Probavljivost kalcija iz ljuske jajeta u kokoši nesilica

Cafuk, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:355885

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Ivana Cafuk

PROBAVLJIVOST KALCIJA IZ LJUSKE JAJETA U KOKOŠI NESILICA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Naziv studija – Hranidba životinja i hrana

Ivana Cafuk

PROBAVLJIVOST KALCIJA IZ LJUSKE JAJETA U KOKOŠI NESILICA

DIPLOMSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Darko Grbeša

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad je obranjen dana _____

s ocjenom _____ pred Povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Darko Grbeša _____
2. doc. dr. sc. Goran Kiš _____
3. prof. dr. sc. Zlatko Janječić _____

SAŽETAK

Kalcij je najvažniji i najzastupljeniji mineral u ljusci jaja kokoši nesilica. Izvor i probavljivost kalcija najviše određuju tvrdoću ljuske čija loša kvaliteta je glavni izvor gubitaka u proizvodnji jaja osobito u starijih kokoši nesilica. Dobro je poznata bolja probavljivost kalcija iz krupno nego sitno mljevene ljuske jajeta ali nije poznata između sitno i srednje krupno mljevene ljuske jajeta. Kako se krupno mljevena ljuska neravnomjerno raspoređuje u potpunim smjesama za kokoši nesilice cilj rada je bio utvrditi probavljivost kalcija iz hrane sa potpunom ili polovičnom zamjenom vapnenca sa sitno i srednje krupno mljevenom ljuskom jaja u starijih kokoši nesilica. Istraživanje probavljivosti je provedeno na 75 Hissex-brown nesilica u dobi od 75 tjedana starosti tijekom zadnjih 28 dana nesivosti. Nesilice su raspoređene u pet tretmana sa pet ponavljanja sa tri kokoši u svakom od ponavljanja. Sitna ljuska je bila 3,76 puta sitnija od srednje krupne ljuske (0,15:0,56 mm). Istraživanjem je utvrđeno da starije nesilice najlošije probavljaju kalciji kada on potječe samo iz vapnenca (32,68%:42,60%). Iako utvrđena statistički značajna razlike u probavljivosti između pojedinih tretmana nije nađena razlika u probavljivosti kalcija potpunog i polovičnog porijekla iz ljuske i vapnenca (42,7%:42,5%) te između i sitne i srednje krupne ljuske (42,4%:42,85%). Nema razlike u probavljivosti kalcija iz srednje i sitno mljevene ljuske jajeta.

Ključne riječi : kalcij, veličina čestica, probavljivost

SUMMARY

Calcium is the most important and the most abundant mineral in the egg shell of laying hens. The source and the digestibility of calcium have the most impact on the hardness of the egg shell. Its low quality is the main source of losses in the production of the eggs, especially among older laying hens. It is well known fact that the digestibility of calcium is better from coarsely rather than from finely ground egg shell, but the same digestibility of calcium is not known between finely and medium coarsely ground egg shell. As the coarsely ground shell is unevenly distributed in complete mixtures for laying hens the objective of this study was to determine the digestibility of calcium that comes from food with total or half limestone replacement for finely and medium coarsely ground egg shells in older laying hens. The research on the digestibility was conducted on 75 Hissex-brown laying hens at the age of 75 weeks during the last 28 days of the laying. Laying hens were distributed in five treatments with five repetitions on three hens in every repetition. The small egg shell was 3,76 times smaller than the medium large egg shell (0,15:0,56 mm). The research revealed that the older laying hens digest calcium at their worst when it comes only from limestone (32,68%:42,60%). Although a significant difference in the digestibility among individual treatments was determined there was no difference in the digestibility of calcium between complete and half origin from the egg shell and limestone (42,7%:42,5%) as well as between the small and the medium large egg shell (42,4%:42,8%). There is no difference in the digestibility of calcium between medium and finely ground egg shell.

Keywords: Calcium, particle size, digestibility

1. UVOD 1
2. PREGLED LITERATURE 2
2.1. Minerali 2
2.2. Kalcij 3
2.2.1. Metabolizam kalcija 4
2.2.1.1. Unos kalcija 4
2.2.1.2. Kontrola metabolizma kalcija 5
2.2.1.3. Mobilizacija kalcija i fosfora iz koštane srži 7
2.3. Iskoristivost kalcija 8
2.3.1. Promjer čestica 9
2.4. Interakcije 10
2.5. Potrebe kokoši nesilica 11
2.5.1. Potrebe prema dobi kokoši 13
2.5.2. Hipokalcemija 14
2.6. Izvori kalcija 15
2.7. Krupnoća i dostupnost čestica izvora Ca 17
3. HIPOTEZA, OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA 18
4. MATERIJALI I METODE 19
4.1. Pasmina kokoši, lokacija, uzorkovanje 19
4.2. Kemijske analize 20
4.2.1. Određivanje kalkulativnog sastava smjese za kokoši nesilice 20
4.2.2. Određivanje sadržaja kalcija u fecesu 21
4.3. Fizikalne analize 24
4.3.1. Određivanje veličine i raspodijele čestica 24
4.4. Statistička obrada podataka 25
5. REZULTATI I DISKUSIJA 25
5.1. Dnevna konzumacija hrane 28
5.2. Probavljivosti kalcija 31
6. ZAKLJUČAK 32
7. LITERATURA 33

1. UVOD

Intenzivna stočarska proizvodnja koja se temelji na životinjama s vrhunskim proizvodnim rezultatima, visokim reproduktivnim osobinama i dobrom zdravlju, kao osnovni preduvjet nameće potrebu visoke stručnosti uzgajivača koji će znati pripremiti hranu za životinje optimalno uravnoteženu u sadržaju hranjivih tvari sa hranidbenim potrebama životinja. Hranidba peradi je najveći (65-75%). Imajući na umu da peradarska proizvodnja podrazumijeva uzgoj više vrsta peradi, najveći privrednu važnost u svijetu i u nas imaju kokoši (zastupljenost u populaciji peradi 93%, Raguž i sur.,2006.). Intenzivno peradarstvo karakterizira uzgoj velikog broja životinja na malom ograničenom prostoru, s ciljem da u što kraćem vremenu uz minimalan utrošak hrane proizvedu što veću količinu mesa i jaja. Primarni cilj hranidbe kokoši nesilica je količinom i kvalitetom, kao i optimalnim međusobnim odnosom hranjivih tvari, postići maksimalnu proizvodnost uz tržišno prihvatljivu vanjsku kvalitetu te nutritivnu vrijednost jaja. Od svih peradi kokoši nesilice za konzumna jaja imaju najveću produktivnost te ih opravdano struka naziva „malim tvornicama velikog kapaciteta“. Ovu tvrdnju najbolje ilustrira sljedeća činjenica da suvremena kokoš proizvede preko 20 kg jajne mase tijekom proizvodnog ciklusa i u jajnoj ljusci izluči oko 1 kg kalcija. Za ostvarenje visoke i ekonomične proizvodnje jaja bitna je pored količine i bioiskoristivost hranjivih tvari iz krmiva. Bioiskoristivosti je hranidbeni pojam koji nam kaže koliko hranjive tvari iz hrane dođe do mjesta djelovanja ili ugradnje u tijelu životinje. Biodostupnost se sastoji od nekoliko konsekutivnih procesa koji započinju otapanje ili/ili hidrolitičkom probavom, apsorpcijom, transportom i metabolizmom hranjive tvari. Krmivo, od svih procesa biodostupnosti najviše djeluje na probavljivost hranjivi tvari. Kako kokoši od svih domaćih životinja imaju najveće potrebe za kalcijem (3,5%), a jako je mala koncentracija Ca u proteinskim i energetskim krmivima te je jako važna količina i bioiskoristivost kalcija iz mineralnih krmiva. Naime, kokoši moraju svakodnevno hranom dobivati kalcij da bi formirale ljusku jajeta koja sadrži 2,0- 2,5g). Loša kvaliteta ljuske je glavni izvor gubitaka u peradarstvu. Vapnenac je tipični i jeftini izvor kalcija, međutim njegova probavljivost u pojedinim fazama nesivosti nije dovoljna za sintezu jajne ljuske. Stoga se koriste drugi, obično skuplji, izvori probavljivog kalcija. Ljuska jajeta je suproizvod koji je jednako bogat kalcijem kao i vapnenac i smatra se da je Ca iz nje, u pravilu, bolje probavljiv nego iz vapnenca. Međutim, probavljivost Ca ovisi o udjelu i krupnoći ljuske. Stoga je cilj ovoga rad

ispitati probavljivost Ca iz različitog udjela i krupnoće mljevene ljuske jaja domaćeg proizvođača.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Minerali

Sva životinjska tkiva sadrže anorganske ili mineralne elemente u različitim količinama i omjerima. Mineralne elementi su čvrsti, kristalni, kemijski elementi, koji se ne mogu rastaviti ili sintetizirati uobičajenim kemijskim reakcijama. Soli ovi anorganski elementa tvore pepeo koji ostaje nakon spaljivanja organske tvari. Oni postoje u pepelu uglavnom kao oksidi, karbonati i sulfati. Godine 1981. vjerovalo se da je 22 mineralnih elemenata esencijalna za više oblike animalnog života (Underwood, 1981). Sastoje se od sedam glavnih ili makroelemenata - kalcija, fosfora, kalija, natrija, klora, magnezija i sumpora, te 15 elemenata u tragovima ili mikroelemanata - željezo, jod, cink, bakar, mangan, kobalt, molibden, selen, krom, kositar, vanadij, fluor, silicij, nikal i arsen. Osam mineralnih elemenata može se klasificirati kao kationi. To su kalcij, magnezij, kalij, natrij, željezo, mangan, bakar, cink, i šest ostalih elementa su ili anioni ili se obično nalaze u anionskih skupinama. To su klor, jod, fosfati , molibdat, selenit i sulfati (Miller, 1979). Mineralni elementi postoje u stanicama i tkivima u tijelu životinja u različitim funkcionalnim, kemijskim kombinacijama i u karakterističnim koncentracijama koje variraju s elementom i tkivom. Koncentracija esencijalnih elemenata obično mora biti unutar vrlo uskih granica kako bi tkiva, rast, zdravlje i produktivnost životinje ostali neoštećeni. Kontinuirana konzumacija hrane koja je deficitarna, neizbalansirana ili ima previsok ili premali udio pojedinog minerala uzrokuje promjene u obliku ili koncentraciji tog minerala u tjelesnim tkivima tako da padne ispod te izaziva deficijencije ili poraste iznad dozvoljene granice, data djeluje štetno ili čak toksično na životinju.

Nadalje, minerali djeluju u grupama te se minerali unutar jedne grupe nalaze u međusobno genetski određenim odnosima te svaki višak jednog može izazvati manjak drugog minerala. Primjerice više fosfora od kalcija u brojlera izaziva deficit kalcija /tibialna dishodnroplazia) i kada Ca ima dovoljno u hrani. U takvim okolnostima, razvijaju se biokemijska oštećenja, te su poremećene fiziološke funkcije. Sprječavanje takvih promjena zahtijeva da se u hranidbi životinja koristi hrana koja je ukusna i netoksična i koja sadrži potrebne minerale, kao i druge hranjive tvari, u odgovarajućim količinama, pravilnim omjerima i raspoloživim

oblicima. Kao anorganske hranjive tvari, minerali kod peradi imaju dvojaku funkciju, makrominerali (kalcij, fosfor, natrij, klor, kalij, magnezij, sumpor) kao strukturne tvari i mikrominerali (željezo, cink, bakar, jod, mangan, molibden, selen) kao biološko – djelotvorne tvari.

