Figure 5 shows a densitometric curve of the protein fractions in this variant sample which we assume to be control. From the electrophoretic studies of the protein spectrum it was found that mainly 5 basic bands corresponding to the molecular mass of the following protein fractions were clearly shown: casein fractions α-casein (29.1 kDa) and β-casein (23.4 kDa) and the whey proteins β-lactoglobulin (16.6 kDa), α-lactalbumin (14.2 kDa) and serum albumin (71 kDa).



Фиг. 5. Дензитограма на казеиновите и суроватъчни фракции
Fig. 5. Densitogram of casein and whey fractions

Mohd Akmal and Norshafiqa (2016) посочват, че за молекулите на α-казеина и β-казеина са определили следните молекулни маси съответно 30.2 kDa и 23.9 kDa.

Фракции с аналогична молекулна маса отговаряща на казеиновите белтъци, са отчетени и в настоящето проучване.

Larson (1985) и Shigeru (1988) са определили молекулните маси на β-лактоглобулина и α-лакталбумин съответно 18.3 kDa и 14.17 kDa.

Независимо от факта, че млечните протеини имат структурно и аминокиселинно сходство, молекулната им маса може да варира в определени граници дори при проби мляко от един и същ вид (Shauket et al., 1998).

Резултатите от проведените елекрофоретични изслседвания на различни варианти козе кисело мляко след престой 1 и 11 дни имат сходен електрофоретичен спектър като контролата (Фигура 2 и 3). При всички проби се отчита наличието на казеиновите фракции с молекулни маси между 20-30 kDa. От суроватъчните белтъци отчетливо се проявяват β-лактоглобулина и серумния албумин.

Според SDS-PAGE и резултатите от дензитометричния анализ пови-

Mohd Akmal and Norshafiqa (2016) indicate that α-casein and β-casein molecules have determined the following molecular masses, respectively, of 30.2 kDa and 23.9 kDa.

Fractions of analogous molecular mass corresponding to casein proteins were also reported in the present study.

Larson (1985) and Shigeru (1988) have determined the molecular masses of β-lactoglobulin and α-lactalbumin respectively of 18.3 kDa and 14.17 kDa.

Despite the fact that milk proteins have a structural and amino acid similarity, their molecular mass may vary within certain limits even in milk samples of the same species (Shauket et al., 1998).

The results of the electrophoretic examinations of various goat yoghurt variants after 1 and 11 days stay have a similar electrophoretic spectrum as the control one (Figures 2 and 3). For all samples the presence of casein fractions with molecular masses between 20-30 kDa is reported. In the whey proteins are clearly expressed the β-lactoglobulin and serum albumin.

According to SDS-PAGE and the results of the densitometric analysis, the

шаването на температурата и периода на съхранение от 1 на 11 дни не намалява интензитета на основните белтъчни фракции. Отчита се липса на ко-агрегати и хидролизати.

При пробите съхранявани 21 дни се установява лека промяна във вида и броя на протеиновите ивици спрямо контролата (Фигура 4). При варианти 3, 6 и 9 съхранявани на 15 °C се отчитат разтеглени линии отговарящи на казеиновите белтъци. Отчита се и леко намаление в количеството на казеиновите фракции за вариант 9.

Също така се установяват промени в белтъчния спектър на суроватъчните белтъци (не се идентифицират ивиците, съответстващи на α-лактоалбумин и β-лактоглобулин).

increase in temperature and storage period from 1 to 11 days did not reduce the intensity of the major protein fractions. A lack of co-aggregates and hydrolysates is reported.

Samples stored for 21 days showed a slight change in the type and number of protein bands in respect to the control one (Figure 4). For variants 3, 6 and 9 stored at 15 °C, stretched lines corresponding to casein proteins are reported. It shows a slight decrease in the amount of casein fractions for variant 9.

Also, changes in the protein spectrum of whey proteins are detected (the bands corresponding to α-lactalbumin and β-lactoglobulin are not identified).

ИЗВОДИ

Протеиновите профили на трите вида пробиотични продукти, създадени на основата на козе мляко, получени чрез подбор и включване на допълнителни щамове към класическа закваска не показват значими различия. Факторите период и температура на съхранение в по-голяма степен са определящи за изменението в състоянието на белтъчните вещества при изследваните опитни групи.

CONCLUSIONS

The protein profiles of the three probiotic products based on goat milk obtained by selection and inclusion of additional strains to classical starter did not show significant differences. Factors such as storage and temperature and period are more important for the change in the status of protein substances in the examined test groups

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Champagne, C., D. Roy and N. Gardner**, 2005. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 45, 61-84.
2. **Fox, P. and P. McSweeney**, 1998. Milk proteins. In: *Dairy Chemistry and Biochemistry.* London: Chapman & Hall, pp. 146-239.
3. **Haenlein, G.**, 2005. About the evolution of goat and sheep milk production. *Small Rumin. Research,* 68, 3-6.
4. **Jovanovic, S., M. Barac, O. Macej, T. Vucic and C. Lacnjevac**, 2007. SDS-PAGE analysis of soluble proteins in reconstituted milk exposed to different heat treatments. *Sensors,* 7(3), 371-383.
5. **Laemli, U.**, 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature,* 227, 680-685.
6. **Larson, B.**, 1985. Lactation. In: Lactation. 2nd Ed., Lowa state university press, pp. 139-183.
7. **Mohd Akmal, A. and S. Norshafiqa**, 2017. Isolation and Molecular Characterization of Local Goat Milk Casein for Nutraceutical Value. In: Engineering Technology International Conference 2016*,* 97, 1-5.

