

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Lea LUKŠIČ

ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL PIRE (*Triticum aestivum* L. var. *spelta*), NAVADNE AJDE (*Fagopyrum esculentum* Moench) IN TATARSKE AJDE (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študijski program - 2. stopnja

Ljubljana, 2012

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Lea LUKŠIČ

**ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL PIRE (*Triticum aestivum* L. var.
spelta), NAVADNE AJDE (*Fagopyrum esculentum* Moench) IN
TATARSKE AJDE (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študijski program - 2. Stopnja

**ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF SPELT (*Triticum aestivum* L. var.
spelta), COMMON BUCKWHEAT (*Fagopyrum esculentum* Moench)
AND TARTARY BUCKWHEAT (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje smeri agronomija. Delo je bilo opravljeno na Katedri za genetiko, biotehnologijo, statistiko in žlahtnjenje rastlin in na Katedri za farmacevtsko biologijo Fakultete za farmacijo v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala akad. prof. dr. Ivana Krefta.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: izr. prof. dr. Marijana Jakše

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Član: akad. prof. dr. Ivan Kreft

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Član: izr. prof. dr. Robert Veberič

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega diplomskega dela na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Lea Lukšič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2
- DK UDK 633.111.6:633.12:543.632:547.98:547.5(043.2)
- KG antioksidanti/ fenoli/ polifenoli/ tanini/ navadna ajda/ tatarska ajda/ pira
- AV LUKŠIČ, Lea
- SA KREFT, Ivan (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
- LI 2012
- IN ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL PIRE (*Triticum aestivum* L. var. *spelta*),
NAVADNE AJDE (*Fagopyrum esculentum* Moench) IN TATARSKE AJDE
(*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)
- TD Magistrsko delo (Magistrski študijski program - 2. stopnja)
- OP IX, 34 str., 7 pregl., 4 sl., 25 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Rastline, kot so pira, navadna ajda in tatarska ajda vsebujejo antioksidante in še nekatere za ohranjanje zdravja ugodne snovi. V raziskovalni nalogi nas je zanimalo predvsem koliko in katere antioksidante vsebujejo posamezne vrste rastlin in katera vrsta jih vsebuje več. Ukvarjali pa smo se tudi s tem, da smo skušali ugotoviti, če antioksidanti iz pire, navadne ajde in tatarske ajde vplivajo na vsebnosti antioksidantov in kakovost jajc kokoši, ki smo jih krmili s temi tremi vrstami krme v obliki otrobov. Kokoši smo 10 dni krmili s piro, po 15 dni z navadno ajdo, tatarsko ajdo in na koncu ponovno s piro. Jajca smo pobirali na 5 dni pri vsaki krmi. Vedno smo pobrali po 11 jajc. Pet smo jih namenili analizi vsebnosti antioksidantov, šest pa ugotavljanju vpliva krme na staranje jajc. Pri vsakem prvem pobiranju jajc smo na kmetiji vzeli tudi krmo za analizo antioksidantov. Antioksidante smo tako v vzorcih krme, kot jajc določali spektrofotometrično. Staranje jajc pa smo določali z metodo potapljanja jajc v navadni vodi in vodi z različnimi deleži soli (3, 6 in 9 %). Ugotovili smo, da otrobi tatarske ajde vsebuje največ antioksidantov. Njena skupna antioksidativna aktivnost znaša 87,23 % DPPH razbarvanja, sledi ji navadna ajda z 11,71 % DPPH razbarvanja, najmanjšo skupno antioksidativno aktivnost pa ima pira (1,01 % DPPH razbarvanja). Pri analizi vsebnosti antioksidantov v jajcih smo ugotovili, da ni razlik glede na krmo, ki smo jo krmili kokošim. Najpočasneje pa so se starala jajca kokoši, ki smo jih krmili s tatarsko ajdo.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du2
- DC UDC 633.111.6:633.12:543.632:547.98:547.5(043.2)
- CX antioxidants/ phenols/ polyphenols/ tannins/ common buckwheat/ tartary buckwheat/ spelt
- AU LUKŠIČ, Lea
- AA KREFT, Ivan (supervisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
- PY 2012
- TY ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF SPELT (*Triticum aestivum* L. var. *spelta*), COMMON BUCKWHEAT (*Fagopyrum esculentum* Moench) AND TARTARY BUCKWHEAT (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.)
- DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
- NO IX, 34 p., 7 tab., 4 fig., 25 ref.
- LA sl
- Al sl/en
- AB Species as spelt, common buckwheat and tartary buckwheat contain antioxidants and some other substances, which are important for maintaining our health. In our research we try to determine which and how many antioxidants contain plant species and which species of plants contain the most antioxidants. We also study if antioxidants from spelt, common buckwheat and tartary buckwheat, which we used as a feed for hen in form of bran, affect the quantity of antioxidants in eggs and quality of eggs. Hen has been fed for 10 days with spelt, and for 15 days with common buckwheat, tartary buckwheat and then once again with spelt. We collected eggs from nests on 5th day, 10th day and 15th day of each feed. Every time we took 11 eggs. Five for the analysis of antioxidants and six for analysis of ageing of the eggs. Every time when we came for the first time, during the use of certain feed on farm to pick up eggs, we took also some samples of feed in which we analyzed antioxidants also. We determined the amount of antioxidants in feed and eggs spectrophotometrically. Ageing of eggs was determined with the method of sinking eggs in tap water and in water which contained different salt concentrations (3, 6 and 9 %). We found out that feed of tartary buckwheat contained the most antioxidants. Total antioxidant activity of tartary buckwheat is 87.23 % DPPH discoloration, follows by common buckwheat with 11.71 % DPPH discoloration, and the lowest total antioxidant activity had spelt (1.01 % DPPH discoloration). We found out that there is no difference between total antioxidant activity in eggs irrespective of the feed we used. Eggs of hens we feed with tartary buckwheat had the slowest aging process.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	IX
1 UVOD	1
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA IN NAMEN MAGISTRSKE NALOGE	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 PIRA	3
2.2 NAVADNA AJDA	4
2.3 TATARSKA AJDA	5
2.4 ANTIOKSIDANTI	7
2.4.1 Flavonoidi	7
2.4.2 Pomen antioksidantov za rastline	8
2.4.3 Pozitivni učinki antioksidantov iz ajde na zdravje	8
2.4.4 Tatarska ajda kot vir rutina in kvercitrina	9
2.4.5 Tanini in katehini v navadni in tatarski ajdi	9
2.4.6 Vsebnost mineralov in proteinov v tatarski in navadni ajdi	10
3 MATERIALI IN METODE	11
3.1 VSEBNOST SUROVIH BELJAKOVIN, PEPELA V SUHI SNOVI, ANTIOKSIDANTOV IN ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI OTROBOV PIRE, NAVADNE AJDE IN TATARSKE AJDE	12
3.1.1 Ugotavljanje surovih beljakovin	12
3.1.2 Ugotavljanje vsebnosti pepela	13
3.1.3 Spektrofotometrične analize flavonoidov, skupnih fenolov in taninov	14
3.1.3.1 Ugotavljanje vsebnosti polifenolnih spojin s Folin-Ciocalteu-jevo metodo	14
3.1.3.2 Ugotavljanje koncentracije rutina in kvercetrina z metodo HPLC	15
3.1.3.3 Ugotavljanje vsebnosti taninov z vanilin-HCl metodo	16