Od svih minerala kalcij ima najveći značaj u kokoši nesilica. Kalcijem su u odnosu na potrebe (3,5%) jako siromašna proteinska (0,-0,2%) i energetska (< 0,1%) krmiva koja su glavni sastojak hrane industrijski držani kokoši nesilica. Dodatno ova krmiva sadrže fitinsku kiselinu koja smanjuje dostupnost Ca i P u peradi (Li i sur., 2001). Stoga se u hranu kokoši dodaju mineralna krmiva bogata kalcijem: vapnenac, kalcij karbonat, ljuska školjki, jajna ljuska, brašno kostiju, mono, di i tri kalcij fosfat te fosfati.

2.2. Kalcij

Kalcij je najobilniji mineral u tijelu, a 98% ga je smješteno u obliku hidroksiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) u kosturu. Kostur ne samo da pruža snažnu okvir za prateće mišiće i štiti osjetljive organe i tkiva, već je skladište kalcija i fosfora. Od ukupne količine Ca u jajetu 99% ga je u ljusci. Nadalje, mali udio (2%) kalcija koji se nalazi izvan kostura važan je za opstanak. Nalazi se u obliku slobodnih iona, vezan na serumske proteine i u kompleksima s organskim i anorganskim kiselinama. Koncentracija ionskog kalcija u krvi je prilično stalna, malo varira, oko 1 mM. Ovaj Ca čini 50-60% od ukupnog kalcija u plazmi, ali samo 0,1% ukupnog tjelesnog kalcija i presudan je za funkcioniranje živaca, kontrakcije mišića i staničnu signalizaciju (Carafoli, 1991). Male promjene u koncentraciji (< 2,2 i > 2,5 mM) ionskog kalcija su prva poruka organizmu za uzbunu radi održavanja njegove stalne razine u krvi.

Kostur je najveća tjelesna rezerva kalcija i koristi se kada je obrok manjkav Ca ili kada je nedovoljna crijevna apsorpcija ili bubrežna reciklaža za održavanje stalne ekstracelularne koncentracije kalcija. (Aurbach i *sur*., 1985; Stewart i Broadus, 1987). Kalcij može aktivirati ili stabilizirati neke enzime i potreban je za normalno zgrušavanja krvi (Hurwitz, 1996), što olakšava pretvorbu protrombina u trombin, koji reagira s fibrinogenom pa nastane ugrušak krvi, fibrin. U ptičjih vrsta, kalcij štiti jaje kroz svoje taloženje na ljusku jajeta tijekom prolaska niz jajovod. Matriks ljuske postaje jako impregniran kalcijevim karbonatom ($CaCO_3$), a deponira se 2,5 grama kalcija u svako proizvedeno jaje. Taloženje kalcija je jedan od dominantnih fizioloških procesa u kokoši nesilica (Gilbert, 1983; Bar i Hurwitz, 1984).

Kalcij kokoši dobivaju puno manjim dijelom iz organskih i najvećim dijelom anorganskih krmiva. Glavni anorganski izvor kalcija su različito mljeven vapnenac 35%, zatim kalcijev karbonat $CaCO_3$ kemijski čisti kalcije karbonat 40% Ca, školjke 38%, monokalcijev fosfat $CaH_4(PO_4)_2$ 15%, dikalcijev fosfat $CaHPO_4$ 23%, trikalcijev fosfat $Ca_3(PO_4)_2$ 38%, sirovi krmni fosfat - defluoriziran 32%, koštano brašno 27%, mesno koštano 29%, a ekonomski zanimljiv izvor je ljuska jajeta. Ljuska jajeta sadrži oko 94% kalcija u obliku $CaCO_3$ i $Ca_3(PO_4)_2$. U pravilu, najprobavljiviji je kalcij iz krupno mljevene ljuske školjaka, slijedi čisti kalcij karbonat pa vapnenac (INRA, 2002). Naime, probavljivost kalcija se više razlikuje između krupnoća čestica nego između anorganskih izvora kalcija.

2.2.1. Metabolizam kalcija

2.2.1.1.*Unos kalcija*

Novija istraživanja pokazuju da je osjećaj okusa važan u ispunjavanju potreba za kalcijem (Tordoff i sur., 2008). Dakle, "kalcij-poput" osjetila može predstavljati posebnu kvalitetu okusa (Mc Caughey i Tordoff, 2011). Čini se da ptice imaju dobro definiran apetit za kalcijem. Na primjer, kod ponuđena dva izvora kalcija kokoši su radije odabrale hranu bogatiju kalcijem (Hughes i sur, 1971;. Drvo-Gush i Kare, 1966). U istraživanju koje je provedeno nije bilo nastanak vrlo finih čestica <0,6 mm, odnosno kokošima su ponuđeni sitniji izvor čestica. U ovom slučaju unos hrane iznenada se povećava iako je kokošima ponuđena hrana s malim veličinama čestica ali većim udjelom kalcija, dok se unos privremeno smanjuje kad su ptici ponuđene samo velike čestice.

Ovim istraživanjem dokazano je da veličina čestica nije jedini kriterij pri odabiru hrane same kokoši , već one imaju izraženo osjetilo okusa čime mogu raspoznati hranu bogatiju kalcijem i tako na temelju osjetila vršiti odabir hrane.

Unos hrane, odnosno kalcija odvija se određenim dnevnim ritmom. Kokoši intenzivno jedu u dva dnevna razdoblja. Prvo je u prvim satima zore ili kada se upale svjetla u peradnjaku, a drugo je u kasno poslijepodne (sumrak) ili prije nego što se gasi svjetlo u peradnjaku. U prvim satima svitanja kokoši pojedu najveći dio obroka, kalcija, a ostatak jedu u znatno manjoj količini ostatak dana. Kako se perad zapravo ne hrani noću, jutarnji vršni unos hrane omogućava im da ponovno napune svoj organ za pohranu hrane (voljka, putača) koji se potrošio kroz noć. Putača se onda opet puni za noć vršnim unosom hrane kasno popodne. Kod nesilica ovaj kasnopopodnevni vršni unos hrane također donekle korelira s početkom

kalcifikacije ljuske jaja, kada su povećane kokošje potrebe za kalcijem (Hughes, 1984). Dopodne započinje sinteza jajeta stvaranjem žutanjka i bjelanjka u vrijeme maksimalne konzumacije hrane, odnosno energije i proteina. Sinteza jajne ljuske odvija se od ranog poslijepodneva do kasnih noćnih sati u vrijeme kada je mala konzumacija hrane te podmirenje potrebne količine kalcija ovisi o količini kalcija koja je apsorbirana dopodne i o količini kalcija otpuštenog iz kostiju. Kalcij se apsorbira iz digesta u duodenumu i gornjem dijelu ileuma pod strogom i složenom kontrolom hormonski reguliranih procesa (Schneider i sur, 1985;. Bronner, 1987) kojima se održava njegova stalna koncentracija u ekstracelularnoj tekućini. Metabolizmi kalcija i fosfora su usko povezani te manjak ili višak jednoga se upliće u iskorištenje i metabolizam drugog (Kebreab i Vitti, 2005).

2.2.1.2.*Kontrola metabolizma kalcija*

Strogo kontrolirane promjene u koncentracijama kalcijevih iona unutar i između stanica (Breitwieser, 2008) su upravljane sa čak četiri hormona: paratireoidnim hormonom (PTH), vitaminom D_3 i s njime proteinima koji vežu kalcij, kalcitoninom i estrogenom. Kalcij se apsorbira aktivnim prijenosom u tankom crijevu, te je pod snažnom kontrolom dviju hormona: paratireoidnog hormona (PTH) i fiziološki aktivnog oblika vitamina D_3 dihidroksikolekalciferola (također poznat kao kalcitriol) (Schneider i sur, 1985;. Bronner, 1987).

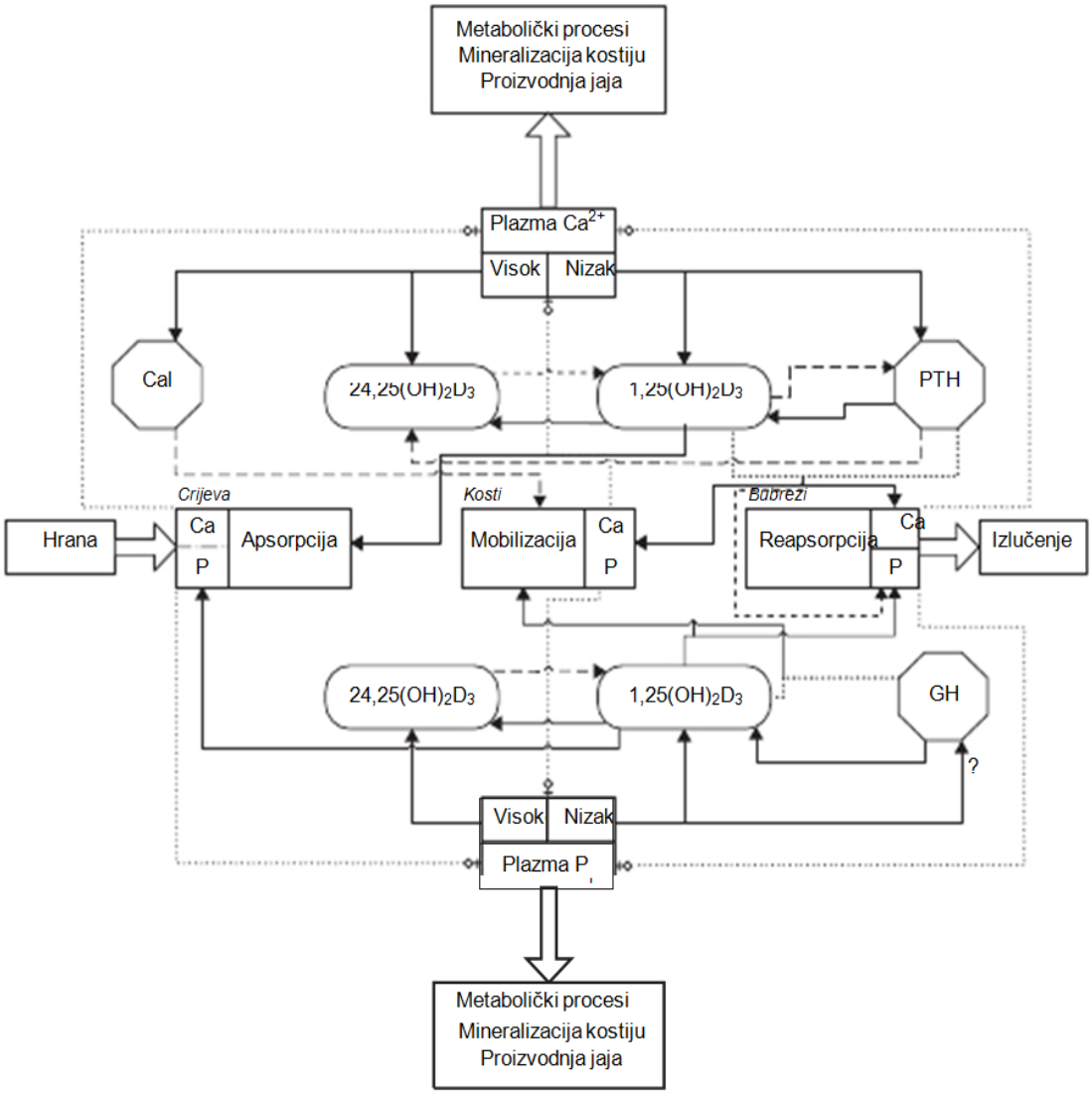
Paratireoidna žlijezda reagira već na kratkotrajno smanjenje ionskog kalcija u izvanstaničnoj tekućini izlučujući paratireoidnog hormona (PTH), te on ali i drugi hormoni kao što su 17-β-oestradiol, prolaktin i hormon rasta (GH) stimuliraju dvostruku hidroksilaciju vitamina D_3, prvo na 25-OHD_3 u jetri, a zatim 24,25- $(OH)_2D_3$ ili 1,25 $(OH)_2D_3$ prvenstveno u bubrezima (Omdahl i Deluca, 1973; Borle, 1974), ali i iz koštane srži, kože i sluznice crijeva (Norman i Hurwitz, 1993.). Aktivirani 1,25- $(OH)_2D_3$i PTH pri manjku ionskog kalcija djeluju na tri načina (shema 1).