8. **Morr, C.**, 1985. Functionality of heated milk proteins in dairy and related foods. *Journal of Dairy Science,* 68(10), 2773-2781.
9. **Shauket, M., M. Ashfaque, I. Hussain and T. M. Chaudhry**, 1998. SDS-PAGE with discontinuous buffer system of goat milk whey. *Pakistan Veterinary Journal,* 18(4), 173-176.
10. **Shigeru, Y.**, 1988. Isolation of some minor milk proteins, distributed in acid whey from approximately 100,000 to 250,000 Daltons of particle size. *Journal of Dairy Science,* vol. 71, 1-9.
11. **Slacanac, V., R. Bozanic, J. Hardi, Rezessyne J. Szabo, M. Lucan and V. Krstanovic**, 2010. Nutritional and therapeutic value of fermented milk. *International Journal of Dairy Technology,* 63(2), 71-189.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2018, 21 (1), 61-74
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Значение на оценката на фуража за преживни животни за хранителна система и оптимизация на хранителния режим в Румъния

Ана Елена Кисмилеану*, Смаранда Тома, Илие Воику, Каталин Драгомир

[1]Национален институт за изследване и развитие на животновъдството и храните (IBNA), Балотещи, "Калея Букурещ" 1, 077015 Балотещи, Румъния

Some considerations on ruminant feed evaluation by Romanian nutrition system and on diet optimisation

Ana Elena Cismileanu*, Smaranda Toma, Ilie Voicu, Catalin Dragomir

[1]National Research Development Institute for Animal Biology and Nutrition – IBNA Balotesti, Calea Bucuresti 1, 077015 Balotesti, Romania

**E-mail: ana_cismileanu@yahoo.com*

Received: 17.04.2018 *Accepted: 17.08.2018* *Published:* 24.08.2018

РЕЗЮМЕ

Последните оценки на хранителната стойност на различни фуражни ресурси в Румъния, въз основа на техния химичен анализ, разкриха значителни разлики от референтните стойностите. Така възниква необходимост от оценка на различията и тяхното въздействие върху формулирането на хранителния режим на преживните животни. В настоящето изследване са проучени 38 вида насипен фураж, като например царевица, сорго и силаж от люцерна, сено от люцерна (от хълмисти и планински райони), слама от пшеница и ечемик; 30 вида концентриран фураж (зърнено-житни култури): царевица, пшеница, ечемик, овес и тритикале; и протеинови фуражи, като например соев шрот, грах, трици и др. Пробите са взети от много региони от южна, югоизточна, североизточна, както и от средната част на Румъния. В срав-

SUMMARY

Recent estimations of the feeding value of various Romanian feed resources, based on their chemical analyses, often revealed significant differences from the table feed values. This raised the need to assess these variations and theirs implications on the formulation of the typical diets for ruminants.

In this study, 38 bulk feeds were analysed, such as corn, sorghum and alfalfa silage, alfalfa hay (hill and mountain), wheat and barley straws, as well as 30 concentrate feeds (cereal grains): corn, wheat, barley, oats and triticale, and protein feeds, such as soybean meal, peas, bran, etc. The samples were taken from many regions of S, S-E and N-E and also, from the middle of Romania.

нение с данните от таблицата, оценените хранителни стойности на насипния фураж варират между 84% и 101% енергия (NE_m), между 74% и 110% за смилаем протеин в тънките черва в зависимост от азота (IDPN) и между 79% и 117% за смилаем протеин в тънките черва в зависимост от енергията (IDPE). Хранителните стойности на концентрираните фуражи варират от 91% до 102% енергия, 53% до 125% за IDPN и 96% до 112% за IDPE. Тези колебания могат да предизвикат отклонения до 30% (като например при IDPN) от изискванията за някои категории селскостопански преживни животни с потенциално отрицателно въздействие както върху производствените нива, така и върху ефективността на храненето. Като цяло изследването разкрива необходимостта от преразглеждане и актуализиране на настоящите данни в таблицата, за да се приведе в съответствие с развитието на хранителния потенциал на фуражите (напр. Зърнените култури), както и с развитието на методите, използвани за оценка стойността на фуражите.

Ключови думи: фуражи, преживни животни, хранителна стойност

Compared to the table references, the assessed nutritive values of the bulk forages ranged between 84% and 101% for energy (NE_m), between 74% and 110% for IDPN and between 79% and 117% for IDPE.

The assessed nutritive values of the concentrate feeds varied from 91% to 102 % for the energy, 53% to 125% for IDPN and 96% to 112% for IDPE. These variations may induce biases of up to 30% (such as for IDPN) from the requirements for some categories of ruminant farm animals, with potential negative implications either on the productive levels or feeding efficiencies.

Overall, the study revealed the need to review and update the current table data, in order to align them to the evolution of the nutritive potential of the feedstuffs (e.g. case of corn grains) as well as to the evolution of the methods used for assessing the feed value.

Key words: feed, ruminant, nutritive value

УВОД

Румънската система за оценка на хранителната стойност на фуражите за преживни животни се появи в резултат на необходимостта да се оцени колкото е възможно по-точно потенциала за производство на преживни животни, включително тяхната цена, която се отразява значително в общите разходи за животински продукти. Първоначално, през 1983 г. Burlacu са инициирали румънската система за хранене на животните (включително преживни животни), като се основават на поредица от данни, получени от експериментите в Румъния в Националния институт за изследване и развитие на животновъдството и храните (IBNA) в Балотещи, но в същото време, имайки предвид известните хранителни системи по това време – Институт "Оскар Келнер" в Германия (OKIT) през 1970 г., Съвет за селскостопански изследвания

INTRODUCTION

The Romanian system for assessing the nutritional value of ruminant feeds has emerged as a result of the need to assess their potential for ruminant production as accurate as possible, implicitly their cost, which is reflected considerably in the total cost of animal products.

Initially, in 1983, Burlacu have initiated the Romanian animal nutrition system (including ruminants) taking as a basis a series of data obtained from the experimental determinations in Romania at IBNA Balotesti Institute, but at the same time, having reference to the known nutritional systems at that time – Oscar Kellner Institute in Germany (OKIT) in 1970, Agricultural Research Council (ARC) in UK in 1975, National Research

(ARC) в Обединеното кралство през 1975 г., Национален съвет за научни изследвания (NRC) в САЩ през 1976 г. и Национален институт по агрономство (INRA) във Франция през 1978 г. В рамките на тази система Burlacu (1983) взима предвид средната хранителна стойност на фуражите в чуждестранните системи, но и тяхната енергийна стойност, изразена по различен начин, като например: нетна енергия на мазнините (като OKIT), нетна енергия за поддръжка и производство (както ARC и NRC, 1976) и нетната енергия на млякото (INRA, 1978).