3.1.3.4 Ugotavljanje antioksidativne aktivnosti z metodo DPPH	16
3.2 VSEBNOST ANTIOKSIDANTOV V JAJCIH	17
3.4 PREVERJANJE SVEŽOSTI JAJC	19
3.4.1 Spremljanje ohranjanja svežosti jajc z razlivanjem rumenjakov	20
3.4.2 Vpliv krme na premere rumenjakov in maso jajc	20
3.5 STATISTIČNE ANALIZE	20
4 REZULTATI	21
5 RAZPRAVA IN SKLEPI	27
5.1 RAZPRAVA	27
5.2 SKLEPI	29
6 POVZETEK	30
7 VIRI	32
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Povprečne vrednosti vsebnosti posameznih mineralov v mg/10 g MM* in povprečne vrednosti vsebnosti proteinov v g/100 g MM* v moki navadne in tatarske ajde (Ikeda in sod., 2004)	10
Preglednica 2: Vsebnost surovih beljakovin v suhi snovi, pepela v suhi snovi, polifenolov, rutina, kvercetina, taninov oziroma ekvivalentov katehina ter antioksidativna sposobnost v otrobih pira, navadne ajde in tatarske ajde	22
Preglednica 3: Prikazuje antioksidativno aktivnost rumenjakov jajc (1 do 5) po različnih vzorcih (datumih) jajc ter povprečje antioksidativnih aktivnosti rumenjakov za posamezne vzorce (datume) jajc	23
Preglednica 4: Število jajc, ki potonejo po določenem številu dni (od pobiranja jajc iz gnezda, do potapljanja jajc) v navadni vodi, glede na posamezne datume pobiranja jajc	23
Preglednica 5: Število jajc, ki potonejo po določenem številu dni (od pobiranja jajc iz gnezda, do potapljanja jajc) v vodi, ki smo ji dodali 3 % soli, glede na posamezne datume pobiranja jajc	24
Preglednica 6: Prikaz jajc (po številkah), pri katerih se je ob razbitju razlil rumenjak pri različnih vzorcih (označeno z x)	25
Preglednica 7: Vrednosti mase (g) in premerov rumenjakov (cm) jajc kokoši krmljenih s piro 8.3., navadno ajdo 18.3., tatarsko ajdo 1.4. in piro 16.4. (po 10 dneh krmljenja s posamezno krmo)	26

KAZALO SLIK

Slika 1: Zrnje pira (Semena poljščin: opis..., 2004)	4
Slika 2: Zrnje navadne ajde (Buckwheat: a casualty of..., 2010)	5
Slika 3: Zrnje tatarske ajde (<i>Fagopyrum tataricum</i> ..., 2010)	6
Slika 4: Razmerje med maso jajc (g) in premeri rumenjakov (cm) jajc kokoši krmljenih s piro 8.3., navadno ajdo 18.3., tatarsko ajdo 1.4. in piro 16.4 (po 10 dneh krmljenja s posamezno krmo)	26

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Fe	železo
Zn	cink
Cu	baker
Mn	mangan
Ca	kalcij
Mg	magnezij
K	kalij
P	fosfor
MM	mokra masa
s.s.	suha snov
N.u.	ni ugotovljeno
N	število vzorcev
AA	antioksidativna aktivnost
UV	ultravijolično
DNA	deoksiribonukleinska kislina
n. ajda	navadna ajda
t. ajda	tatarska ajda
rum.	rumenjaka
d	dnevi
in sod.	in sodelavci
DPPH	2,2-diphenil-1-picrilhidrazil

1 UVOD

Danes potrošniki postajamo vse bolj ozaveščeni o pomenu kakovostnih in zdravih živil ter njihovega pomena za naše zdravje. Posledično postajajo tržno zanimivejše tudi nekatere stare poljščine in rastline, ki niso v množični uporabi in katerih antioksidativni potencial in hranilno vrednost smo preučevali tudi v našem poskusu. Te rastline so navadna ajda (*Fagopyrum esculentum* Moench), tatarska ajda (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) in pira (*Triticum aestivum* L. var. *spelta*). V namen izboljšanja počutja in zdravstvenega stanja, tako ljudi kot živali, se danes vse bolj preučuje tudi katere za zdravje ugodne snovi in v kakšnih količinah najdemo v živilih in kakšen pomen imajo te za nas.

Med pomembnejšimi snovmi, ki vplivajo na kakovost živil in zdravstveno stanje ljudi, so antioksidanti. Antioksidanti preprečujejo oksidacijo snovi. Oksidacija je verižna reakcija, povzročajo pa jo oksidanti in radikali (Abram, 2000).

Prosti radikali in antioksidanti so v telesu v stalnem ravnotežju. Če se ravnotežje poruši, to imenujemo oksidativni stres. Posledice oksidativnega stresa pa so poškodbe celičnih struktur, ki so najpogostejši vzrok degenerativnih bolezni, raka, nekaterih drugih bolezni in seveda tudi hitrega staranja. Če poznamo vlogo antioksidantov v našem organizmu, lahko na ta način uspešneje preprečujemo in zdravimo te posledice (Korošec, 2000).