1. U tankom crijevu otvaraju kalcijeve kanale u crijevnoj sluznici čime se olakša unos kalcija i njegov prijenos (apsorpciju) uz pomoć proteinskog nosača (Hurwitz, 1996;. Shirley i sur, 2003).
2. U kostima 1,25-$(OH)_2D_3$ i PTHili GH stimuliraju razgradnju medularne srži te se Ca i P otpuštaju u krvotok. Pri nedostatku hormona PTH i GH i pri normalnoj razini ionskog kalcija 1,25-$(OH)_2D_3$ stimulira mineralizaciju kostiju.

3. Bubrezi, 1,25-(OH) $_2D_3$ zajedno sa PTH stimuliraju reapsorpciju Ca^{2+} ali koče reapsorpciju P iz bubrega. Navedeno smanjuje izlučivanje kalcija ali povisuje izlučivanje fosfora mokraćom. U bubrezima se reapsorbira 85-90% ionskog kalcija natrag u krvotok.

Nadalje vitamin D_3 stimulira sintezu enzima i kalcij vezujućih proteina koji ga transportiraju kroz stjenku crijeva. Kada je nedovoljna konzumacija kalcija tada njegova apsorpcija raste sa 40 na dvostruko više ili 80% u kokoši nesilica (Bar, 2009).

Suprotan efekt ima porast razine Ca^{2+} u krvi jer rezultira otpuštanjem trećeg hormona uključenog u regulacija-kalcitonina koji blokira mobilizaciju kalcija iz kostiju i tako smanjuje razinu Ca^{2+} u krvi.



Shema 1. Održavanje homeostaze kalcija i fosfora u proizvodnji jaja (Bar, 2009)

Estrogen također igra bitnu ulogu u formiranju ljuske. Naime, injekcije estradiola povisuju razinu ionskog Ca u plazmi (Bar i sur., 1999). Pretpostavlja se da estrogen djeluje na transport Ca+2 u duodenumu i da djeluje na pretvorbu inaktivnog vitamina D (25 hidrokskalciferola) u aktivni 1,25dihidrokskolekalciferol (Bar i Hurwitz 1987).

2.2.1.3.*Mobilizacija kalcija i fosfora iz koštane srži*

Jedna od glavni funkcija kosti je uskladištenje kalcija i fosfora. Spužvast tvar nekih kostiju čini spremište kalcija koji se lako mobilizira u procesu održavanja koncentracije kalcija u krvi, što je važno za formiranje ljuske jajeta. Spužvasta tvar sljedećih, najčešće, dugih kosti je glavno spremište a time i izvor kalcija za kokoši nesilice : ulna, scapula, patela i tibia. Spužvasto tkivo kosti se razvija i tijekom nesenja kokoši do 30-33 tj. starosti, odnosno postizanja fizičke zrelosti. (Whitehead, 2004). Kokoš može mobilizirati do 46% kalcija iz kostiju nakon te količine dolazi do ozbiljne demineralizacije kostiju.

Nakon formiranja kosti stalni udjel kalcija se održava tako da je približno jednaka dnevna količina kalcija koje uđe i iziđe iz kostiju. Deponiranje kalcija u kostim provode osteoblasti, a izlazak ili resorpciju kalcija iz kostiju provode osteoklasti. Neravnoteže između ova dva procesa rezultira neto gubitkom strukture kostiju što dovodi do metabolički poremetnji kao što je osteoporoza (Whitehead i Fleming, 2000). Pojava spolne zrelosti povisuje razinu estrogena što je okidač osteblastima da potpuno preokrenu ka formiranju mekanog tkiva, zvanog koštana srž. Aktivnost osteoklasta se usporava pod djelovanjem estrogena ali se povisuje tijekom stvaranja ljuske. Reasorpcija strukture kostiju se nastavlja tijekom perioda nesenja jajeta pa postupno opada strukturna masa. Dodatno, u slučajevima dugotrajnog manjka kalcija, rezerva kalcija u srži kostiju se obnavlja iz strukture kostiju. Ovaj postupni gubitak koštane mase povezan je s pojavom osteopenije i osteoporoze (Whitehead, 2004; Fleming, 2008).

Optimalizacija strukturnog sadržaja kostiju prije pojave zrelosti može pomoći u ublažavanju gubitaka strukture kostiju tijekom nesivosti. Stoga je jako važna primjerena hranidba, osobito primjerenim količinama Ca i P te vitamina D tijekom perioda odgoja pilenki.

Pri optimalnoj koncentraciji kalcija u hrani od 3,6% ili više u formiranju ljuske jajeta najviše se koristi kalcij apsorbiran iz crijeva. Pri nedovoljnoj opskrbi kalcijem (<2%) znatan dio

kalcija (30-40%) potječe iz njegovih rezervi u kosturu. Međutim, u kostima se deponira 1000 mg Ca/d, ali se može reapsorbirati samo 100 mg/d.

Cirkardijalni ritam sufiziološke i psihološke promjene te promjene u ponašanju koje prate dvadesetičetverosatni ciklus usklađene su s izmjenom dana i noći u okolišu kokoši.

Među ostalim, cirkardijalni ritam određuje dnevnu dinamiku formiranja ljuske i konzumaciju hrane. Stoga jako variraju u jednom danu potrebne količine kalcija zbog dinamičnog formiranja ljuske tijekom dana. Kada je ovulacija u kasnim poslijepodnevnim satima tada se veliki dio ljuske stvara tijekom skotofaze (mračnog dijela dana). Opskrba hranidbenim kalcijem je visoka dopodne i slaba je poslijepodne, osobito noću, jer je tada skoro prazno tanko crijevo pa se iz kostiju mobilizira znatna dio (30-40%) potrebnog Ca (Bar, 2009). Posljedično razgradnjom hidroksiapatita ne oslobađa se samo Ca već i P kojega kokoši ne trebaju pa se izlučuje urinom. Sa početkom dana počinje i konzumacija hrane, a s njom i minerala pa raste razina Ca i P u plazmi. Međutim, u to doba dana formiranje ljuske se približava kraju te se višak Ca i P skladišti u kostima. Vrijeme opskrbe i omjer Ca i P bitno utječu na metabolizam Ca: direktnu ugradnju u ljusku, izlučivanje ili deponiranje u kosti. Stoga stalno prisutna hrana daje mogućnost kokošima da usklađuju unos kalcija sa njegovim potrebama u pojedinim dijelovima dana.

2.3.Iskoristivost kalcija

Količinski gledano kokoš dnevno pojede 4000 mg Ca, u fecesu se izluči 500 mg, što znači da je potencijalna probavljivost vrlo visoka (87,5%). Drugih 400 mg Ca se izlučuje mokraćom, a 100 mg se deponira u kostima. Teoretski za sintezu jajeta ostane 3000 mg ili 75% od pojedene količine. Od 3000 mg Ca 2000 mg ili 50% se deponira u ljusci, a ostatak od 1000 mg u žutanjku i bjelanjku jajeta. Sitna i krupna jaja sadrže istu količinu kalcija (2,0 g) pa krupnija jaja imaju tanju a time i lomljiviju ljusku.

Kao što je već rečeno kalcij se unosi hranom i apsorbira se prvenstveno u dvanaesniku i gornjem dijelu jejunuma u krvožilni sustav (Hurwitz i Bar, 1965). Količina kalcija koji se apsorbira iz crijeva ovisi o količini i obliku tog elemenata u hrani. Niski unos kalcija rezultirati će relativno nisku razinu tog elementa u plazmi , i povećati će apsorpciju kalcija u crijevima (Hurwitz i Bar, 1969; Clunies sur., 1992). U kokoši nesilica apsorpcija kalcija također ovisi i o stadiju formiranja jajeta. Studije Hurwitz i Bara (1965., 1969.) pokazuju da,

kada unos kalcija ispunjava minimalne zahtjeve, 68 i 72% raspoloživog kalcija u himusu apsorbira se tijekom ranih i kasnih stadija formacije jajeta, dok se samo 40% apsorbira ako nema formacije ljuske.

Potrošnja velikih količina kalcija može dovesti do većeg izlučivanja ovog elementa. Istraživanje koje su proveli Marie S., Gutowska i Raymond T. Parkhurst pokazuju da višak kalcija u obroku kokoši nesilica smanjuje svoju biološku vrijednost. Uspoređujući hranidbu s razinom kalcija od 3,95 % sa hranidbom gdje je razina kalcija bila 2,35 i 2,77%, biološka vrijednost obroka s višom razinom kalcija bila je niža, kao i proizvodnja jaja i učinkovitost hrane. Međutim, nije bilo značajne razlike u čvrstoći ljuske, prosječnoj težini jajeta, plodnosti i izlijeganju jaja. Razinu kalcija treba prilagoditi prema predviđenom smanjenju unosa hrane, tako da ptice troše najmanje 4,2 grama kalcija dnevno. Pod ekstremnim uvjetima, to može biti teško jer je visoka razina energije također poželjna, a to je teško postići uz povećano korištenje vapnenca ili školjaka kamenica. Također je potrebno povećati razinu energije u prehrani kada je unos hrane nizak, onda je kontraproduktivno dodati visoke razine vapnenca i fosfata, koji učinkovito razrijede hranjive tvari sve osim kalcija i fosfora. Problem potencijalnog nedostatak kalcija najčešće se rješava dodavanjem hrane s velikim česticama vapnenca.

2.3.1. Promjer čestica

Postoje indicije da hranjenje grubim izvorima kalcija može imati pozitivan učinak na unos hrane, tjelesnu težinu, mineralizaciju kostiju i kvalitetu ljuske jajeta (Saunders-Blades i sur., 2009). Veličina čestica ima važnu ulogu u odgovarajućem uzimanju hrane. Podaci istraživanja pokazuju da, bez obzira na profil hranjiva, kokoši nesilice vole velike čestice hrane. Kada se nesilicama ponudi različiti raspon veličine čestica, one pokazuju značajnu sklonost za najveće veličine čestica koje su im na raspolaganju. Manje čestice hrane početi će nestajati kasnije u razdoblju od 24 sata, kada su pojedene sve velike čestice hrane. Dodatno, kokoši rado jedu krupnije čestice izvora kalcija jer se one zadržavaju dovoljno dugo u probavnom sustavu i opskrbljuju kokoš Ca tijekom vrha potreba i minimuma konzumacija hrane. Očigledno velike čestice kalcija ostaju u želucu duže i pružaju stalnu opskrbu kalcijem, nego fino mljeveni izvori (Scott i sur., 1971). Razlog tome je što se kalcij kontinuirano oslobađa tijekom mračnih sati, kada se njegovo taloženje aktivno događa. Zadržavanje kalcija

u želucu kod kokoši nesilica za poboljšanje kvalitete ljuske može biti ovisno o veličini čestica, poroznosti različitih izvora kalcija, i ukupnoj in vivo topljivosti izvora kalcija.