Румънската хранителна система е актуализирана през 2002 г., като са добавени някои уравнения или коефициенти, позволяващи по-точна оценка (Burlacu et al., 2002). Също така са въведени съвременни техники за измерване на различните компоненти на системата, за да се увеличи точността на оценката на фуражите. За енергийния и протеиновия метаболизъм при едрия рогат добитък е направено и моделиране, както бе представено от Burlacu et al. (2006). Накратко, споменаваме, че енергията на фуражите се отчита като нетна енергия, по-точно като хранителни единици в сравнение с енергийното съдържание на стандартния ечемик, а стойността на протеиновата храна се изразява като в системата PDI на INRA (Verité et al., 1987) според протеина, усвоен в тънките черва.

В настоящата практика в животновъдство в Румъния открихме разлики между референтните стойности на таблицата и тези, определени за енергийното и протеиновото съдържание на много хранителни съставки, използвани за хранене на преживни животни. В същото време може да се отбележи, че данните за хранителните системи в различните страни се преглеждат периодично поради промени, причинени от изменението на климата, почвата, степента на подобряване на фуражните растения, появата на много вторични продукти за хранене на животни. Поради това, румънските референтни стойности трябва да бъдат актуализирани. В този контекст, настоящето изследване има за цел да определи коли-

Council (NRC) in USA in 1976 and Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) in France in 1978. Within this system Burlacu (1983) took into account the average of the feed nutrition values in the foreign systems, but also their energy value, expressed differently, as for example: net energy for fat (as OKIT), net energy for maintenance and production (as ARC and NRC, 1976) and net energy for milk (INRA, 1978).

The Romanian nutrition system was updated in 2002 by adding some equations or coefficients allowing a more accurate assessment (Burlacu et al., 2002). Modern techniques have also been introduced to measure the various components of the system in order to increase accuracy of the feed evaluation. For energy and protein metabolism in cattle, even modelling has been done as presented by Burlacu et al. (2006). Briefly, we mention that the energy of the feeds are reported as net energy, more precisely as nutritive units compared to the energy content of standard barley, and the protein feed value is expressed as in the PDI system of INRA (Verité et al., 1987) by protein digested in small intestine.

In current animal husbandry practice in Romania, we found differences between the table reference values and those determined for the energy and protein content of many feed ingredients used for ruminants feeding.

At the same time, it could be noticed that the data of the nutritional systems of different countries are reviewed periodically due to changes caused by climate change, soil, the degree of fodder plants amelioration, the appearance of many by-products for feed use.

This is the reason that Romanian reference values need to be updated. In this context, this study aims to quantify

чествено отклоненията от хранителната стойност от табличните справки, но също така да оцени последиците от тях за оптимизиране на дажбите за преживните животни в стопанствата.

deviations of nutritional value from table references, but also to estimate the implications of these deviations for optimizing rations for farm ruminants.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Представяне на фуражната система система

Системата се основава на описване на уравненията, което позволява диференциране на междинните изчислителни стъпки.

а. Показателите за енергийно съдържание на фуража са: брутна енергия (GE), усвояема енергия (ED), метаболизираща се енергия (EM) и нетна енергия (NE), изразена чрез фуражна единица в период на лактация (UFL) и фуражни единици при производство на месо (UFV).

GE е определена чрез адиабатна калориметрия, но в настоящия момент се изчислява чрез уравнения, при които независимите променливи са хранителните съставки на химическия състав (грамове/kg сухо вещество DM). За концентрати е използвано уравнението на Schiemann et al. (1971):

MATERIAL AND METHODS

Presenting the feed system

The system is based on inventory of equations, which allows differentiation of intermediate calculation steps.

a. Indicators for feed energy content are: gross energy (GE), digestible energy (ED), metabolizable energy (EM) and net energy (NE), expressed by feed unit for lactation (UFL) and feed units for meat production (UFV).

The GE was determined by adiabatic calorimetry but in the present it is calculated by equations where the independent variables are the chemical composition nutrients (grams/ kg feed dry matter DM). For concentrates, the equation of Schiemann et al. (1971) is applied:

$$GE\ (kJ/kg\ DM) = 23.95xCP + 39.77xEE + 20.05xCF + 17.46xNFE + h,$$

където h е променлив коефициент за различни фуражи и CP = суров протеин, EE = етерен екстракт CF = сурови влакнини, NFE = безазотни екстрактни вещества.

За свежите фуражи и сено GE се изчислява, като се използва уравнението на Demarquilly et al., (1978), а уравнението на Andrieu and Demarquilly (1987) се използва за силажа.

Първоначално ED се определя директно чрез експерименти върху клетките за смилаемост като разлика между GE и енергийната стойност на изпражненията. Друг метод е изчислението чрез формулата на Hoffmann and Schiemann (1980) използвайки смилаемата част от хранителните вещества:

where h is a variable coefficient for different feeds and CP=crude protein, EE=ether extract, CF=crude fiber, NFE=nitrogen-free extractives.

For fresh forage and hay the GE is calculated using Demarquilly et al. (1978) equation, and for silage the Andrieu and Demarquilly (1987) equation.

Initially, the ED was determined directly by experiments on digestibility cages as difference between the GE and faeces energy. Other method was the calculation by Hoffmann and Schiemann (1980) formula and using the digestible part of the nutrients:

$$ED\ (kJ/kg\ DM) = 24.2xCPD + 34.1xEED + 18.4xCFD + 17x\ NFED,$$

където CPD = смилаем суров протеин,

where CPD= digestible crude protein,

EED = смилаем етерен екстракт, CFD = смилаеми сурови влакнини и NFED = смилаеми безазотни екстрактни вещества; тези стойности са обосновани в таблици за различните категории фуражи. Друго уравнение (Sauvant et al., 1987) използва смилаемата органична материя (DOM), както следва:
% ED = % DOM + h, където h е променлив коефициент за различни фуражи.
В настоящия момент DOM се оценява по метода Tilley and Terry (1963) in vitro и ние инициираме прилагането на метода Pepsin-Cellulase (Aufrere, 2007) за силно възпроизводими резултати.
EM е разликата между GE и сумата на загубата на енергия от изпражненията, газова ферментация и урина. Производството на ферментационни газове зависи от състава на дажбата, приема, възрастта и производителността на животното, достигайки 400 l за 24 часа при крави и 50 l за овце (Burlacu, 1985). Енергията за урината варира в зависимост от възрастта на животното, неговото физиологично състояние, нивото на производство и съдържанието на азот в дажбата. Също така, енергията на урината е по-висока при угояващите животни, през бременността и периода на лактация, обикновено при тези с по-високи нива на производителност. За изчисляване на EM е приложено уравнението на Burlacu (1985), което е сходно с това на системата OKIT:

EED= digestible ether extract, CFD= digestible crude fiber and NFED= digestible nitrogen-free extractives; these values are valid in tables for various categories of feed. Another equation (Sauvant et al., 1987) used the digestible organic matter (DOM) as follows:

% ED = % DOM + h, where h is a variable coefficient for different feeds.