Z vidika vnosa eksogenih antioksidantov v naš organizem je zlasti pomembna hrana rastlinskega izvora, ki vsebuje veliko teh snovi, zato smo od takšne hrane tudi močno odvisni (Kreft in sod., 2000).

Antioksidanti pa nimajo pozitivnega vpliva le na ljudi in živali, ampak imajo pomembno vlogo tudi pri rastlinah. Rastline so izpostavljene sončni svetlobi, ki vključuje vidno in ultravijolično svetlobo. Obe svetlobi sodelujeta pri rasti in razvoju rastlin. Vidna svetloba daje rastlinam energijo za pretvarjanje anorganskih snovi v organske, to pa je temelj življenja rastlin in od njih odvisnih ljudi in živali. Sončni žarki pa za rastlino predstavljajo tudi nevarnost, saj lahko povzročajo poškodbe rastlinskih tkiv. Sončno sevanje povzroča nastanek prostih radikalov v rastlinah, ki pa jih antioksidanti sproti nevtralizirajo. Ultravijolične žarke, ki so posebno nevarni rastlinam, te s pomočjo sekundarnih metabolitov kot so flavonoidi in druge polifenolne snovi zaustavijo že v zunanjih tkivih.

Če je ultravijoličnih žarkov več, se v rastlini začne kopičiti več ustreznih sekundarnih metabolitov, to pa je uravnano preko gensko zasnovane sinteze v sami rastlini (Kreft in sod., 2000).

Količina antioksidantov, ki jih zaužijemo s hrano, je odvisna od vrste rastlin, od vsebnosti antioksidantov v rastlinah, kar je pri rastlinah genetsko pogojeno, vpliv pa imajo tudi ekološke razmere in agrotehnični dejavniki. Količina antioksidantov pa je tudi različna v posameznih rastlinskih delih, zato je pomembno katere rastlinske dele uporabimo (Kreft in sod., 2000).

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA IN NAMEN MAGISTRSKE NALOGE

Zaradi množice pozitivnih učinkov antioksidantov na naš organizem in pomembnosti rastlinske hrane kot vira le teh, smo se odločili raziskati koliko antioksidantov vsebujejo otrobi pire, navadne ajde in tatarske ajde in kaj se z antioksidanti iz otrobov teh rastlin dogaja tekom presnove. To smo ugotavljali tako, da smo z otrobi pire, navadne ajde in tatarske ajde krmili kokoši in opazovali količino antioksidantov v jajcih, ki so jih izlegle te kokoši. Opazovali smo tudi, kako posamezna krma vpliva na staranje jajc kokoši.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevali smo, da bodo razlike med vsebnostjo antioksidantov v otrobih pire, navadne ajde in tatarske ajde. Tudi jajca kokoši krmljenih z otrobi tatarske ajde naj bi imela največji antioksidativni potencial, na sredini bi bila jajca kokoši krmljenih z otrobi navadne ajde, najmanj antioksidantov pa naj bi bilo v jajcih kokoši krmljenih z otrobi pire. Jajca kokoši krmljenih z otrobi tatarske ajde naj bi ostala najdlje sveža, sledila bi jajca kjer smo krmili navadno ajdo, jajca kokoši krmljenih z otrobi pire pa naj bi svežost ohranila krajši čas.

2 PREGLED OBJAV

2.1 PIRA

Plevnata večzrna pira (*Triticum aestivum* L. var. *spelta*) je ena izmed zvrsti pšenice. Domnevajo da je pira najstarejša oblika heksaploidne pšenice in da je nastala s spontanim križanjem tetraploidne dvozrne pšenice *Triticum turgidum* L. var. *dicoccum* in diploidne vrste *Triticum tauschii* (Kocjan Ačko, 1999).

Izvorno območje pira je prednja Azija, vendar tam pira sprva ni bila pomembno žito. Na svoji veljavi je dobila šele s prilagoditvami hladnim in vlažnim območjem severovzhodnih Alp. V srednji Evropi se je pira pojavila v četrtem tisočletju pr. n. š. Samoraslo piro so našli tudi v Črni gori, Bosni in Srbiji. Pri nas je bila razširjenost pira od Valvasorjevih časov (1641, 1693) pa do leta 1880 na približno 1000 ha. Po letu 1890 se je delež njiv zasejanih s piro zmanjšal najprej za polovico, v letih pred drugo svetovno vojno pa je bilo s piro posejanih njiv le še 200 ha. Največ so piro pri nas pridelovali na višje ležečih območjih Koroške, gričevnatem Goričkem, obronkih Kozjanskega, na Dolenjskem in v Beli krajini (Kocjan Ačko, 1999).

Ljudska imena pira so pirica, pirjevica in sevka. Ime pira izhaja iz podobnosti pirinega klasa travi pirnici, ki jo poznamo kot plevelno rastlino v posevkih žit in drugih poljščin (Kocjan Ačko, 1999).

Pira je rastlina s šopastimi koreninami s katerimi dobro črpa hranila in vodo iz tal. Ima votlo, prožno in daljšo bil. Pira lahko v odvisnosti od rastišča in sorte doseže višino od 120 do 170 cm. Ima ozke, dolge in gladke liste. Po navadi pira oblikuje več stranskih poganjkov kot navadna pšenica. Socvetje pira je dolg, tanek in redek klas z enakomerno vzporednimi robovi in kvadratnega prereza. Klasno vreteno pira je lomljivo. Klas pira je sestavljen iz klaskov. V vsakem klasku je tri do šest cvetov, v posameznem cvetu pa so trije prašniki in pestič. Pira je po načinu oprašitve samoprašna rastlina. V klasku se redko oblikujeta več kot dve zrna. Krovna pleva in predpleva pri mlečavi ne odpadeta, zato ostane zrno plevnato (plevenec). Zrno pira je na hrbtni strani trebušasto, s strani stisnjeno na vrhu nasproti kalčka pa ima bradico. Pira ima manj zrn na klas kot navadna pšenica, vendar so ta debelejša. Zreli klasi pira se zaradi teže zrn povesejo (Kocjan Ačko, 1999).