Količina vapnenca koja se zadržala u želucu, bila je veća povećanjem veličine čestica za istu razinu hranidbe i isti izvor kalcija. Kratko zadržavanje vapnenca uzrokovano je brzim prolaskom kroz želudac zbog male veličine čestica a ne velike topljivost (promjera manjeg od 0,84 mm). Scott i sur. (1982) dokazali su da velike čestice kalcija prolaze kroz trakt sporije, zbog dužeg zadržavanja u želucu, što omogućuje vapnencu da ostane u kiselom okruženju što duže vrijeme. Kiselost će povećati mogućnost razdvajanja CaCO3 u ionski kalcij, čime se proizvodi više dostupan kalcij za apsorpciju. Dokazano je da male čestice kalcija mogu priječiti apsorpcijsku sposobnost crijeva, tako da se iskoristivost otopljenog kalcija smanjuje. Velika veličina čestica ljuske jajeta u usporedbi s vapnencem doprinosi dužem korištenju kalcija od strane kokoši tijekom mračnih razdoblja . Oštrice i sur., (2009) izvijestili su da je udio ljuske jajeta koja ima promjer u rasponu od 2 do 5 mm, bio oko 40% od ukupne količine korištenog kalcija što ukazuje na dovoljno vrijeme zadržavanja kalcija u probavnom traktu. Također, Rao i Roland (1990) navode da je velika veličina čestica vapnenca potrebna za zadržavanje u želucu te ne smije biti manja od 1,00 mm. Lichovnikova (2007) je dokazala da ne samo izvor kalcija nego i veličina čestica utječe na kvalitetu ljuske jajeta.

Tipično se preporučuje hraniti kokoši nesilice česticama vapnenca promjera 2 do 5 mm, te ljuske školjki veličine 2 do 8 mm.

2.4. Interakcije

Probavljivost kalcija, odnosno topljivost, osobito u starijih kokoši, povisuje dodavanje organskih kiselina pri čemu kokoši moraju dobivati dovoljnu količinu vitamina D (3000-4000 ij/kg) koji pospješuje apsorpciju otpuštenog Ca. Nadalje, dodavanje u hranu prvog metabolita vitamina D (25 - hidroksikalciferola), odnosno kalcidiola znatnije povisuje zadržavanje Ca u metabolizmu od vitamina D_3. Mikotoksin zeralenon vezanjem sa vitamin D smanjuje apsorpciju Ca što rezultira simptomima hipokalcemije. Dodavanje vitamina D i vitamina C u vodu smanjuje štetno djelovanje zearalenola i viška klorida.

Nadalje, kokoši treba hraniti minimalnim količinama fosfora (<0,4%) jer to stimulira biodostupnost Ca. Naime, višak fosfora veže Ca u nedostupne spojeve.

Dodatno, treba biti pažljiv sa količinom fosfata u hrani jer su oni često kontaminirani sa mineralima koji interferiraju sa apsorpcijom kalcija. Isto tako previše soli u hrani ili vodi smanjuje dostupnost Ca što narušava kvalitetu ljuske.

Nadalje, prevelika razina klora u hrani (>0,4%) i/ili vodi, osobito ljeti, narušava proizvodnju karbonata potrebnih za sintezu kalcijevog karbonata u ljusci jaja.

2.5.Potrebe kokoši nesilica

Ljuska jajeta sadrži 95% Ca, od čega je najviše ili 94% $CaCO_3$, 1% $Ca_3(PO_4)_2$, ostatak je 1% $MgCO_3$ i 4% organska tvar. Jajna ljuska je teška 5-6 g i sadrži 2 g ili 36% Ca. Kokoši nesilice vrlo su produktivne životinje, one ostvaruju visoku proizvodnju u odnosu na tjelesnu masu. S više od 300 jaja godišnje one uspijevaju sintetizirati jajčane mase deset puta više nego što je njihova tjelesna masa. Tako kokoš mase 1,8-2,0 kg ima mogućnost proizvodnje 18,5-20 kilograma mase jaja, izluče 1 kg kalcija u ljusci. Kokoši su izuzetno osjetljive na razinu kalcija u hrani. Već jednodnevna hranidba sa 1,5% Ca smanjuje kvalitetu ljuske jaja, ali se i potpuno popravi kada se u hranu stavi normalna razina Ca.

Kvaliteta ljuske, odnosno njena kalcifikacija, ne može se održati bez kontinuirane opskrbe kalcijem, te je loša kvaliteta ljuske glavni izvor gubitaka na peradarskoj industriji (Roland, 1986.).

Mnogobrojni čimbenici određuju potrebnu dnevnu količinu kalcija u hrani kokoši nesilica, među kojima su: stalni genetski porast proizvodnje jaja - porast potreba za Ca, međudjelovanja Ca i ostalih hranjivih tvari, krupnoća čestica izvora Ca, sposobnost kokoši da konzumaciju prilagodi potrebama za Ca, neujednačen sadržaj i apsorpcija Ca, temperatura okoline.

Genetski porast proizvodnje jaja prati godišnji porast za Ca od 0,7g/d, dok istovremeno potrebe za P blago opadaju. Leeson (2006) iznosi da su od 1956 do 2005 potrebe kokoši narasle sa 2,1% na 4,0% Ca u hrani.

Primjerene koncentracije Ca i P te vitamin D te omjer Ca/P su bitne za sprečavanje pojave osteoporoze te da njihov višak ne sprječava osteoporozu niti poboljšava ljusku jajeta. Whitehead i Fleming (2000). Keshavarz (2003) je utvrdio da je za kokoši nesilice optimalna

koncentracija 3,34% Ca u hrani pri dnevnoj konzumaciji 3,63 g, razina od 0,21% ne-fitinskog fosfora. Dodavanje različitih izvora vitamina D i fitaze nije imalo utjecaja na kvalitetu ljuske jajeta.

Kokoši nesilice trebaju 3,4% Ca u hrani pri njegovoj konzumaciji od 3,75 g/d (NRC, 1994). Više razine Ca od 3,6-3,9% najčešće nemaju povoljan učinak na kvalitetu ljuske (Valkonen i sur., 2010; Pastore i sur., 2012). Najnovije istraživanje pokazuje da kokoši nesilice u razdoblju od 25 do 70 tj. nesivosti ne trebaju više od 3,2% Ca u hrani pri konzumaciji od 113-117 g/d, kada je 25-50% čestica vapnenca krupno 1,0-1,4 mm (Swiatkiewicz, i sur., 2015).

Kvaliteta ljuske opada sa starenjem kokoši. Prvenstveno zato što raste veličina jajeta sa starenjem a kokoš ne može deponirati više od 2 g/d pored čega je smanjena i biodostupnost kalcija. Naime, kao što je već rečeno sitna i krupna jaja sadrže istu količinu kalcija (2,0 g) pa krupnija jaja imaju tanju a time i lomljiviju ljusku.
Dodatno starije kokoši jače deponiraju kalcij u kostima što sve zajedno ima za posljedicu smanjenu nesivosti. Porast razine Ca u potpunoj hrani ne rješava u potpunosti problem, dapače pogoršava sustav apsorpcije i oštećuje jetra. Dodavanje protektivnih tvari moglo bi zaštititi jetru, ali još nije nađena pogodna tvar za zaštitu jetre od kalcijevih oštećenja. Sljedeći način povećanja količine kalcija u metabolizmu je povećanje biodostupnost Ca iz krmiva, međutim, problem je što suvremene kokoši ni povećanu količinu kalcija u krvotoku ne mogu ugraditi u ljusku. Potrebna količina kalcija raste sa starosti kokoši nesilica i u vrlo staroj dobi nesivosti (58-93 tjedna) one iznose visokih (3,6-4,05) u potpunoj hrani (Bar i sur., 2002). Količine veće od 4% u potpunoj hrani kokoši nesilica uzrokuje metaboličke poremetnje te je za dostatnu opskrbu potrebno povisiti (1) konzumaciju i (2) biodostupnost kalcija iz kalcijevih krmiva.

2.5.1. Potrebe prema dobi kokoši

Promjene nesivosti i konzumacije hrane prate promjene koncentracije hranjivih tvari i energije. Sa starenjem se kokošima daje hrana u kojoj se postupno i relativno nisko (5%) manja razina hranjiva te za 0,1 MJ/kg energije. Sadržaj kalcija se postupno povisuje sa 3% na početku na 4% na kraju nesivosti (Kleyn, 2013). Postoje brojne preporuke razine Ca u hrani kokoši od početka do kraja nesivosti. Na temelju pregleda literature Kleyn (2013) preporučuje da se kokoši mlađe od 40-45 tjedana hrane sa 3,5-3,7% Ca, a starije sa više 4,0-4,2% Ca.

Prvu potpunu hranu za kokoši dajemo sa početkom nesivosti i ona je izuzetno važna za prirast težine, zadovoljavanje visokih potreba proizvodnje jaja i radi osiguranja dugovječnosti nesilica. U doba proneska kokoši jedu manje hrane te ako nije visoka koncentracija hranjiva i energije one će koristiti rezerve što može dovesti do prestanka nesenja nakon dosizanja vrha nesivosti. Prva hrana u nesivosti treba sadržavati relativno visoki udjel ulja, probavljivih aminokiselina, kalcija i probavljivog fosfora. Preporuke za sadržaj kalcija se kreću u rasponu 2-4%, u praksi najmanje 3%. Više od 4% kalcija uzrokuje abnormalnosti ljuske u doba proneska. Ova hrana je skupa ali se njome kokoši hrane kratko vrijeme. Prvom hranom kokoši se hrane dok je ne konzumiraju 5 do 10 g/d više nego na početku. Ovo se događa između 26-27 tjedna starosti. Postoje brojne preporuke kompanija, a vrlo malo državnih institucija o sadržaju Ca u standardnoj hrani za nesilice. Jedne od rijetkih državnih preporuka su nizozemski CVB normativi iz 2009.koji preporučuju za praksu sljedeći sadržaj energije (ME, MJ/kg), probavljivog lizina i metionina te kalcija i dostupnog P u kokoši nesilice se preporuča hraniti sa sljedećim osnovnim sastavom potpune hrane:

Tablica 1. Sadržaj metaboličke energije probavljivog lizina i metionina te kalcija i dostupnog P u hrani kokoši nesilica

Starost, tjedni	Metabolička energija (MJ/kg)	Probavljivi lizin (%)	Probavljivi metionin (%)	Kalcij (%)	Probavljivi P (%)
Pronesak 17-19	11,65	0,63	0,53	2,0-2,2	0,33
19-35 tjedna	11,85	0,66	0,59	3,6-3,7	0,32
35-55/60	11,75	0,62	0,56	3,9-4,0	0,30
55/60 do kraja	11,65	0,59	0,53	4,2-4,3	0,28

Razina energije u koncentratu, temperatura okoline, ograničeni programi hranjenja, i smještaj utjecati će na zahtjeve za kalcijem. Međutim, kokoši podvrgnute visokim temperaturama (33 °C ili više) vjerojatno će trebati 3,5 do 3,75% kalcija zbog smanjenog unosa hrane. Uzimajući u obzir visoke temperature španjolski peradarski normativi (FEDNA, 2008) preporučuju više vrijednosti te minimalno potrebne i najviše dopuštene razine Ca u hrani kokoši nesilica. Kokošima nesilicama do početka nesivost (17 tjedana do 5% nesenja) preporučuje se od 2,7 do 3,2%, do 45 tjedna starosti od 3,5% do 3,8% te starijim kokošima 3,9-4,3%.