In the present, DOM is evaluated by Tilley and Terry (1963) *in vitro* method and we initiate the application of the Pepsin-Cellulase method (Aufrere, 2007) for highly reproducible results.

The EM is the difference between GE and the sum of the energy lost by faeces, gas fermentation and urine. The production of fermentation gases depends on the composition of the ration, the intake, the age and the production of the animal, reaching 400 L in 24 hours for cows and 50 L for sheep (Burlacu, 1985). The energy for urine varies according to the age of the animal, its physiological state, the level of production and the nitrogen content of the ration. Also, the energy of urine is higher in fattening animals, in gestation and lactation, generally in those with higher production levels. For EM calculation the equation of Burlacu (1985) was applied which was similar with that of the OKIT system:

EM (kJ /kg DM) =17.32xCPD + 30.9xEED + 16.15x(CFD + NFED) ± 1.66 MJ

Формулата на Vermorel et al. (1987) е по-бърза за изчисление:

A more rapid calculation is the formula of Vermorel et al. (1987):

EM/ED= 0.8417 – 0.000099xCFo – 0,000196xCPo + 0,0221xAPL,

където CFo= g CF/kg OM, CPo= g CP/kg OM, и APL = нивото на животинска продукция е установено на 1.5.
NE е разликата между EM и калорийната енергия. Burlacu et al., измерват калорийната енергия между

where CFo= g CF/kg OM, CPo= g CP/kg OM, and APL = animal production level settled at 1.5.
The NE is the difference between EM and caloric energy. Burlacu et al. measured the caloric energy between 1980 and

1980 и 1985 в Института IBNA в Балотещи чрез метод на респираторни промени в специални камери с отворен поток.

Днес, NE се изчислява по различни начини за производството на мляко и за производството на месо. Първо, енергийното съдържание на фуража се изчислява: q = EM/GE и след това ефективността на използването на EM (K) като нетна енергия за поддръжка (NEm), нетната енергия за производство на месо (NEp) и нетната енергия за лактация NEl) за стандартен APL от 1.5 (Vermorel et al., 1987).

NEm = EM x Km, където Km = 0.287 q + 0.554 е ефективността за поддръжка;

NEp = EM x Kp, където Kp = 0,78 q + 0,006 е ефективността за производството на месо;

NEl = EM x Kl, където Kl = 0,24 q + 0,463 е ефективността на лактацията.

В Румъния изразяваме NE в хранителната единица за лактация (UFL) и фуражните единици за производство на месо (UFV), отнасящи се до енергийното съдържание на стандартен ечемик. GE на 1 кг ечемик е 16,69 MJ (или 3989 kcal), а ED е 71,5% от GE, т.е. 11,94 Mj (2853 kcal). Стойността q е 0.599, така че EM е 10 Mj (2414 kcal). Капацитетът Kl е 0.607, а Kmp е 0.616. Harkins et al. (1974) изчислява общата ефективност за поддръжка и производство на месо, Kmp. Резултатът е нетна енергия в периода на лактация от 6.07 Mj (1436 kcal), считана за 1 UFL, и нетна енергия за поддръжка и производство на месо от 6.16 Mj (1472 kcal), считана за 1 UFV.

b. Протеиновата стойност на храната, изразена в термините на PDI системата на INRA, е сумата от две фракции: IDPN (смилаем протеин в тънките черва в зависимост от азота) и IDPE (смилаем протеин в тънките черва в зависимост от енергията). И двата вида енергия включват смилаемата част на хранителния протеин, неразградена в търбуха, отбелязана според PDIA.

1985 in the IBNA Balotesti Institute by respiratory changes method in special chambers with open flow.

Today, the NE is calculated in different ways for milk production and for meat production. First, the energy content of the feed is calculated: q = EM/GE, and then the efficiency of EM utilisation (K) as net energy for maintenance (NEm), net energy for meat production (NEp) and net energy for lactation (NEl) for a standard APL of 1.5 (Vermorel et al., 1987).

NEm = EM x Km, where Km = 0.287 q + 0.554, is the efficiency for maintenance;

NEp = EM x Kp, where Kp = 0.78 q + 0.006, is the efficiency for meat production;

NEl = EM x Kl, where Kl = 0.24 q + 0.463, is the efficiency for lactation.

In Romania we express NE in feed unit for lactation (UFL) and feed units for meat production (UFV) referring to the energy content of standard barley. The GE of 1 kg of barley is 16.69 MJ (or 3989 kcal) and the ED is 71.5% of GE, that means 11.94 Mj (2853 kcal).

The q value is 0.599, so the EM is 10 MJ (2414 kcal). The Kl capacity is 0.607, and Kmp is 0.616. Harkins et al. (1974) calculated the overall efficiency for maintenance and meat production, Kmp. The result is net energy for lactation of 6.07 MJ (1436 kcal) considered 1 UFL, and net energy for maintenance and meat production of 6.16 MJ (1472 kcal) considered 1 UFV.

b. The protein value of the feeds expressed in the terms of the PDI system of INRA is the sum of two fractions: IDPN (intestinally digestible protein allowed by nitrogen) and IDPE (intestinally digestible protein allowed by energy).

Both of these energies include the digestible part of the dietary protein, undegraded in the rumen, noted PDIA.