Pira ima tudi ugoden učinek na zdravje ljudi. Sok iz mladih pirinih listov izboljšuje počutje in povečuje odpornost organizma. Klorofil izboljšuje presnovo ogljikovih hidratov in preprečuje gnitje beljakovin v črevesju. Piro so v preteklosti uporabljali tudi za zdravljenje kroničnih obolenj, povečanje apetita, umirjanje prebavnih težav in blaženje bolečin v sklepih (Kocjan Ačko, 1999).



Slika 1: Zrnje pire (Semena poljščin: opis..., 2004)

2.2 NAVADNA AJDA

Izvor ajde je jugozahodna Kitajska, natančneje pokrajina Junan. Od tod se je postopno širila južno od Himalaje v Butan, Nepal, Indijo in Pakistan. Druga pomembna pot po kateri se je ajda širila, pa je bila proti severu Kitajske in Sibirije, po tej poti se je najverjetneje preko Rusije in Ukrajine razširila v srednjo Evropo in od tam naprej proti zahodni Evropi. V Sloveniji je bila ajda prvič omenjena leta 1426 (Kreft, 1995).

Danes navadno ajdo pridelujejo po celotni Evropi in predstavlja eno najpomembnejših alternativnih žit, saj jo lahko gojimo na ekološki način, brez uporabe pesticidov in mineralnih gnojil. Navadna ajda je prav tako razširjena po celotni Sloveniji, zaradi njenih za pridelavo ugodnih lastnosti, ki omogočajo ohranjanje okolja in lastnosti ugodnih za zdravje ljudi, pa bi jo morali pridelovati še več (Bonafaccia in Fabjan, 2003).

Navadna ajda je bila v Sloveniji zelo razširjena. V petdesetih letih 20. stoletja so sejali okoli 1000 ha ajde, kot glavnega posevka in približno 30 000 ha ajde, kot strniščnega posevka. V Jugoslaviji se je poleg Slovenije ajdo sejalo le še v Črni gori in Vojvodini, vendar vsega skupaj le približno 5000 ha. Ajda je v Evropo prišla šele v 15. stoletju. V 16. in 17. stoletju je bila setev ajde močno razširjena. V času tridesetletne vojne je ajda pri nas zavzemala kar 20 do 25 % vse obdelane zemlje (Sadar, 1949).

Ajda je dvokaličnica in spada v družino dresnovk (*Polygonaceae*). Korenine ajde rastejo sorazmerno plitvo. Korenine so žilave z dolgimi koreninskimi laski. Steblo žilavo, sočno in ima kiselkast okus. V skromnih razmerah ajda v višino zraste od 20 pa do 30 cm. Če so razmere za rast ugodne pa doseže višino tudi od 120 pa do 150 cm. Listi ajde so srčasto

puščičasti, tako dolgi kot široki. Spodnji listi so pecljati, zgornji pa sedeči. Cvetovi so v sestavljenih socvetjih. Cvetni listi so obarvani belo, rožnato ali rdečkasto (Kreft, 1995).

Ajda je tujeprašna rastlina, njene glavne opraševalke so čebele. Ajdovo seme je orešek, sestavljeno iz kalčka, endosperma in luske. Semena ajde so triroba, po navadi so dolga od 4 do 7 mm. Ploskve semen navadne ajde so ravne, rahlo zaokrožene, gladke in če je ajda sveža se lahko tudi svetijo. Semena ajde so lahko sive, srebrnkasto svetlo sive, sive s pegami, rjave, temnorjave ali črne barve (Kreft, 1995).



Slika 2: Zrnje navadne ajde (Buckwheat: a casualty of..., 2010)

2.3 TATARSKA AJDA

Tatarsko ajdo danes pridelujejo v goratih predelih jugozahodne Kitajske v pokrajini Sečuan, na severu Indije, v Butanu in Nepal. Edina država v Evropi, kjer tatarsko ajdo pridelujejo kot žito pa je Luksemburg (Fabjan in sod., 2003).

Tatarska ajda uspeva v razmeroma neugodnih okoljskih razmerah. Po svoji sestavi ima izredno prehransko kakovost, večja vsebnost fenolnih snovi pa ji omogoča, da je odporna na bolezni in škodljivce ter vplive ultravijoličnega sevanja sončnih žarkov. Lahko jo pridelujemo na ekološki način, saj zaradi njene naravne odpornosti na biotske in abiotske dejavnike, uporaba pesticidov in mineralnih gnojil ni potrebna (Kreft, 2011). Tatarska ajda je tudi bolj odporna na mraz kot navadna ajda (Sadar, 1949).

Tatarsko ajdo je k nam med leti 1815 in 1816 iz Češke prinesel baron Žiga Zois in s tem pomagal zmanjšati lakoto na tem območju. Lakota je takrat nastala zaradi izbruha vulkana Tambora v območju Tihega oceana. Izbruh vulkana Tambora je bil največji zabeležen izbruh v zgodovini. Zaradi vulkanskega pepela, ki je prekril nebo je leto 1816, ostalo znano kot leto brez poletja (Kreft, 2011).

Znano je, da so na Koroškem tatarsko ajdo pridelovali še sredi 20. stoletja, celo na nadmorski višini 1200 m. V drugi polovici 20. stoletja so pridelavo tako tatarske, kot navadne ajde začeli opuščati. Razlogi za opuščanje so bili predvsem setev koruze, ki ni dopuščale setve strniščnega posevka, zaraščanje hribovitih predelov, kjer je tatarska ajda dobro uspevala in grenak okus ter nižji delež moke ter več ostankov otrobov in luščin v primerjavi z navadno ajdo. Ljudje se takrat še niso zavedali, da je grenak okus zgolj posledica večje vsebnosti v tatarski ajdi naravno prisotnih flavonoidnih antioksidantov (Kreft, 2011).

Nekoč so tatarsko ajdo v Sloveniji pridelovali na Gorenjskem, Dolenjskem in v Zgornje Savinjski dolini, vendar je danes polja kjer je nekoč rasla tatarska ajda, nadomestila navadna ajda, tatarsko ajdo pa najdemo le še kot plevelno rastlino, med posevki navadne ajde (Fabjan in sod., 2003).

Ugotovljeno je bilo, da ima zrnje tatarske ajde pomembno funkcijo v naši prehrani. Vsebuje proteine z visoko biološko vrednostjo in ima zelo uravnoteženo aminokislinsko sestavo. Prav tako je polna kakovostnih vlaknin in vitaminov B1, B2 in B6, vsebuje pa tudi več antioksidanta rutina kot navadna ajda (Fabjan in sod., 2003).