2.5.2. Hipokalcemija

Kostur sadrži rezerve Ca za proizvodnju do 10 jaja. Nedostatak kalcija u svih vrsta peradi uzrokovati će rahitis, tibijalnu dishondroplaziju, smanjenu stopu rasta, proizvodnju jaja i smanjenu valivost. Glavni klinički znak nedostatka kalcija u rastuće peradi je smanjenje koštane mineralizacije, te kosti postaju krhke. Deformacije prsnih kostiju su znak manjka kalcija u starijih kokoši. Prsna kost nije medularna a ona se zadnja mineralizira u razdoblju nesenja te se svaki manjak kalcija očituje u promjeni oblika, jakosti i dužine prsne kosti prije nego što se pojave slabosti ljuske jajeta. (Buckner i sur., 1930) navode kako nedostatak kalcija u kokoši nesilica može postati vidljiv u roku od nekoliko dana ili najviše nekoliko tjedana. Roland (1985) na temelju opsežnog pregleda literature zaključuje da su klinički znakovi manjka Ca: smanjenu kvalitetu ljuske (tj. smanjena čvrstoća, specifična težina i debljina ljuske), prestanak ili smanjenje proizvodnje jaja, smanjenu potrošnju hrane, smanjena reprodukcija (smanjena valivost, mrtvi, slabi ili deformirani potomci, smanjena aktivnost parenja, odgađanje spolne zrelosti). Samo jedan dan bez Ca smanjuje kvalitetu ljuske jajeta te je ona najvažniji kriterij manjka kalcija u kokoši nesilica. Manjak kalcija u hrani tjera kokoš da jede više hrane te dolazi do zamašćenja jetre i krvarenja.

Skeletni poremećaji uključuju osteoporoze, rahitis, osteomalacije, mekan kljun, paralizu, mišićnu ukočenost, proširene i bolne zglobove, slabe kosti, nenormalan stav (savijana leđa, krutost, ukočenost, osovine kostiju savijene prema van).

Suvišak kalcija (hiperkacemija) u pravilu nije toksičan za kokoš nesilice. Kao prvo previše kalcija znači da je u hrani previsok udio vapnenca te je manja njena energetska vrijednost. Posljedica viška kalcija je njegovo antagonističko djelovanje na smanjenu apsorpciju drugih

minerala pa se javljaju simptomi manjka fosfora i cinka,može izazvati metaboličke poremećaje.

2.6.Izvori kalcija

Kod hranidbe peradi većina koncentrata siromašna je na kalciju. Kalcij općenito nedostaje u žitaricama. Njegov sadržaj varira, ovisno o vrsti biljke. Žitarice poput ječma, sirka, zobi, pšenice vrlo su niske u sadržaju kalcija (0.02-0.10%) (NRC, 1980). Kukuruz obično sadrži samo 0.2 g Ca/kg ST, pšenica 0.6 g, zob i ječam 0.6-0.9 g Ca/ kg ST. Iako proteinska i energetska krmiva u prosječnoj potpunoj krmnoj smjesi za kokoši sudjeluju sa 88% ona daju samo 0,12% ili vrlo niskih 3,4% od potrebne količine kalcija. Riblje brašno je bogato kalcijem ali se danas ne koristi u hranidbi kokoši nesilica. Riblje brašno, mesno i koštano brašno dobri su izvori kalcija, razine 50-100 g Ca/kg ST.

Stoga su glavni izvori Ca različiti spojevi bogati kalcijem, kao što su karbonat, sulfat, laktat, glukonat, kalcij oksid,di i trikalcijevi fosfati i koridi mogu poslužiti kao izvori kalcija kada je prisutna odgovarajuća razina vitamina D, te kada su odsutni otrovni elementi (Buckner, Martin i Petra, 1928., Tulley i Franke, 1934., Ackerson, Blish i Mussehl, 1937).

Vapnenac je najčešći i najjeftiniji izvor kalcija u hrani kokoši nesilica. U hranidbi životinja koristi se vapnenac odbijen mljevenjem, pročišćavanjem i sušenjem vapnenački stijena. Kvaliteta vapnenca mjerena količinom biodostupnog kalcija ovisi o (1) udjelu vapnenca (čistoći), (2) prosječnoj veličini i distribuciji veličina čestica, (3) topljivosti kalcijevog karbonata i (4) sposobnosti da se miješa sa drugim krmivima.

Vapnenac na tržištu je vrlo različitog porijekla i oblika te tvrdoća. Vapnenac je sedimentna stijena (taložna), stijena koja sadrži najmanje 50% minerala kalcita (kalcijev karbonat, $CaCO_3$) te primjesa kao što su: dijaspor, cirkon, gline, limonit, hematit, hidrargilit, kremen, turmalin, sporogelit i granat (a ponegdje i granita).

Nastao je taloženjem vapnenih kućica i skeleta izumrlih morskih životinja, a donekle i bilja. Sadržaj kalcij karbonata varira od 32 do 38% te hranjenje kokoši sa istim udjelom ovih vapnenaca (10%) dovodi do vrlo neuravnotežen (3,2-3,8%) opskrbe kalcijem.

Standardni vapnenac sadrži 95-99% kalcij karbonata, odnosno 37-39,5% kalcija, udjel tvari netopljive u HCl je pokazatelj sadržaja nečistoća i tipični sadržaj se kreće u rasponu od 1% do ne više od 5%.

Dolomintni vapnenac sastoji se od vapnenca i dolomita koji je kalcij-magnezijeva karbonata ($CaCO_3$ x $MgCO_3$) u kristalnome stanju. Dolomintni vapnenac sadrži oko 10% magnezija koji je u probavilu netopivi spoj te smanjuje apsorpciju kalcija.

Vapnenac i kalcij karbonat su jeftini izvori kalcija te se u praksi češće javljaju problemi uzrokovani viškom a ne manjkom kalcija. Osim što se koriste kao izvori kalcija, vrlo često se upotrebljavaju kao nosači u predmješavinama (lijekova, vitamina, mikroelemenata, aditiva i pojedinih koncentrata). Isto tako dodaje se oko 0,5% za poboljšavanje tecivosti sojine sačme. Kako se ove količine Ca ne uzimaju u obzir pri sastavljanju smjesa one obično sadrže 10-20 relativnih postotaka više kalcija.

Pored krupnoće važna je dostupnost i cijena izvora kalcija (kalcijevog krmiva). Ljuske školjki karakteriziraju velike čestice, ali i visoka cijena zbog dalekog transporta. Sušena ljuska jaja je krupnija od vapnenca, ali je od vapnenca skuplja no jeftinija je od ljuski školjki.

Ljuska školjki dobije se mljevenjem i sušenjem 8 000 – 10 000 godina starih naslaga morskih školjki. Tipično sadrže 95% kalcij karbonata, 37% kalcija i najviše 5% u klorovodičnoj kiselini netopljivog mineralnog ostataka. Ljuske školjki smatraju se najprobavljivijim izvorom kalcija za starije kokoši nesilice. Scheideler (1998) je usporedio krupnoće čestica iz dvije tvornice sa krupnoćom kalcija i ljuske školjki. Sušena ljuska jaja sadrži čestice čija se veličina kreće u rasponu od 0,4 do 2,0 mm. Probavljivost je 38 do 46%, što je u rasponu probavljivosti vapnenca i ljuske školjki.

2.7.Krupnoća i dostupnost čestica izvora Ca

Tijekom proizvodnog ciklusa kvaliteta ljuske jaja ne ovisi samo od primjerene količine već i od krupnoće izvora Ca. Krupne su čestice veće od 1,0 mm. Smatra se da se krupnije čestice Ca duže zadržavaju u mišićnom želucu kokoši nesilica te se potpunije otapaju tijekom sporije pasaže kroz probavni sustav, suprotno sitnije čestice brže prolaze kor probavni sustav i samo se djelomično otope.

U prilog ovoj tvrdnji idu istraživanja Zhang i sur. (1997) koji su utvrdili da sa porastom veličine čestica od 0,5-0,8 mm na 3,3-4,7 mm opada in vitro topljivost u HCl sa 67,6 na 36,3% a raste količina zadržanog Ca u želucu sa 0, na 15,4 g/d. Isto tako Roland (1986) je našao da se u fecesu izlučuje 46% sitnih čestica (0,5-0,8 mm) i samo 16% krupnih čestica.

U brojnim istraživanjima su uspoređivani izvori i krupnoće Ca, vrijeme i način davanja Ca. Što se tiče krupnoće, 40-60% Ca iz grubih čestica daje najbolju kvalitetu ljuske u mladih nesilica, Scheideler i sur., (2005) smatraju da je za kokoši nesilice najbolja kombinacija u kojoj je 50% grubih i 50% sitnih čestica vapnenca za optimalnu proizvodnju jaja i kakvoću ljuske do 40 tjedna starosti.

Skrivan i sur., (2010) su utvrdili da krupniji (0,8-2,0 mm) povisuje težinu i debljinu ljuske te sadržaj Ca u njoj kako u mladih (24-36 tj.) tako i stariji (56-68 tj.) kokoši nesilica.

Nadalje krupnije čestice (1,00 mm) izvora Ca imaju veći utjecaj samo na kvalitetu ljuske starijih(>56 tj.) nego mlađih nesilica (30-43 tj.).

Krupnoća vapnenca veća od 5,0 mm smanjuje dostupnost kalcija i kvalitetu ljuske (Olgun i sur., 2013). Međutim, ovako krupni vapnenac (5,0 mm) dobar je za starije (>76 tj.) nesilice. Zato se preporučuje starije kokoši hraniti vapnencem koji se sastoji od 50:50 postotne mješavine srednje krupnih (< 1mm) i krupnih čestica (2-5 mm). Isto tako krupnije čestice vapnenca i/ili ljuski se daju na smjesu tijekom predvečerja da ih kokoši kljucaju.

Dobro je poznato da kokoši najbolje jedu i probavljaju ne samo vapnenac već i brašnaste smjese krupnoće > 0,66 mm i < 2,26 mm, međutim u RH se proizvodi sitnija ljuska te je cilj ovoga rada utvrditi je li postoje razlike u probavljivosti između vapnenca i ljuske jajeta te sitno i srednje krupno mljevene ljuske jajeta.

3. HIPOTEZA, OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Na temelju pregleda literature, postavljena je sljedeća hipoteza:

- Krupnoća meljave utjecati će na probavljivost kalcija

Opći ciljevi rada su:

- Istražiti probavljivost kalcija iz sitno i srednje krupno mljevene ljuske jajeta iz domaće proizvodnje
- Istražiti postoji li razlika u probavljivosti kalcija između polovične i potpune zamjene anorganskog Ca vapnenca sa sitno i srednje krupno mljevenom ljuskom jaja.

4. MATERIJALI I METODE

4.1.Pasmina kokoši, lokacija, uzorkovanje

Istraživanje je provedeno na 75 Hissex-brown nesilicama starim 75 tjedana. Pokus je trajao od 24.11.2014. do 22.12.2014 godine. Nesilice su bile smještene u pokusnom objektu Zavoda za hranidbu domaćih životinja Agronomskog fakulteta u Zagrebu koji je prethodno očišćen, dezinficiran i pripremljen. Nesilice su bile raspoređene u pet grupa svaka sa po pet kaveza sa tri kokoši nesilice. Istraživanje probavljivosti provedeno je zadnja pet dana pokusa. Sve kokoši su hranjene krmnom smjesom istog organskog, sirovinskog i kemijskog sastava, a razlikovale su se po izvoru kalcija (vapnenac i ljuska), dvije krupnoće ljuske (sitna (0,15 mm) i srednje krupna (0,56 mm), udjelu kalcija iz vapnenca i ljuske (50% ili 100%). Vapnenac je jedini mineralni izvor kalcija u hrani kokoši kontrolne grupe. Četiri pokusne grupe na sljedeći način: prva grupa je hranjena smjesom u kojoj je 50% anorganskog kalcija potjecalo iz vapnenca i 50% iz sitno mljevene ljuske, druga grupa je hranjena smjesom u kojoj je sav anorganski kalcij potjecao iz sitne ljuske, treća grupa je hranjena hranom u kojoj 50% kalcija potječe iz vapnenca i 50% kalcija potječe iz srednje krupno mljevene ljuske, četvrta grupa je hranjena hranom u kojoj sav (100%) kalcija potječe iz srednje krupne ljuske. Probavljivost se određivala 28 dana sakupljanjem ostatka hrane i izlučenog fecesa iz svakog kaveza koji predstavlja prosjek triju kokoši. Hrana i feces zamrznuti su do analize sadržaja kalcija nakon čijeg se izračunala njegova probavljivost. Uzorci smjesa za analizu kalcija samljeveni se na mlinu *Cyclotec 1093 (Tecator, Švedska)* na veličinu čestica ≤ 1 mm. Razlike u probavljivosti različitih veličina čestica ljuske jajeta i vapnenca određene su statističkom obradom podataka statističkim paketom SAS (2001).