PDIA (g/kg DM) = PB (g/kg DM) x (1 - Dg) x dsi

Dg е разградимостта на белтъка в търбуха и се изчислява по уравнението на Alderman (1993) след тестването на фуража чрез SACCO метод върху крави с фистулизация:

Dg is the protein degradability in the rumen and is calculated by Alderman (1993) equation after testing feed by *in sacco* method on fistulizated cows:

Dg = a + (b x c)/(c + r)

където:
a = бързо разграждаща се протеинова фракция (%)
b = потенциално разграждаща се протеинова фракция (%)
c = скорост, при която b се разгражда (h^{-1})
r = скорост на храната, която излиза от търбуха (ruminal outflow rate) (е променлива, от 0,019 за APL от стойност 1 (за поддръжка) до 0,104 за максимална APL от 4,5 (за високопродуктивни млечни крави))
dsi = истинска смилаемост на неразграден хранителен протеин в тънките черва.

where:
a = rapidly degradable protein fraction (%)
b = potentially degradable protein fraction (%)
c = rate at which b is degraded (h^{-1})
r = the ruminal outflow rate (is variable; from 0.019 for APL of value 1 (for maintenance) to 0.104 for a maximum APL of 4.5 (for high-productivity dairy cows))
dsi = true digestibility of undegraded dietary protein in small intestine.

PDIM е микробният истински протеин, който е наистина смилаем в тънките черва. Тази част от PDIM, която би могла да бъде синтезирана в търбуха от деградирания диетичен азот, е наречена PDIMN, а другата част на PDIM, която може да бъде синтезирана от наличната в търбуха енергия, се нарича PDIME.
Така че стойността на всяка храна се дава директно като сумата от PDIA и PDIM.

PDIM is the microbial true protein which is truly digestible in the small intestine. The part of the PDIM that could be synthesized in the rumen from the degraded dietary nitrogen is named PDIMN and the other part of the PDIM that could be synthesized by energy available in the rumen is called PDIME.
So, the value of each feed is given directly as the sum of PDIA and PDIM.

IDPN = PDIA + PDIMN
PDIMN (g/kg DM) = PB (g/kg DM) x (1-(1-Dg)) x 0.9 x 0.8 x 0.8 = 0.576 x CP x Dg,

където 90% от протеина е уловен в търбуха и микробният протеин има 80% аминокиселини с 80% смилаемост.

where 90% of the protein is captured in the rumen and microbial protein has 80% aminoacids with 80% digestibility.

IDPE = PDIA + PDIME
PDIME (g/kg DM) = FOM x 0.145 x 0.8 x 0.8 = 0.093 x FOM,

където FOM е ферментационното органично вещество, използвано за

where FOM is the fermentable organic matter used for 145 g of microbial protein

145 g синтез на микробния протеин. FOM се изчислява от съдържанието на DOM по формулата:

synthesis. FOM is calculated from the DOM content by formula:

$$FOM = DOM – [CP \times (1- Dg) + EE + PF],$$

където PF са продуктите на ферментация за различни категории силажи и са представени като таблични стойности от Burlacu et al. (2002).

where PF are the fermentation products for different silages categories and are presented as table values by Burlacu et al. (2002).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Отклонения в хранителните стойности на фуража

В настоящето изследване са проучени 38 вида насипен фураж, като например царевица, сорго и силаж от люцерна, сено от люцерна (от хълмисти и планински райони), слама от пшеница и ечемик; 30 вида концентриран фураж (зърнено-житни култури): царевица, пшеница, ечемик, овес и тритикале; и протеинови фуражи, като например соев шрот, грах, трици и др. Пробите са взети от много региони от южна, югоизточна, североизточна, както и от средната част на Румъния.

На първо място, химичният състав на хранителните проби се определя чрез общоприетите методи (ЕС 152/2009): сухо вещество, суров протеин, сурови влакна, екстракти на етер, пепел и безазотни екстрактни вещества. Стойността на DOM за всяко хранене е резултат от метода на Tilley and Terry (1963), прилаган върху инкубатора Ankom Daisy. Хранителните Dg стойности се определят чрез метод за статистически анализ SACCO.

Енергийните и протеиновите хранителни стойности на всички фуражи са изчислени по системата на Burlacu et al. (2002), представена по-горе. Тези стойности са сравнени с референцията от Burlacu et al. (2002). В Таблица 1 са представени 4^{те} често използвани фуражи за преживни животни и техните хранителни стойности. За общите фуражи (сено от люцерна и силаж от царевица), оценените хранителни стойности варират между 84% и 101% за енергията (NEm), между 74% и 110% за IDPN и

RESULTS AND DISCUSSION

Deviations of the feed nutritive values

In a recent study 38 bulk feeds were analysed, such as corn, sorghum and alfalfa silage, alfalfa hay (hill and mountain), wheat and barley straws, as well as 30 concentrate feeds (cereal grains): corn, wheat, barley, oats and triticale, and protein feeds, such as soybean meal, peas, bran, etc. The samples were taken from regions of S, S-E and N-E and also, from the middle of Romania.

First, the chemical composition of the feed samples was determined by the commonly accepted methods (EC 152/2009): dry matter, crude protein, crude fibre, ether extractives, ash and nitrogen-free extractives. The DOM value for each feed resulted from Tilley and Terry (1963) method applied on Ankom Daisy Incubator. The feed Dg values were determined by *in sacco* method.

The energy and protein feeding values of all the feeds were calculated by the system of Burlacu et al. (2002), presented above. We compared these values with the reference from Burlacu et al. (2002). In Table 1 are presented 4 commonly used feed for ruminants and their nutritive values. For the bulk forages (alfalfa hay and corn silage), the assessed nutritive values ranged between 84% and 101% for energy (NE_m), between 74% and 110% for IDPN and between 79% and 117% for IDPE. For the concentrate

между 79% и 117% за IDPE. За концентрирания фураж, (царевичен и соев шрот) оценените хранителни стойности варират от 91% до 102% за енергията, 53% до 125% за IDPN и 96% до 112% за IDPE. Също така са наблюдавани същите несъответствия при други фуражи (не са представени).

feed (corn and soybean meal) the assessed nutritive values varied from 91% to 102 % for the energy, 53% to 125% for IDPN and 96% to 112% for IDPE. We observed also, the same discrepancies for another feeds (not presented).