Tatarska ajda se od navadne ajde loči po tem, da ima bolj izrazito zeleno steblo in liste. Cvetno odevalo tatarske ajde je svetlozeleno ali rumenkasto zeleno. Cvetni listi so majhni in ozki, dolgi le 2 do 3 mm. Tatarska ajda se po navadi oplodi sama. Zrna tatarske ajde so obarvana rjavo, svetlo rjavo, rjavo sivo in zelenkasto. Oblika semen je triroba, robovi so zaokroženi in nekoliko bulasti, površine semen niso ravne temveč motne in hrapave. V tleh lahko semena tatarske ajde ostanejo kaliva več let, na ta način se tatarska ajda tudi ohranja na njivi (Kreft, 1995).



Slika 3: Zrnje tatarske ajde (*Fagopyrum tataricum*..., 2010)

2.4 ANTIOKSIDANTI

Prosti radikali so ioni, atomi ali molekule z vsaj enim prostim elektronom brez para. To so visoko reaktivne molekule, ki poškodujejo celične strukture, vključno z nukleinskimi kisljinami in geni. Prosti radikali nastajajo pri cepitvi kovalentne vezi. So rezultat normalne celične presnove (dihanje) in posledica dejavnikov okolja, kot so sevanje, toplota, kajenje, uživanja alkohola, zdravil, onesnaženega okolja in nekaterih drugih dejavnikov (Korošec, 2000).

V organizmu zdravega človeka so antioksidanti in prosti radikali v stalnem ravnotežju. Če se to ravnotežje poruši, nastane za organizem neugodno stanje, ki ga imenujemo oksidativni stres. Antioksidanti ga preprečujejo z lovljenjem prostih radikalov v našem telesu. To počno na različne načine, s keliranjem kovinskih ionov, z odstranjevanjem, oziroma popravilom oksidativno poškodovanih biomolekul (Korošec, 2000).

Antioksidanti, ki telo varujejo pred neželenimi učinki prostih radikalov so encimi (superoksidna dismutaza, katalaza, glutationska peroksidaza, metionin sulfoksid reduktaza, DNA popravljalni encimi), vitamini (A, E, C), betakaroteni, bioflavonoidi, katehini in še nekaj drugih rastlinskih snovi, ter mikrorudnine, kot so selen, cink, baker in mangan. Nekatere antioksidante sintetizira telo samo, to so: glutation, sečna kislina, ubikinon, druge pa dobimo s hrano (antioksidativni vitamini in kovine v sledovih) (Korošec, 2000).

Pri presnovi se pri ljudeh antioksidanti lahko spreminjajo pod vplivom prebavnih encimov ter drugih snovi, ki jih izloča organizem v prebavni trakt in zaradi različnih interakcij med snovmi. V debelem črevesu pri rastlinojedih in vsejedih organizmih pa pri presnovi antioksidantov sodeluje tudi črevesna mikroflora. Biotska dostopnost različnih oblik antioksidantov je odvisna od njihove vključenosti v strukture hrane (v celične stene in vlakninske strukture), od interakcije med snovmi tekom presnove, od topnosti antioksidantov v prebavnem traktu in od prenosa prenosnih mehanizmov preko črevesne stene v krvni obtok. Za antioksidante ni znano v kolikšni meri, na kakšen način in s kolikšno zakasnitvijo se pojavljajo v celicah oziroma na posameznih mestih delovanja (Kreft in sod., 2000).

2.4.1 Flavonoidi

Flavonoidi so fenolne spojine zgrajene iz 15 C-atomov, njihova osnovna formula je $C_6C_3C_6$. Po nastanku so sekundarni metaboliti, kar pomeni da nastajajo iz primarnih metabolitov, ki nastajajo in so vključeni v primarne metabolne procese, kot so glikoliza, celično dihanje in fotosinteza (Abram, 2000).

Za fenolne antioksidante (AH) je znano, da zaustavijo oksidacijo lipidov, njihov vodikov atom se hitro poveže z lipidnim radikalom. Čim manjša je jakost vezi med antioksidantom (A) in vodikom (H), tem večja je učinkovitost antioksidantov. Za fenolne antioksidante je značilno, da so dobri donorji vodika ali elektronov (Abram, 2000).

Flavonoidi so antioksidanti, ki lahko preprečijo peroksidacijo lipidov na več načinov: z lovljenjem radikalov, z vezavo kovinskih ionov, z lovljenjem lipidnih peroksilnih radikalov in z inhibicijo encimskih sistemov, ki katalizirajo nastanek prostih radikalov (Abram, 2000).

V rastlinah so nekateri flavonoidi rdeče, rumeno in belo obarvani pigmenti cvetov, sadežev, lubja in korenin. Za njih je značilen grenek okus, ki pomaga rastlinam odganjati parazite. Ker flavonoidi absorbirajo UV svetlobo, delujejo tudi kot zaščita rastline pred UV žarki (Abram, 2000).

Omeniti pa moramo, da lahko prevelika količina polifenolov človeku tudi škodi. Pri nekaterih rastlinojedih živalih in tudi ljudeh je omogočeno uživanje polifenolov iz rastlin zaradi evolucijskega razvoja zmožnosti, da s sintezo posebnih beljakovin s prolinom, ki se pojavljajo v naši slini, vežemo in tako preprečimo škodljive učinke polifenolnih snovi. Takšne beljakovine naj bi predstavljale kar 70 % delež vseh beljakovin v naši slini (Kreft in sod., 2000).

2.4.2 Pomen antioksidantov za rastline

Antioksidanti imajo v rastlinah poleg vloge, da zaščitijo rastlino pred škodljivim učinkom UV žarkov, še nekaj drugih pomembnih vlog. Ena izmed najpomembnejših je, da lahko večje koncentracije antioksidantov v rastlini, le to zaščitijo pred napadi virusov, bakterij, gliv in rastlinojedih živali. Takšen odziv rastline je uravnan z geni. Ko rastlino napade parazit ali jo okuži bolezen, se v rastlini z geni pospeši določena izgradnja sekundarnih metabolitov. Koncentracija antioksidantov v rastlini pa ne sme biti previsoka, saj bi na ta način le ti lahko škodovali tudi rastlini sami. Antioksidanti, se zato v rastlinah ne kopičijo v živi citoplazmi celic, ampak v ločenih predelkih, včasih ločeno v vakuolah ali celo v tkivih, v katerih ni več živih celic. Vsebnost antioksidantov v rastlinah je torej lahko odvisna od genetskih, kot tudi od okoljskih dejavnikov (Kreft in sod., 2000).