Slika 1.:smještaj nesilica

Izvor: vlastiti izvor, studentica Ivana Cafuk, prosinac 2014

Sirovinski sastav potpune krmne smjese kojom su uz dodatak ljuske jajeta i vapnenca hranjene kokoši nesilice vidljiv je iz tablice 2.

Tablica 2:Sirovinski sastav potpune krmne smjese za starije kokoši nesilice (%)

Krmna smjesa za konzumne nesilice	**%**
Kukuruz 7,0_agr_analiza	61,00
Sojina sačma 44%	27,00
Kalcij-karbonat	9,80
MCP	1,00
Premiks za nesilica+boja	0,50
Sol morska	0,47
Kvasac stočni protecno50	0,20
Metionin	0,03

4.2. Kemijske analize

4.2.1. Određivanje kalkulativnog sastava smjese za kokoši nesilice

Prije ispitivanja sadržaja kalcija u izmetu, te ostalih kemijskih i fizikalnih analiza određen je kalkulativni sastav smjese. Ispitivanje je izvršeno na Zavodu za hranidbu životinja Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Kalkulativni sastav smjese prikazan je u tablici 3.

Tablica 3: Kalkulativni sastav smjese (%)

Sastojak sirovine	**Sadržaj u %**	**Sastojak sirovine**	**Sadržaj u %**
Suha tvar	88,34	Škrob	38,37
ME-perad, MJ/kg	10,91	Šećer	3,31
Sirovi protein	16,39	Kalcij	3,97
Lizin	0,93	Fosfor	0,57
Metionin	0,31	Natrij	0,20
Met+cys	0,62	Klor	0,33
Triptofan	0,19	Vitamin A	12000 IJ
Treonin	0,69	Vitamin D	1500 IJ
Sirova vlaknina	2,03	Vitamin E	10 mg
Sirova mast	3,44	Linolna kiselina	1,52%
Sirovi pepeo	12,76	Ksantofil	12,74 mg

4.2.2. Određivanje sadržaja kalcija u fecesu

Kalcij se određivao iz pepela priređenog prilikom određivanja sirovog pepela. Pepeo se otopio u koncentriranoj kloridnoj kiselini, a kalcij se odredio kompleksometrijski u alikvotu retitracijom s otopinom kalcija poznate koncentracije.

Prilikom određivanja kalcija u fecesu uzorak se najprije spaljivao. U prazan lončić za žarenje izvagali smo približno 3 grama uzorka. Izvagani uzorak smo zatim stavili u peć za spaljivanje na 3 sata. Nakon spaljivanja uzorak smo izvadili iz peći, pustili ga da se ohladi na sobnu temperaturu, navlažili s malo destilirane vode i ostavili u sušioniku zagrijanom na 105 °C da se prosuši oko pola sata. Prosušeni smo uzorak vratili u peć i spaljivali još 1 sat. Spaljeni uzorak ohladili smo u eksikatoru na sobnu temperaturu nakon čega je slijedilo otapanje pepela i priprema otopine.

Ohlađeni uzorak navlažili smo sa malo destilirane vode i dodali 2-3 ml koncentrirane HCl kako bi se pepeo otopio. Uz pomoć staklenog štapića uzorak smo kvantitativno sa destiliranom vodom prenijeli u staklenu čašu. Otopinu smo zagrijali do vrenja i ostavili tako nekoliko minuta. Otopinu smo preko filtar papira kvantitativno prenijeli u odmjernu tikvicu od 100 ml. Nakon što se otopina ohladila nadopunili smo tikvicu sa destiliranom vodom do oznake.

Otopine smo pripremili na način da smo u Erlenmayerovu tikvicu odpipetirali 20 ml otopine i menzurom dodali 80 ml vode te 4-5 kapi indikatora metil crveno. Zatim smo pipetom polako dodavali 0,5 M KOH do neutralizacije (promjene indikatora iz crvene u žutu boju). Pomoću špatule dodali smo kalcein te dobro promiješali otopinu, nakon čega smo dodali 25 ml 0,05 M otopine kompleksala III . Višak kompleksala III retitrirali smo sa 0,05 M otopinom $CaCO_3$ ($VCaCO_3$uzorak) . Prema utrošku otopine $CaCO_3$ pri retitraciji izračunali smo sadržaj Ca u uzorku.

$$\text{alikvot} = \frac{\text{V otopine za rad}}{\text{V otopine}}$$

- $V_{\text{otopine za rad}}$ – alikvot pripremljene otopine pepela uzet za daljnju analizu 20 ml
- V_{otopine} – ukupni volumen pripremljene otopine pepela, 100 mL

$$W = \frac{\text{VCaCo3 slijepa proba} - \text{VCCaCO3 uzorak x MCaCO3}}{\text{m uzorka x alikvot}} \text{ x } 100$$

- W – maseni udio kalcija u uzorku
- % $VCaCO_{3slijepaproba}$ – volumen otopine $CaCO_3$ utrošen za slijepu probu,mL
- $VCaCO_{3\ uzorak}$ – volumen otopine $CaCO_3$ utrošen za uzorak, mL
- CCaCO3 – koncentracija otopine $CaCO_3$; 0,05 M
- $MCaCo_3$ – molarna masa $CaCO_3$; 40,08 g/mol
- $m_{uzorak} = m_1 - m_0$ (m_0 – masa lončića za spaljivanje(g), m_1 – masa uzorka i lončića za spaljivanje(g))

Prilikom određivanja kalcija paralelno su rađena po dva uzorka, radi provjere podudarnosti, te slijepa proba. Dobiveni rezultati preračunati su na 100% suhe tvari, te su kasnije korišteni za izračun probavljivosti kalcija.



Slika 2.: mikrovalna mufolna peć Milestone, pyro tauch control

Izvor: vlastiti izvor, studentica Ivana Cafuk, prosinac 2014

4.2.3. Određivanje sadržaja vlage u fecesu

Sadržaj vlage u uzorcima određen je u skladu s normom HRN ISO 6496:2001 (Državni zavod za normizaciju i mjeriteljstvo, 2001). Izvagali smo posudicu za vlagu zajedno s poklopcem. U posudu za vlagu odvagali smo oko 3 grama uzorka.

Zatim smo uzorak s otklopljenom posudicom sušili u *FOOS Tecator* sušioniku četiri sata na 103 °C . Nakon 4 sata izvadili smo posudicu iz sušionika, poklopili poklopcem i pusti ga da se ohladi na sobnu temperaturu u eksikatoru . Osušeni uzorak sa posudicom smo vagali te iz razlike masa uzorka prije i nakon sušenja izračunali udio vlage. Rezultati analiza preračunati su na 100% suhe tvari, te su također korišteni kod izračuna probavljivosti kalcija.

$$\text{W (vlaga)} = \frac{\text{m vlaga} * 100}{\text{m uzorka}}$$

W(vlaga) - maseni udio vlage u uzorku, (%)

m_1-masa posudice, (g)

m_2- masa uzorka i posudice prije sušenja, (g)

m_3- masa uzorka i posudice nakon sušenja, (g)

$m_{\text{suhe tvari}} = m_2 - m_1$

$m_{\text{uzorka}} = m_3 - m_1$

$m_{\text{vlage}} = m_{\text{uzorak}} - m_{\text{suhe tvari}}$



Slika 3.: FOOS Tecator sušionik

Izvor:vlastiti izvor, studentica Ivana Cafuk, prosinac 2014

4.3. Fizikalne analize

4.3.1. Određivanje veličine i raspodijele čestica

Uzorke ljuske i smjesa prebacili smo na vrh sita poslaganih na sitotresilici *Retsch AS 200 basic* (od dna sita prema vrhu idu dno; 0.160; 0.315; 0.630; 1.25 i 2 mm) Spustili poklopac i navojima pričvrstili poklopac i sita na sitotresilicu. Uključili sitotresilicu na 10 min pri amplitudi 50-60%.

Na tariranu tehničku vagu s velikom Petrijevkom kvantitativno smo prenijeli sav sadržaj sa svakog sita i dna, te zabilježi masu te tako za svaki uzorak. Iz određene mase izračunali smo postotni udio čestica na svakom od sita, te izračunali srednji geometrijski promjer čestica.

$$\text{Srednji geometrijski promjer } d_{gw} = log^{-1}\left[\frac{\sum_{i=1}^{n}(W_i \log d_{i-})}{\sum_{i=1}^{n} W_i}\right]$$



Slika 4.: uzorci smjese na sitima

Izvor:vlastiti izvor, studentica Ivana Cafuk, prosinac 2014

4.4. Statistička obrada podataka

Obrada podataka prije statističke analize izvršena je pomoću računalnog programa MS Excel. Statistička obrada podataka provedena je procedurom statističkog paketa SAS 2001.

5. REZULTATI I DISKUSIJA

Kokoši nesilice hranjene su potpunim krmnim smjesama za starije kokoši koje su se nešto, ali ne bitno,razlikovale od kalkulativnih vrijednosti. Sadržavale su više (1%) proteina, kalcija i pepela, a manje masti, fosfora i škroba od predviđene koncentracije (tablica 3 i 4).

Tablica 4.: Kemijski sastav potpunih krmnih smjesa za starije nesilice (%)

KEMIJSKI SASTAV SMJESA (n=3)					
Izvor kalcija					
	Vapnenac	Vapnenac 50%, srednje krupna ljuska 50%	Srednje krupna ljuska 100%	Vapnenac 50%, sitna ljuska 50%	Sitna ljuska 100%
Vlaga	12,83	12,50	12,53	12,13	12,10
Pepeo	14,03	14,03	14,00	14,23	13,6
Sirovi protein	17,15	17,46	17,84	17,26	17,71
Mast	2,07	2,27	2,10	2,17	1,73
Sirova vlakna	1,67	1,93	1,73	1,23	1,27
Kalcij	4,63	4,46	4,46	4,55	4,34
Fosfor	0.44	0,45	0,43	0,43	0,42
Škrob	36.44	36.47	35.75	36.22	37,76

Međutim, smjese se nisu međusobno razlikovale po kemijskom sastavu, a sadržaj kalcija je bio prilično ujednačen (tablica 4). Više od preporučenih razine sirovog proteina ne utječu na konzumaciju niti na probavljivost kalcija. Viša od potrebne količine sirovog proteina (17%) ne djeluje na proizvodne rezultate već se deaminira i izlučuje fecesom, odnosno smanjuje se retencija N u kokoši nesilica (Pavan i sur., 2005).

Visoka razina Ca u smjesama slaže se sa preporukama da se kokoši starije od 55/60 tjedana prema CVB, 2009) hrane sa 4,2-4,3% Ca, a prema FEDNA (2008) sa 3,9-4,3% Ca. Iako su kokoši hranjene sa izrazito visokim razinama kalcija nisu uočene deformacije ljuske koje je bilo za očekivati. Niske razine fosfora (0,42-0,45% ukupnog P) su poželjne za starije kokoši

nesilice jer se smatra da dnevna konzumacija 0,3 g P/d zadovoljava njihove potrebe (Snow i sur., 2004). Više razine P narušavaju kvalitetu jaja starijih kokoši nesilica.