Таблица 1. Примери за хранителни стойности на 4те най-често използвани фуражи
Table 1. Examples of nutritive values of the 4 commonly used feeds

		UFL	IDPN (g)	IDPE (g)	Ca (g)	P(g)
Концентрирани фуражи / Concentrates						
Царевица-референтни ст. / Corn – reference values		1.43	96	116	0.3	2.9
Царевица – 8 проби – получени стойности	min.	1.30	51	111	0.2	2.0
Corn – 8 samples – obtained values	max.	1.46	74	130	1.2	4.1
Соев шрот – референтни ст. / Soya meal – reference values		1.37	326	211	3.6	6.4
Соев шрот – 6 проби – получени стойности	min.	1.33	309	205	2.0	6.3
Soya meal – 6 samples – obtained values	max.	1.39	408	214	3.5	7.8
Фуражи / Forages						
Сено от люцерна/Alfalfa hay – reference values		0.76	107	68	14.9	2.9
Сено от люцерна – 16 проби – получена стойност	min.	0.64	79	54	7.5	2.4
Alfalfa hay – 16 samples – obtained values	max.	0.76	118	73	17.4	4.6
Царевичен силаж- реф. ст./Corn silage – reference values		1.05	46	68	4.3	2.3
Царевичен силаж – 8 проби – получени стойности	min.	0.88	34.6	50	3.7	2.1
Corn silage – 8 samples – obtained values	max.	1.06	50.1	79.6	5.4	2.4

1 UFL = 6,07 MJ = хранителна единица при лактация / feed unit for lactation
IDPN = смилаем протеин в тънките черва в зависимост от азота / intestinally digestible protein allowed by dietary nitrogen content
IDPE = смилаем протеин в тънките черва в зависимост от енергията / intestinally digestible protein allowed by dietary energy content
Ca = калций / calcium, g
P = фосфор / phosphorus, g

Оценка на въздействието за получените хранителни стойности

Използвайки горепосочените фуражи като съставки се симулира дажба от 550 kg на крава в средата на периода на лактация и 20 l дневно производство, с мазнини 4%, при отглеждане в закрито помещение. Нормата е установена за 15.59 UNL и 1325 g PDI. Както е представено в Таблица 2, количествата сухо вещество за всяка съставка са: 2,75 kg сено от люцерна, 7,01 kg царевичен силаж, 3,08 kg царевица и 1,35 kg соев шрот. Може да се забележи, че има стабилно равновесие между IDPN и IDPE, техните стойности са приблизително еднакви и близки до установената стойност. Стойността на UFL е 15.71, също близо до установената.

Impact assessment for obtained nutritive feed values

Using the above presented feeds as ingredients we simulated a ration for a 550 kg cow in mid lactation and 20 milk litres daily production, with fat 4%, indoor rearing. The norm is established for 15.59 UFL and 1325 g PDI. As presented in Table 2 the quantities, in DM for each ingredient, are: 2.75 kg alfalfa hay, 7.01 kg corn silage, 3.08 kg corn and 1.35 kg soybean meal. It can be observed that is a stable balance between IDPN and IDPE, their values are aproximately the same and near the established value. The UFL value is 15.71, also near to the established one.

Таблица 2. Диета за 550 кг крава в средата на периода на лактация, с 20 L дневно мляко и 4% мазнина (отглеждане на закрито) – с нормални хранителни стойности

Table 2. Diet formulation for a 550 kg cow in mid lactation, with 20L/day milk and 4% fat (indoor rearing) – ingredients with normal feeding values

Съставки/Ingredients	supply (as is basis), kg	DM (g)	UFL	IDPN (g)	IDPE (g)	Ca (g)	P (g)
сено люцерна/alfalfa hay		850	0.76	107	68	14.9	2.9
царевица силаж/corn silage		279	1.05	46	68	4.3	2.3
царевица зърна/corn grains		873	1.43	96	116	0.3	2.9
соев шрот/soybean meal		890	1.37	326	211	3.6	6.4
дикалциев фосфат dicalcium phosphate		990	0	0	0	39.7	22.6
сол/salt		900	0	0	0	0	0
специални минерали specific minerals (Zoofort)		900	0	0	0	0	0
ДАЖБА за крава 550 kg/20 l NORM for cow 550 kg/20 L:		16400	15.59	1325	1325	102	65
Фуражи/Forages							
сено люцерна/Alfalfa hay	3.24	2754	2.093	294.678	187.272	41.035	7.987
царевица силаж/Corn silages	25.14	7014.06	7.365	322.647	476.956	30.160	16.132
Общо фуражи/Total forages	28.38	9768.06	9.458	617.325	664.228	71.195	24.119
Комбинирани храни Compound feeds							
царевица зърна/Corn grains	3.53	3081.69	4.407	295.842	357.476	0.925	8.937
соев шрот/Soybean meal	1.52	1352.8	1.853	441.013	285.441	4.870	8.658
дикалциев фосфат dicalcium phosphate	0.67	663.3	0.000	0.000	0.000	26.333	14.991
сол/Salt	0.0705	63.45	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
специални минерали Specific minerals (Zoofort)	0.0468	42.12	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Общо комб. хр. Total compounds	5.8373	5203.36	6.260153	736.855	642.9168	32.1276	32.5854
ОБЩО подадена храна/TOTAL supply		14971.42	15.71796	1354.18	1307.145	103.3227	56.70434
дажбата покрива/covering		91.3%	100.8%	102.2%	98.7%	101.3%	87.2%

В Таблица 3 е представена теоретична дажба за същата крава, но с използване на съставки с минимални хранителни стойности. Дефицитът на хранителните стойности на съставките предизвиква дефицит в дажбата, тъй като са покрити само 78,4% от IDPN и 84,6% от IDPE. Енергията е покрита само с 88,1%. За получените PDI (средна стойност 1080 g) и 13,74 UFL очакваното производство на мляко на

In Table 3 is presented a theoretical ration for the same cow but using ingredients with minimum nutritive values. The deficit of the ingredients nutritive values induces the deficit for ration because only 78.4% of IDPN and 84.6% of IDPE are covered. The energy is covered only 88.1%.