2.4.3 Pozitivni učinki antioksidantov iz ajde na zdravje

Rutin je antioksidant, ki ima številne potencialno ugodne učinke na zdravje, kar so pokazali tudi in vitro poskusi na živalih. Ugotovili so, da rutin zavira oksidacijo LDL in HDL holesterola. Rutin in drugi flavonoidi so ublažili toksičnost snovi v pljučih podgan, ki

so jih podgane vdihnile. Poskus na hrčkih je pokazal, da rutin uspešno zavira nastanek poškodb na molekuli DNA. Ugotovili so tudi da rutin in kisline taninov znižujejo raven holesterola v krvi in jetrih podgan. Znižanje vrednosti LDL holesterola pa se je pokazalo tudi pri hrčkih. Rutin lahko prav tako zmanjša pojav arterioskleroze. Za rutin je bilo ugotovljeno tudi, da blaži vnetja pri miših (Wieslander in sod., 2011).

Wieslander in sodelavci (2011) so v bolnišnici na Švedskem opravili poskus s prostovoljci. Udeležencem so poleg redne hrane dodali piškote narejene iz tatarske ajde, ki je bogat vir antioksidantov, predvsem rutina. Ugotovili so, da se je pri ljudeh, ki so uživali piškote narejene iz tatarske ajde znižala raven skupnega holesterola v telesu, tako pri pacientih z normalno telesno težo, kot pri pacientih s prekomerno telesno težo. Znižala se je tudi količina encima mieloperoksidaze v krvi. Pri pacientih se je prav tako izboljšalo delovanje pljuč.

2.4.4 Tatarska ajda kot vir rutina in kvercitrina

Fabjan in sodelavci (2003) so s pomočjo visoko tlačne tekočinske kromatografske metode (HPLC) preučevali vsebnost antioksidantov rutina, kvercitrina in kvercetina v dveh vzorcih tatarske ajde iz Kitajske in enem vzorcu tatarske ajde iz Luksemburga ter vzorcu navadne ajde sorte 'Siva' iz Slovenije. Količino antioksidantov so določali v zelenih delih ajde in tudi v zrnju. Ugotovili so, da je v zeli tatarske ajde do 3 % rutina (suhe teže), kvercitrina pa je bilo v zeli od 0,01 do 0,05 % suhe teže. Kvercetin so v sledovih odkrili le v nekaterih vzorcih tatarske ajde. Ugotovljeno je bilo tudi, da zrnje tatarske ajde vsebuje več rutina (od 0,8 do 1,7 % suhe teže) kot zrnje navadne ajde (0,01 % suhe teže). Količina rutina in kvercetina v zrnju je odvisna od genotipa rastline in rastnih razmer. Zrnje tatarske ajde je prav tako vsebovalo antioksidanta kvercetin in kvercitrin, ki pa ju v navadni ajdi niso zaznali.

2.4.5 Tanini in katehini v navadni in tatarski ajdi

Tanine uvrščamo v skupino polifenolov in so sekundarni produkti metabolizma rastlin. Tanini imajo močan antioksidativen učinek in delujejo zavirajoče proti nekaterim vrstam raka. Tanine najdemo v sadju, čaju, vinu, sokovih in tudi v ajdi (Gadžo in sod., 2010). Sestavljeni so iz flavonoidnega C₆-C₃-C₆ skeleta, flavan-3-olov (katehin, epikatehin) in flavan-3,4-diolov (leukoantocianidin) ter estrov fenol karboksilnih kislin (galna in elagna) in molekul heksoz, najpogosteje glukoze (Luthar, 1992).

Tanini so tudi pomembna komponenta kakovosti, saj preprečujejo procese staranja in kvarjenja semen. Najdemo jih v vseh rastlinskih delih, kjer tvorijo s specifičnimi beljakovinami in sladkorji večje komplekse, to pa otežuje njihovo izolacijo. Pozitivna

lastnost taninov je njihovo antibakterijsko, antitumorsko, antivirno in antimutageno delovanje. Negativna lastnost pa je njihova inhibicija encimov α -amilaz za prebavo škroba, večje količine tudi negativno vplivajo na prebavljivost aminokislin in močno poudarjajo trpek okus (Luthar, 1992).

Luthar (1992) je preučevala vsebnost taninov v 63 vzorcih semen navadne diploidne ajde ($2n=16$), 4 vzorcih semen navadne tetraploidne ajde ($2n=32$) in 12 vzorcih semen tatarske ajde. Ugotovila je, da je vsebnost taninov največja v semenih navadne ajde in znaša 2,46 %, vsebnost taninov v semenih tetraploidne navadne ajde znaša 2,08 %, najmanj pa je taninov v semenih tatarske ajde, le 1,86 % (Luthar, 1992).

Katehini so polifenoli z antioksidativnim učinkom. Uvrščamo jih v skupino rastlinskih sekundarnih metabolitov, ki spadajo med flavonoide oziroma v skupino flavan-3-olov. Vsebnost katehinov v oluščnem semenu navadne ajde znaša 103 mg/kg suhe snovi, v oluščnem semenu tatarske ajde pa 121 mg/kg suhe snovi (Fabjan, 2007).

2.4.6 Vsebnost mineralov in proteinov v tatarski in navadni ajdi

Ikeda in sodelavci (2004) so preučevali vsebnost mineralov in proteinov v štirih kultivarjih tatarske ajde in treh kultivarjih navadne ajde. V spodnji preglednici št. 1 so predstavljene povprečne vsebnosti posameznih mineralov in proteinov v moki tatarske ajde ($N=4$) in navadne ajde ($N=3$).