Kao što je vidljivo u tablici 5 srednje krupna je ljuska 3,75 puta veće krupnoće od sitno mljevene ljuske. Najveća razlika između srednje krupne i sitne ljuske je što srednje krupna ima 85,66% čestica većih, a sitna 86,5% manjih od 0,315 mm. Prosječni srednji geometrijski promjer čestica srednje krupne ljuske je manji (0,56 mm) od 1,0 mm što se u literaturi smatra minimalnom veličinom za njihovo značajnije zadržavanje u želucu (Lichovnikova,2007). Kako je pokus proveden sa starijim kokošima (74 tjedna) bilo bi znatno bolja krupnija (> 2 mm) ljuska. Naime, prema Swiatkiewicz, i sur. (2015) starije kokoši bolje od mladih iskorištavaju kalcij iz krupne ljuske. Olgun i sur. (2013) su utvrdili da starije (>76 tj.) nesilice odlično iskorištava vapnenac krupniji od čak 5 mm.

Tablica 5. Raspodijele veličina čestica (%)na situ i prosječni geometrijski promjer čestica ljuske jajeta (mm)

Promjer sita mm	**Sitna ljuska**	**Srednje krupna ljuska**
2	0,09	0,16
1,25	1,24	4,68
0,63	4,92	43,97
0,315	13,10	36,75
0,16	24,19	6,22
Dno	56,46	8,22
Srednji geometrijski promjer ($d_{gw)}$) mm	0,15	0,56

Prilikom mjerenja od svake smjese uzeta su po tri uzorka iz kojih je izračunat prosjek veličina čestica. Dobiveni su sljedeći rezultati prikazani u %, te je izračunata prosječna veličina čestica za svaku pojedinu smjesu :

Tablica 6. Raspodijele čestica u smjesi (%), srednji geometrijski promjer čestica (mm)

	IZVOR KALCIJA				
Promjer sita mm	Vapnenac	Vapnenac 50%, Srednje krupna ljuska 50%	Srednje krupna ljuska 100%	Vapnenac 50%, sitna ljuska 50%	Sitna ljuska 100%
2	5,28	4,79	4,83	5,36	5,07
1,25	20,19	21,02	20,59	*20,9*	21,4
0,63	37,26	36,55	38,76	37,1	33,28
0,315	20,42	19,63	18,07	19,36	18,75
0,16	9,6	8,91	8,43	9,13	10,07
Dno	7,23	9,08	9,29	10,52	11,43
Srednji promjer (d_{gw})mm	0,69	0,67	0,68	0,65	0,63

Iz tablice 6 možemo vidjeti kako se veličina čestica smjese kreće se od 0.65 mm do 0.69 mm. Najmanji srednji geometrijski promjer čestica ima smjesa u kojoj je 100% izvor kalcija bila sitna ljuska, dok najveći promjer čestica imaju smjese u koje je kao 100% izvor kalcija dodan vapnenac i srednje krupna ljuska . Gledajući postotni udio čestica prema raspodijeli na sitima možemo vidjeti da smjesa u kojoj je 100% izvor kalcija bila sitna ljuska ima veći postotak sitnijih čestica od 0.16 mm i to 10.07% dok se 11.43% čestica smjese zadržao na samom dnu sita. Kod ostalih smjesa najviše čestica zadržalo se na situ promjera 0,63 mm. Kokoši nesilice trebalo bi hraniti smjesama koje sadrže >60% većih čestica od 1 mm. U pravilu kokoši preferiraju čestice hrane veličine >0,6 mm < 2,25 mm (Portella i sur., 1988). Kao što se vidi iz tablice 6 samo je 25% čestica smjesa veće od 1 mm te se može smatrati da su nesilice hranjene sitnom hranom. Doduše, smjese sa srednje krupnom ljuskom imale su i krupnije čestice krmne smjese od smjesa sa sitnom ljuskom pa se može smatrati da je to moglo utjecati na promatrane parametre konzumacije i izlučivanja kalcija.

5.1. Dnevna konzumacija hrane

Tijekom istraživanja vagana je hrana kojom su hranjene kokoši, te hrana koju kokoši nisu pojele. Iz razlike hrane koju smo dali kokošima i koju kokoši nisu pojele izračunali smo prosjek konzumacije hrane g/d.

Tablica 7.Prosječna dnevna konzumacija hrane (g/d)

	KONZUMACIJA HRANE g/d				
	Izvor kalcija				
Datum	Vapnenac	Vapnenac 50%, Srednje krupna ljuska 50%	Srednje krupna ljuska 100%	Vapnenac 50%, sitna ljuska 50%	Sitna ljuska 100%
18.12.	101,3	90,66	102,13	111,86	104,46
19.12.	97,66	95,13	99,4	111,4	87,46
22.12.	91,13	107,4	96,86	116,66	96,8
Prosjek	$96,69^{cb}$	$97,73^{b}$	$99,46^{b}$	$113,30^{a}$	$96,24^{cb}$

Redovi označeni različitim slovima razlikuju se signifikantno P>0,01

Iz tablice 7 vidljivo je kako su kokoši jele prilično ujednačenu dnevnu količinu hrane u svim tretmanima osim tretmana vapnenac 50% i sitna ljuska 50%. U pravilu kokoši su za stariju dob i zimsko razdoblje jele manje od očekivane količine hrane što se može objasniti visokom koncentracijom hranjiva i energije u pokusnim krmnim smjesama. Naime, kokoši jedu onoliku količinu hrane koliko im je potrebno da podmire energetske potrebe kada sve hranjive tvari dobiju u dovoljnoj količini (Kleyin, 2013). Međutim, kada pojedine hranjive tvari dobiju u većoj ili manjoj od potrebne količine tada mijenjaju količinu dnevno pojedene hrane. Perad posjeduje apetit osim za energijom i za sirovim proteinom, lizinom i metioninom te kalcijem (Wilinson i sur., 2011, 2013). Ne možemo objasniti nižu konzumaciju hrane kokoši hranjene sitnim česticama vapnenca ili samo ljuske i najvišu u kokoši hranjene sa podjednakim udjelom kalcija iz vapnenca i sitno mljevene ljuske (tablica 7).

Za izračun probavljivosti kalcija najvažnije su količine unesenog i izlučenog kalcija. Rezultati za uneseni i izlučeni kalciji prikazani su u tablicama 8 i 9 za svako od tri razdoblja u kojima su vršena mjerenja.

Tablica 8 Dnevna količina unesenog kalcija (g/d)

	UNESENI KALCIJ g/d				
	Izvor kalcija				
Datum	Vapnenac	Vapnenac 50%, srednje krupna ljuska 50%	Srednje krupna ljuska 100%	Vapnenac 50%, sitna ljuska 50%	Sitna ljuska 100%
18.12.	4,32	4,34	4,33	4,79	4,10
19.12.	4,17	3,99	3,24	4,74	3,72
22.12.	3,88	4,51	4,11	4,86	4,06
Prosjek	4,08	4,28	3,59	4,79	3,96

Tablica 9.Dnevna količina izlučenog kalcija (g/d)

	IZLUČENI KALCIJ g/d				
	Izvor kalcija				
Datum	Vapnenac	Vapnenac 50%, srednje krupna ljuska 50%	Srednje krupna ljuska 100%	Vapnenac 50%, sitna ljuska 50%	Sitna ljuska 100%
18.12.	2,59	2,56	3,07	3,72	2,61
19.12.	3,16	2,28	2,34	2,99	2,31
22.12.	2,75	2,55	2,44	2,91	2,24
Prosjek	2,83	2,46	2,61	3,20	2,38

Iz tablica 8 i 9 vidimo kako su nesilice najviše kalcija dnevno unesle putem smjese u kojoj je kao 50% izvor kalcija bila sitna ljuska i 50% vapnenac . Prosječan unos kalcija te smjese iznosio je 4,79 g/d. Najmanji unos kalcija bio je iz smjese u kojoj je 100% izvor kalcija bila srednje krupna ljuska i to 3,59 g/d. Kokoši koje su hranjene smjesom u kojoj je 50% izvor kalcija bio vapnenca i 50% kao izvor kalcija sitna ljuska imale su najviše izlučenog kalcija putem fecesa.

Kao što je već navedeno količinski gledano kokoš dnevno pojede 4000 mg Ca, u fecesu se izluči 500 mg. Drugih 400 mg Ca se izlučuje mokraćom. Od toga 100 mg se deponira u kostima. Prema ovoj tvrdnji izračunata je količina zadržanog kalcija. (tablica 10).

Tablica 10 dnevno zadržana količina kalcija (g/d)

	ZADRŽANI KALCIJ g/d				
	Izvor kalcija				
Datum	Vapnenac	Vapnenac 50%, srednje krupna ljuska 50%	Srednje krupna ljuska 100%	Vapnenac 50%, sitna ljuska 50%	Sitna ljuska 100%
18.12.	1,73	1,78	1,26	1,07	1,49
19.12.	1,01	1,71	0,9	1,75	1,41
22.12.	1,13	1,96	1,66	1,95	1,82
Prosjek	1,29	1,81	1,27	1,59	1,57

Iz tablice 10 vidljivo je kako se najviše kalcija zadržalo iz smjesa u kojima su izvori kalcija vapnenac (kao 50% izvor) i sitna ljuska (50% izvor), te 50% kalcija iz vapnenac i 50% kalcija iz srednje krupne ljuske. Iz tablice 10 također je vidljivo kako se najmanji udio kalcija zadržao iz srednje krupne ljuske kao 100% izvor kalcija te iz vapnenca. Razlog tome kod vapnenca može biti to što starije kokoši (>76 tj.) najbolje iskorištavaju krupnije četice vapnenca (5,0 mm). Kratko zadržavanje vapnenca uzrokovano je brzim prolaskom kroz želudac zbog male veličine čestica a ne velike topljivost (promjera manjeg od 0,84 mm). Zbog toga se kao što je već navedeno preporučuje starije kokoši hraniti vapnencem koji se sastoji od 50:50 postotne mješavine srednje krupnih (< 1mm) i krupnih čestica (2-5 mm) što u ovim smjesama nije bio slučaj. Scott i sur. (1982) dokazali su da velike čestice kalcija prolaze kroz trakt sporije, zbog dužeg zadržavanja u želucu.

5.2.Probavljivosti kalcija

Probavljivost kalcija u peradi je zapravo apsorpcija Ca zbog zajedničkog izlučivanja mokraće i fecesa. Prosječna probavljivost se kreće ovisno od izvora i krupnoće od 32,68% do 43,96%. Dobiveni rasponi probavljivosti slažu se sa nalazima Scheideler (1998) koji je utvrdio da se probavljivost Ca ljuske jajeta kreće u rasponu od 33,95% do 56,4%. Nadalje, probavljivost Ca iz ljuske jajeta, bez obzira na udjel i krupnoću ljuske, viša je nego iz vapnenca (42,6%:32,68%). S obzirom da su krupnoće ljuske u pokusu bile manje od 1 mm, one nisu promijenile probavljivost Ca.