For the resulted PDI (1080 g mean value) and 13.74 UFL, the expected milk

кравата може да бъде само 15 l вместо 20 l. Това е загуба от 5 l за дневна производителност на животните.

production of the cow could be only 15 L instead of 20 L. This is a loss of 5 L for animal daily productivity.

Таблица 3. Диета на крава с тегло 550 kg, по средата на периода на лактация, с 20 l/дневно и 4% мазнина (отглеждана в затворено помещение) – съставки с недостатъчни хранителни стойности
Table 3. Diet formulation for a 550 kg cow in mid lactation, with 20L/daymilk and 4% fat (indoor rearing) – ingredients with deficient feeding values

Съставки/Ingredients	supply (as is basis), kg	DM (g)	UFL	IDPN (g)	IDPE (g)	Ca (g)	P (g)
alfalfa hay		850	0.64	79	55	7.5	2.4
сено люцерна/alfalfa hay		279	0.88	35	50	3.7	2.14
царевица силаж/corn silage		873	1.3	51	111	0.2	2
царевица зърна/corn grains		890	1.33	309	205	2	6.3
соев шрот/soybean meal		990	0	0	0	39.7	22.6
дикалциев фосфат/dicalcium phosphate		900	0	0	0	0	0
сол/salt		900	0	0	0	0	0
специални минерали specific minerals (Zoofort)							
ДАЖБА за крава 550 kg /20 l NORM for cow 550 kg / 20 l:		16400	15.59	1325	1325	102	65
Фуражи/Forages							
люцерна сено/Alfalfa hay	3.24	2754	1.763	217.566	151.470	20.655	6.610
силаж царевица/Corn silages	25.14	7014.06	6.172	245.492	350.703	25.952	15.010
общо фуражи/Total forages	28.38	9768.06	7.935	463.058	502.173	46.607	21.620
комбинирани храни Compound feeds							
царевица зърна/Corn grains	3.53	3081.69	4.006	157.166	342.068	0.616	6.163
соев шрот/Soybean meal	1.52	1352.8	1.799	418.015	277.324	2.706	8.523
дикалциев фосфат dicalcium phosphate	1.3	1287	0.000	0.000	0.000	51.094	29.086
сол/Salt	0.0705	63.45	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
специфични минерали Specific minerals (Zoofort)	0.0468	42.12	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Общо комб. хр./Total compounds	6.4673	5827.06	5.805421	575.181	619.3916	54.41584	43.77222
ОБЩО подадена храна TOTAL supply		15595.12	13.74035	1038.23	1121.565	101.0229	65.39191
дажбата покрива/covering		95.1%	88.1%	78.4%	84.6%	99.0%	100.6%

Таблица 4 е за друга теоретична дажба, за която същите съставки имат максимални хранителни стойности, главно по-високи от референтните. Дори има 15.92 UFL (близки до изискваните 15.59), протеинът е 9.8% прекомерно. Това е загуба на протеини и следователно загуба на разходи за същото производство на мляко.

The Table 4 is for another theoretical ration for which the same ingredients had maximum nutritive values, mainly higher than the reference ones. Even there are 15.92 UFL (close to required 15.59), the protein is 9.8% excessively. This is a waste of protein and consequently, a waste of cost for the same milk production.

Таблица 4. Диета на крава с тегло 550 kg, по средата на периода на лактация, с 20 l/дневно и 4% мазнина (отглеждана в затворено помещение) – съставки хранителни стойности по-високи от референтните
Table 4. Diet formulation for a 550 kg cow in mid lactation, with 20L/day milk and 4% fat (indoor rearing) – ingredients with feeding values in excess compared to the reference values

Съставки/Ingredients	supply (as is basis), kg	DM (g)	UFL	IDPN (g)	IDPE (g)	Ca (g)	P (g)
сено люцерна/alfalfa hay		850	0.76	118	73	17.4	4.6
царевица силаж/corn silage		279	1.06	50	80	5.42	2.45
царевица жърно/corn grains		873	1.46	74	130	1.2	4.1
соев шрот/soybean meal		890	1.4	407	215	3.5	7.87
дикалциев фосфат dicalcium phosphate		990	0	0	0	39.7	22.6
сол/salt		900	0	0	0	0	0
специфични минерали specific minerals (Zoofort)		900	0	0	0	0	0
ДАЖБА за крава 550 kg/20 l NORM for 550 kg cow/20 l:		16400	15.59	1325	1325	102	65
Фуражи/Forages							
люцерна сено/Alfalfa hay	3.24	2754	2.093	324.972	201.042	47.920	12.668
царевица силаж/Corn silages	25.14	7014.06	7.435	350.703	561.125	38.016	17.184
Общо фуражи/Total forages	28.38	9768.06	9.528	675.675	762.167	85.936	29.853
Комб. хр./Compound feeds							
царевица зърно/Corn grains	3.53	3081.69	4.499	228.045	400.620	3.698	12.635
соев шрот/Soybean meal	1.52	1352.8	1.894	550.590	290.852	4.735	10.647
дикалциев фосфат dicalcium phosphate	0.35	346.5	0.000	0.000	0.000	13.756	7.831
сол/Salt	0.0705	63.45	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
специфични минерали Specific minerals (Zoofort)	0.0468	42.12	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Общо комб. хр. Total compounds	5.5173	4886.56	6.393187	778.634	691.4717	22.18888	31.11237
ОБЩО подадена хр. TOTAL supply		14654.62	15.92113	1454.31	1453.639	108.1247	60.96521
дажбата покрива/covering		89.4%	102.1%	109.8%	109.7%	106.0%	93.8%

Ако не вземете предвид правилните хранителни стойности, определени всеки път, когато се използват, можем да вярваме, че сме осигурили хранителните нужди за дажбата, но всъщност те не са гарантирани, защото съставките имат недостиг на хранителни вещества и бихме могли да очакваме под 25% животинска продук-

If you do not take into account the correct nutritional values, determined each time they are used, we can believe that we have provided the nutritional needs for ration, but in fact they are not ensured because the ingredients are nutritionally deficient and we could expect an under 25 % animal production.