Preglednica 1: Povprečne vrednosti vsebnosti posameznih mineralov v mg/100 g MM* in povprečne vrednosti vsebnosti proteinov v g/100 g MM* v moki navadne in tatarske ajde (Ikeda in sod., 2004)

	Fe	Zn	Cu	Mn	Ca	Mg	K	P	Proteini g/100 g MM*
	mg/100 g MM*								
Tatarska ajda	5,14	1,7	0,44	1,06	36,3	228	363	371	9,96
Navadna ajda	4,15	2,67	0,55	1,93	20,3	264	478	478	8,37

*MM – mokre mase

Iz preglednice št. 1 je razvidno, da moka navadne ajde vsebuje nekoliko več cinka, bakra, mangana, magnezija, kalija in fosforja, kot moka tatarske ajde. Moka tatarske ajde pa vsebuje nekoliko več železa, kalcija in proteinov, kot moka navadne ajde.

3 MATERIALI IN METODE

Pira (cv. Ostro), navadna ajda (cv. Pyra) in tatarska ajda (domača populacija) so bile pridelane in zmlete s tradicionalnim mlinom na kamne na kmetiji Rangus v Vrhpolju pri Šentjerneju. Pri ločitvi mlevskih frakcij so bili dobljeni ustrezni otrobi. V okviru magistrske naloge smo ugotavljali skupno vsebnost antioksidantov v otrobih rastlin pira, navadne ajde in tatarske ajde spektrofotometrično. Ugotavljali smo tudi vsebnost surovih beljakovin po Kjeldahlovi metodi z razklopom in destilacijo in vsebnost pepela v suhi snovi na princip sežiga vzorca in tehtanja dobljenega ostanka v otrobih pira, navadne ajde in tatarske ajde. V otrobih smo analizirali tudi vsebnost antioksidantov rutina in kvercetina, taninov oziroma ekvivalentov katehina in antioksidativno sposobnost otrobov pira, navadne ajde in tatarske ajde.

Prav tako smo s pomočjo spektrofotometrične metode ugotavljali skupno vsebnost antioksidantov v jajcih katerih kokoši smo 15 dni krmili s posamezno krmo (otrobi) pira, navadne in tatarske ajde.

Preverjali smo tudi svežost jajc v odvisnosti od vrste krme z metodo potapljanja jajc v navadni vodi in vodi, ki je vsebovala različne deleže soli (3 %, 6 % in 9 %).

Merili smo tudi maso posameznih jajc in premere rumenjakov, ter spremljali pogostnost razlitja rumenjakov pri staranih jajcih glede na različno krmo.

Kokoši, ki smo jim krmili različne otrobe in katerih jajca smo pobirali za poskus, so prav tako last kmetije Rangus. Na kmetiji je bilo v času poskusa 18 kokoši. Kokoši so bile območne pasme iz Šentjerneja. Ob zaključku krmljenja so bile kokoši stare približno 12 mesecev. Krmljenje in nadzor nad krmljenjem kokoši so izvajali na omenjeni kmetiji. Kokoši so bile v ogradi, navedeno krmo in vodo so dobivale po želji, druga krma jim v času poskusa ni bila na voljo.

Krmljenje kokoši:

- Kokoši smo sprva krmili z otrobi pira (10 dni),
- po piri je sledila krma z otrobi navadne ajde (15 dni),
- po navadni ajdi je sledila krma z otrobi tatarske ajde (15 dni),
- po tatarski ajdi je ponovno sledila krma z otrobi pira (15 dni).

Pobiranje jajc kokoši in vzorcev krme:

- Jajca smo pri vsaki krmi pobirali na pet dni, vedno smo pobrali po 11 jajc.
- Pet jajc smo razbili še isti dan in ločeno na beljak in rumenjak spravili v ependorfke ter dali v zamrzovalnik.

- Šest jajc smo shranili v škatli in jih odnesli v klet na stalno temperaturo (10 °C), tako, da so bila najkasneje pobrana jajca (vzorec Pira 21.4.) v kleti 38 dni, najbolj zgodaj pobrana jajca (vzorec Pira 2.3.) pa 88 dni.
- Na teh jajcih smo kasneje preverjali svežost.
- Poleg jajc smo na kmetiji vzeli tudi vzorec krme (otrobe), ki so jo tisti čas prejemale kokoši.
- Jajca smo pričeli pobirati 2.3. 2011. Kokoši so do tega datuma že pet dni krmili z otrobi pira. Prvo krmljenje kokoši s piro je trajalo 10 dni. Jajca smo pobirali dvakrat, vsakih pet dni. Drug vzorec jajc, kokoši krmljenih s piro smo torej pobrali 8.3. 2011. Na ta dan smo krmljenje s piro tudi zaključili.

Kokoši smo s tem dnem pričeli krmiti z otrobi navadne ajde petnajst dni, jajca pa smo prav tako pobirali na pet dni. Prva smo pobrali 13.3., druga 18.3. in tretja 23.3. 2011. S tem dnem smo zaključili 15 dnevno krmljenje kokoši z navadno ajdo.

Kokoši smo po navadni ajdi pričeli krmiti z otrobi tatarske ajde, ponovno za 15 dni. Prva jajca smo pobrali po petih dneh krmljenja s tatarsko ajdo in sicer 29.3., druga po 10 dneh, 1.4. in tretja po 15 dneh, 6.4. 2011.

Na ta dan smo kokoši ponovno pričeli krmiti z otrobi pira, tokrat je krmljenje trajalo 15 dni. Prva jajca smo pobrali 12.4., druga 16.4., tretja pa 21.4. 2011. Po tem dnevu so kokoši ponovno prešle na običajno krmo, naše pobiranje jajc pa se je s tem dnem končalo.

3.1 VSEBNOST SUROVIH BELJAKOVIN, PEPELA V SUHI SNOVI, ANTIOKSIDANTOV IN ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI OTROBOV PIRE, NAVADNE AJDE IN TATARSKE AJDE

3.1.1 Ugotavljanje surovih beljakovin

Dušik smo v vzorcih določali po Kjeldahlovi metodi z razklopom in destilacijo. Metoda temelji na segrevanju in razklopu organske substance (1 g vzorca otrobov navadne ajde, 1 g vzorca otrobov tatarske ajde oziroma 1 g vzorca otrobov pira) s koncentrirano žveplovo kislino (H₂SO₄) ob prisotnosti katalizatorja. Razklop organske substance izvedemo tako, da vzorce (otrobe) segrevamo 60 do 75 minut na 400 °C. Pri razklopu izločeni dušik preide v amonijak in se veže s kislino, kot amonijev sulfat. Ob dodatku natrijevega hidroksida se dušik ponovno sprosti in destilira v posodo, v kateri je določena količina kisline znane koncentracije. Količino preostale kisline določimo s končno titracijo.