Tablica 11. Probavljivost kalcija (%)

Izvor kalcija						
	Vapnenac	Vapnenac 50%, srednje krupna ljuska 50%	Srednje krupna ljuska 100%	Vapnenac 50% , sitna ljuska 50%	Sitna ljuska 100%	Pr> |t|
Prosjek(probavljivost)	32,68^{c}	43,74^{a}	41,05^{b}	41,65^{a,b}	43,96^{a}	<0001
Standardna greška	2,7	2,7	2,9	2,8	2,7	

Istraživanjem je utvrđeno (tablica 12) da starije nesilice najlošije probavljaju kalciji kada on potječe samo iz vapnenca (32,68%:42,60%). Iako utvrđena statistički značajna razlike (P<0,001) u probavljivosti između pojedinih tretmana nije (P>0,001) nađena razlika u probavljivosti kalcija potpunog i polovičnog porijekla iz ljuske i vapnenca (42,7%:42,6%) te između i sitne i srednje krupne ljuske (42,4%:42,85%). Nema razlike u probavljivosti kalciji iz srednje i sitno mljevene ljuska jajeta.

Tablica 12. Razlike u probavljivost kalcija porijeklom iz vapnenca i ljuske te iz sitno i srednje krupno ljevene ljuske

Izvor kalcija					
Probavljivost (%)	Vapnenac	Ljuska 100%	Vapnenac 50% ljuska 50%	Sitno mljeveno	Srednje krupno mljeveno
	32,7b	42,6a	42,7a	42,8a	42,4a

6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata dobivenim u uvjetima ovoga istraživanja možemo zaključiti slijedeće: sitna ljuska je bila 3,76 puta sitnija od srednje krupne ljuske (0,15:0,56 mm). Istraživanjem je utvrđeno da starije nesilice lošije probavljaju kalciji kada on potječe samo iz vapnenca (32,68%:42,60%) nego iz mješavine jednakog udjela vapnenca i ljuske ili samo ljuske. Nije nađena razlika u probavljivosti kalcija potpunog i polovičnog porijekla iz ljuske i vapnenca (42,7%:42,5%) te između i sitne i srednje krupne ljuske (42,4%:42,85%). Nema razlike u probavljivosti kalciji iz srednje i sitno krupno mljevene ljuska jajeta.

7. LITERATURA

1. Aurbach, G.D., Marx, S.J. and Spiegel, A.M. (1985) Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols. In: Wilson, J.D. and Foster, D.W. (eds) Textbook of Endocrinology, 7th edn. Saunders, Philadelphia, USA, pp. 1137–1217.
2. Bar, A. (2008) Calcium homeostasis and vitamin D metabolism and expression in strongly calcifying laying birds. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 151, 477–490.
3. Bar, A. (2009) Calcium transport in strongly calcifying laying birds: mechanisms and aged laying hens. The Journal of Nutrition 117(10), 1775-1779.
4. Bar, A., Razaphkovsky, V., Vax, E. (2002). Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements in aged laying hens, Brit. Poultry Sci., 43, 261–269, 2002.
5. Bar, A., Vax, E., Hunziker, W., Halevy, O. & Striem, S. (1996). The role of gonadal hormones in gene expression of calbindin (Mr 28,000) in the laying hen. Gen Comp Endocrinol 103(1), 115-22
6. Chiba, L. I. (2005) Minerals in General. Animal Nutrition Handbook. 2005; 12-21.
7. Cufadar, Y., Olgun, O., and Yildiz, A. O.: The effect of dietary calcium concentration and particle size on performance, eggshell quality, bone mechanical properties and tibia mineral contents in moulted laying hens, Brit. Poultry Sci., 52, 761–768.
8. CVB – Product Bord Animal Feed (2009). Second editiom. Feeding standards, feeding advices and nutritive value of feeding ingridients. CVB series no 45. Den Haag, Nizozemska.
9. Domaćinović, M., Antunović, Z., Džomba, E., Opačak, A., Baban, M., Mužic S. (Osijek 2015) Nutritivni značaj i potrebe peradi za mineralnim tvarima. Hranidba kokoši nesilica – konzumna jaja. Specijalna hranidba domaćih životinja. 445, 489-500.
10. Dorinha Vitti, M.S.S., Kebreab, E. (2010) : Dynamics of Calcium and Phosphorus Metabolism in Laying Hens. Phosphorus and Calcium utilization in Farm Animals. S.de Vrtes, Kwakkel, R.P., Dijkstra, J. 133-150.
11. Elsayed, M. A., Basuony, H.A., Hatab, M.H. (2014) : The Effect of Calcium Source. Laying Hen Diet on Egg and Tibia Bone Characteristics. 465 – 474.

12. Fleming, R.H. (2008) Nutritional factors affecting poultry bone health. Proceedings of the Nutrition Society 67, 177–183.
13. Gongruttananun, N. (2011) Effects of Eggshell Calcium on productive performance, plasma calcium, bone mineralization, and gonadal characteristics in Laying hens. Poultry Science . 90 :524–529
14. Gutowska, M. S., Parkhurst, R. T. (1941) Studies in Mineral Nutrition of Laying Hens II. Excess of Calcium in the Diet. 321-328.
15. Hughes, B.O. (1984) The principles underlying choice of feeding behaviour in fowls – with special reference to production aspects. *World's Poultry Science Journal* 39, 218–228.
16. INRA-Institut National de la Recherche Agronomique (2004): Tables of composition and nutritional value of feed materials. Sauvant, D.J. Perez, M., Tran, G. (Eds). Wageningen Academic Publishers.
17. Kebreab, E. and Vitti, D.M.S.S. (2005) Mineral metabolism. In: Dijkstra, J., Forbes, J.M. and France, J. (eds) Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. CAB International, Wallingford, UK, pp. 469–486.
18. Kleyn, R. (2013). Chicken Nutrition. A guide for nutritionist and poultry professionals. Context, Packington, UK.
19. Leeson, S. (2006): Defining and predicting changes in nutrient requirements of poultry. XII European Poultry Conference, September 2006, Verona-Italy, Apstracts&Proceedings CD.
20. Lesson, S., Summers, J.D. (2008) Feeding Programs for Laying Hens (Minerals and Vitamins). Commercial Poultry Nutrition ; third edition. 184.
21. Li, Y.C., Ledoux, D.R., Veum, T.L., Raboy, V. and Zyla, K. (2001) Low phytic acid barley improves performance, bone mineralization, and phosphorus retention in turkey
22. McDowell, L. R. (2003) Classification of Minerals. Minerals in Animal and Human Nutrition, 2nd Ed. 10-12.
23. McDowell, L.R. (2003) Calcium and Phosphorus. In: Minerals in Animal and Human Nutrition, 2nd Ed. 33-44. McGraw-Hill, New York, pp. 1317–1453.
24. Neville, F. S. (2010) Natural Sources of Minerals. Mineral Nutrition of Livestock; 4th Edition. 14-38.
25. Neville, F. S. (2010) Natural Sources of Minerals. Mineral Nutrition of Livestock; 4th Edition. 14-38.

26. Olgun, O., Yildiz, A. O., and Cufadar, Y. (2013). Effects of limestone particle size and dietary available Phosphorus (AP) contents on performance, eggshell quality and mineral excretion in laying hens, Rev. Med. Vet.-Toulouse, 164, 464–470,
27. Pastore, S. M., Gomes, P. C., Rostagno, H. S., Albino, L. F. T., Calderano, A. A., Vellasco, C. R., Viana, G. D., and de Almeida, R. L.: Calcium levels and calcium: available phosphorus ratios in diets for white egg layers from 42 to 58 weeks of age, poults. Journal of Applied Poultry Research 10, 178–185. Rev. Bras. Zootecn., 41, 2424–2432, 2012.
28. Pavan, A.C., Garcia, E.A., Mori, C., Pizzolante, C.C., Piccinin, A. 2005. Effect of cage stocking density onperformance of laying hens during growth and layingperiods. R. Bras. Zootec., 30: 1320-1328.
29. Portella, F.J., Caston, L.J., Leeson, S. (1988). Apparent feed particle size preference by laying hens. Can. J. Anim. Sci. 68: 915-922.
30. Roland, D.A. (1986): Eggshell quality IV: Oystershell versus limestone and the importance of particle size or solubility of calcium sourse. World's Poultry Science Journal, 42, 166-171.
31. Roura, E., Baldwin, M.W., Klasing, K.C. (2012) : The avian taste system: an update Calcium. 95-106.
32. Schaible, P.J. (1940) The Minerals in Poultry Nutrition. 278-288.
33. Scheideler, S. E. (1998). Eggshell calcium effects on egg quality and Ca digestibility in first- or third-cycle laying hens. J. Appl. Poult. Res., 7 (1): 69-74.
34. Scheideler, S., Jalal M., Weber, T. (2005): Testing the optimum blend of fine : large particle size limestone and dietary calcium level for the Hy Line W-36 and W-98 strains of White Leghorn hens. Poultry Science Association Annual Meeting 2005. Abstract book, 121.Science, 79, 1033-1041.
35. Sim, J.S., L. M. Aw-Yong, D. B. Bragg (1983). Utilization of Egg Shell Waste by the Laying Hen. 62:2227-2229.
36. Skrivan, M., Marounek, M., Bubancova, I., Podsednicek, M. (2010). Influence of limestone particle size on performance and egg quality in laying hens aged 24–36 weeks and 56–68 weeks, Anim. Feed Sci. Tech., 158, 110–114.
37. Snow, J.L., Baker, D.H. and Parsons, C.M. (2004) Phytase, Citric Acid, and 1α-Hydroxycholecalciferol Improve Phytate Phosphorus Utilization in Chicks Fed a Corn-Soybean Meal Diet. Poutlry Science. 83:1187-1192

38. Stewart, A.F. and Broadus, A.E. (1987) Mineral metabolism. In: Felig, P., Baxter, J.D., Broadus, A.E. and Frohman, L.A. (eds) Endocrinology and Metabolism, 2nd edn.
39. Swiatkiewicz, S., Arczewska-Włosek, I.A., Krawczyk, I.J.,, Puchała, M., Józefiak, D. (2015). Effects on performance and eggshell quality of particle size of calcium sources in laying hens' diets with different Ca concentrations. Arch. Anim. Breed., 58, 301–307.
40. Underwood, E. J., Suttle, N.F. (1999) Natural Sources of Minerals. The Mineral Nutrition of Livestock; 3rd Edition. 17.
41. Underwood, E.J., Suttle, N.F. (1999) Calcium. The Mineral Nutrition of Livestock; 3rd Edition. 67-104.
42. Valkonen, E., Venalainen, E., Rossow, L., and Valaja, J.: Effects of calcium diet supplements on egg strength in conventional and furnished cages, and effects of 2 different nest floor materials, Poultry Sci., 89, 2307–2316, 2010.
43. Watt Ag.Net. - In Layer diets, Limeston is not just Calcium carbonate, <http://www.wattagnet.com>. Pristupljeno 12.studeni 2015.
44. Whitehead, C.C. (2004) Overview of bone biology in the egg-laying hen. Poultry Science. 83, 193–199.
45. Whitehead, C.C., Fleming, R.H.. (2000): Osteoporosis in cage layers. Poult Sci. 2000 Jul;79(7):1033-41.
46. Wilkinson, S. J., P. H. Selle, M. R. Bedford, and A. J. Cowieson.2011. Exploiting calcium-specific appetite in poultry nutrition.World's Poult. Sci. J. 67:587–598.
47. Wilkinson, S. J., P. H. Selle, M. R. Bedford, and A. J. Cowieson.2013. Separate feeding of calcium improves performance andileal nutrient digestibility in broiler chicks. Anim. Prod. Sci.54:172–178.
48. Wilson, G. P., Alan, W. B. (2005) Animal Source Food : Quality and Safety - Milk and Eggs. Encyclopedia of Animal Science. 37.
49. Wilson,G.P.. Alan, W.B. (2005) Mineral Elements: Macro, Micro. Encyclopedia of Animal Science. 635-641.
50. Zhang, B., Coon, C. N. (1997) : The Relationship of Calcium Intake, Source, Size, Solubility In Vitro and In Vivo, and Gizzard Limestone Retention in Laying Hens. 76:1702–1706.