ция. Тези колебания могат да предизвикат отклонения до 30% (като например при IDPN) от изискванията за някои категории селскостопански преживни животни с потенциално отрицателно въздействие както върху производствените нива, така и върху ефективността на храненето. Ако, напротив, имаме съставки с по-високи хранителни стойности от референтните, можем да използваме съставките в излишък и затова можем да имаме по-високи разходи за същото производство. Размерът на разходите зависи от вида на съставките и не са за пренебрегване при средна или голяма ферма.

В същото време, за адекватното хранене на селскостопанските животни трябва да се вземе предвид появата на много вторични продукти за хранене на животни. Необходимо е тяхната хранителна стойност да бъде характеризирана и да се препоръчва тяхното използване след това. Например, в статията на Dragomir et al. (2011) са представени основните вторични продукти от преработката на царевично зърно, тяхната хранителна стойност и влиянието им върху енергийния и протеиновия метаболизъм в търбуха. Настоящата статия представя особености на разградимостта на белтъчините в резултат на споменатите вторични продукти.

The variability of feed could induce biases of up to 30% (such as for IDPN) from the requirements for some categories of ruminant farm animals, with potential negative implications either on the productive levels or feeding efficiencies. If, on the contrary, we have ingredients with higher nutritional values than references, we can use the ingredients in surplus and therefore we can have higher costs for the same production. The weight of the costs depends on the type of ingredients and are not negligible for a medium-size or big farm.

At the same time, adequate nutrition of farm animals must also take into account the appearance of many by-products for feed use. It is necessary that they be nutritionally characterized and their use is advisable to occur after their nutritional value is known. For example, in paper of Dragomir et al. (2011) the main corn grain processing by-products are presented, their nutritive value, and their effects on the energy and protein metabolism in the rumen. The paper presents particularities of the rumen protein degradability of the mentioned by-products.

ИЗВОДИ

В представената дажба, дефицит от 22% на IDPN може да доведе до 25% намаление в производството на мляко. Ако стойностите на хранителните фуражи надхвърлят референтните стойности, може да се появи загуба на разходи. Това е предположение, че фуражите трябва да бъдат оценени преди изчисляването на дажбата. Като цяло, изследването разкрива необходимостта от преразглеждане и актуализиране на настоящите румънски референтни стойности, за да се приведе в съответствие с развитието на хранителния потенциал на фуражите, както и с развитието на методите, използвани за оценка стойността на фуражите.

CONCLUSIONS

In the presented ration a 22% deficit of IDPN could produce a 25% decrease in milk production. If the nutritive feeds values are over the references than a waste of costs could appear. This is a suggestion that the feeds must be evaluated before calculation of the ration. Also, the study revealed the need to review and update the current Romanian reference data, in order to align them to the evolution of the nutritive potential of the feedstuffs as well as to the evolution of the methods used for assessing the feed value.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящото проучване е финансирано от румънското Министерство на научните изследвания и иновациите, програмата за клетъчни изследвания.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed by Romanian Ministry of Research and Innovation, Nucleus Program.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Alderman, G.**, 1993. Energy and protein requirements of ruminants. CAB International Wallingsford, UK.
2. **Andrieu, J. and C. Demarquilly**, 1987. Valeur nutritive des fourrages: tables et prevision. Bull. Tech. CRZV Theix, INRA, 70, 61-73.
3. **Aufrere, J., R. Baumont, L. Delaby, J.-R. Peccatte, J. Andrieu, J.-P. Andrieu and J.P. Duphy**, 2007. Prevision de la digestibilite des fourrages par la methode pepsine-cellulase. Le point sur les equations proposees. *INRA Prod. Anim*., 20(2), 129-136.
4. **Burlacu, Gh.**, 1983. Nutritive feed values, feeding norms and rations (romanian language:Valoarea nutritiva a nutreturilor, norme de hrana si intocmirea ratiilor). Ceres, Bucuresti (Ro).
5. **Burlacu, Gh.**, 1985. Energetic metabolism on farm animals (romanian language: Metabolismul energetic la animalele de ferma). Ceres, Bucuresti (Ro).
6. **Burlacu, Gh., A. Cavache and R. Burlacu**, 2002. Feed evaluation for animal productivity application, Anexes for feed nutritive values (romanian language: Potentialul productiv al furajelor si utilizarea lor). Ceres, Bucuresti (Ro).
7. **Burlacu, R., D. Voicu, I. Voicu and Gh. Burlacu**, 2006. Modelling of the bovine metabolic processes for energy and protein (romanian language: Modelarea matematica a proceselor de metabolism energetic si proteic la taurine). Ceres, Bucuresti (Ro).
8. **Demarquilly, C., J. Andrieu, D. Sauvant and J.P. Dulphy**, 1978. Composition et valeur nutritive des aliments. In: INRA, Jarrige R. (ed.), Alimentation des ruminants, Institut National de la Recherche Agronomique Publications, 7800 Versailles, pp. 469-518.
9. **Dragomir, C., S. Toma and J. Lević**, 2011. The effect of byproducts from the corn grain processing on the postprandial dynamics of rumen pH. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 27(3), 571-582.
10. EC 152/2009. Commission Regulation laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. 27 January 2009.
11. **Hoffmann, L. and R. Schiemann**, 1980. *Arch. Tierernahrung*. 30, 733-743.
12. Harkins, J., R.A. Edwards and P. McDonald, 1974. A new net energy system for ruminants. *Anim. Prod*., 19, 141-148.
13. INRA**,** Jarrige R. (ed.), 1978. Alimentation des ruminants. Institut National de la Recherche Agronomique Publications, 7800 Versailles.
14. NRC, 1976. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 6th rev. ed., Natl. Acad. Sci., Washington, D.C., USA.
15. **Sauvant, D., J. Aufrere, B. Michalet-Doreau, S. Giger and P. Chapoutot**, 1987. *Bull. Tech. CRZV Theix*. INRA, 70, 75-91.
16. **Schiemann, R., K. Nehring, L. Hoffman, W. Jentsch and A. Chudy**, 1971. Energetische Futterbewertung und Energienormen, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin.
17. **Tilley, J.M.A. and R.A. Terry**, 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Brit. Grassl. Soc.,* 18, 104-111.
18. **Vermorel, M., J. B. Coulon and M. Journet**, 1987. *Bull. Tech. CRZV Theix*. INRA, 70, 9-19.