Metoda, ki smo jo izbrali je bila predpisana po Pravilniku o metodah fizikalnih in kemičnih analiz za kontrolo kakovosti žit, mlevskih in pekarskih izdelkov, testenin in hitro zamrznjenega testa (1988).

Dobljeni dušik nam da podatek o skupni količini surovih beljakovin, ki jo izračunamo s faktorjem korelacije.

Količino dušika (N) izračunamo po naslednji formuli in jo izražamo v odstotkih:

$$\text{dušik (N \%)} = \frac{(a-b) \cdot 1,401 \cdot \text{mol.kisl}}{m} \quad \dots(1)$$

Količino surovih beljakovin izračunamo po naslednji formuli in jo izražamo v odstotkih na suho snov:

$$\text{beljakovine (\% na suho snov)} = \frac{N \cdot F \cdot 100}{100 - V} \quad \dots(2)$$

a – količina porabljenih mL NaOH za slepi preskus

b – količina porabljenih mL NaOH za analizo

m – odtehtana količina vzorca v g

V – količina vlage v analiziranem vzorcu v %

F – faktor za preračunavanje dušika v beljakovine, ki je odvisen od vrste vzorca

Vsebnost beljakovin se je določala s korektivnim faktorjem za preračunavanje dušika v beljakovine, in sicer s korektivnim faktorjem $N \times 6,25$ (Vombergar, 2010).

3.1.2 Ugotavljanje vsebnosti pepela

Princip ugotavljanja vsebnosti pepela temelji na sežigu vzorca in tehtanju dobljenega ostanka. Da bi določili vsebnost pepela smo 2 do 3 grame vzorca posameznih otrobov (pira, navadna ajda in tatarska ajda) žarili v žarilni peči pri temperaturi 900 ± 20 °C eno uro. Kar je po žarjenju ostalo je vsebnost pepela, ki je preračunana na delež začetne mase vzorca pred žarjenjem.

Količino pepela izračunamo po naslednji formuli in jo izražamo v odstotkih mase glede na suho snov:

$$\text{pepel (\% m/m)} = m_1 \cdot \frac{100}{m_0} \cdot \frac{100}{100 - V} \quad \dots(3)$$

m_0 - masa vzorca za analizo v g

m_1 – masa ostanka v g

V – količina vode v analiziranem vzorcu v %

3.1.3 Spektrofotometrične analize flavonoidov, skupnih fenolov in taninov

Natehtali smo otrobe za posamezne vzorce krme (pira, navadna ajda in tatarska ajda) in sicer po 600 mg za analizo taninov in 50 mg za analizo flavonoidov in fenolov. Vsaki natehti vzorca smo dodali po 10 mL 60 % etanola. Vzorce smo dali na stresalnik in jih stresali eno uro potem pa smo jih pustili ekstrahirati preko noči. Vzorce smo naslednji dan centrifugirali 10 minut pri 4000 obr./min., bistri supernatant, ki smo ga dobili po centrifugiranju smo uporabili za analizo.

Ustrezen volumen raztopine vzorca smo odpipetirali na mikrotitrsko ploščico, vzorec smo po potrebi tudi redčili in mu dodali reagente v predpisanih volumnih. S spektrofotometrom smo po določenem času in pri predpisani valovni dolžini izmerili absorbanco za posamezen vzorec otrobov. Vzoredno z raztopino vzorcev smo analizirali tudi raztopine standardnih in slepih vzorcev.

3.1.3.1 Ugotavljanje vsebnosti polifenolnih spojin s Folin-Ciocalteu-jevo metodo

S Folin-Ciocalteu-jevim reagentom (FC), ki je raztopina polimernega ionskega kompleksa iz fosfomolibdenskih in fosfovolframovih heteropolnih kislin, smo določali vsebnost celokupnih fenolnih spojin v vzorcu. Folin-Ciocalteu-jev reagent reagira s fenolnimi spojinami pa tudi z nefenolnimi reducenti, s katerimi tvori kromogene, te detektiramo spektrofotometrično (Vombergar, 2010).

Reakcija med fenolnimi spojinami in FC reagentom je oksidacija fenolatov in redukcija reagenta FC (heteropolnih kislin), pri čemer nastane moder kompleks.

Reakcijo izvajamo v šibko alkalnem mediju ob visoki koncentraciji reagenta, saj so fenolati prisotni le v alkalnem mediju, v katerem pa so tako reagent kot nastali produkti nestabilni. Da zagotovimo večjo stabilnost reakcije, raztopini vzorca, ki vsebuje polifenolne spojine, dodamo FC reagent, nekaj minut za tem pa še raztopino natrijevega karbonata. Po določenem času, ko reakcija poteče, pomerimo absorbanco raztopine pri valovni dolžini 750 nm.

S Folin-Ciocalteu reagentom lahko določimo vse fenolne skupine, tudi tiste, ki so vezane na beljakovine (Vombergar, 2010).

Reagent smo pripravili tako, da smo 2 g brezvodnega 20 % Na_2CO_3 raztopili v 10 mL vode.

Standardno raztopino smo pripravili tako, da smo 1 mg standarda (pirogalol) raztopili v 10 mL 60 % etanola.

Prikaz razmer in reagentov za analizo polifenolov:

- Volumen vzorčne raztopine: 20 μ L,
- Volumen reagenta pri vzorčni raztopini: 150 μ L voda, 10 μ L FC reagent,
- Volumen reagenta pri slepi raztopini: 160 μ L voda, 20 μ L Na₂CO₃ (po 3 min.),
- Standardna raztopina : 0,1 mg/mL pirogalola,
- Merjenje absorbance (A): po 60 minutah,
- Merjenje absorbance pri valovni dolžini (λ): 750 nm.

3.1.3.2 Ugotavljanje koncentracije rutina in kvercetina z metodo HPLC

Uporabili smo HPLC (HPLC- visoko tlačna tekočinska kromatografija) aparaturo Spectra-Physics (Mountain View, Kalifornija, ZDA) inštrument Spectra System P4000 in Spectra Focus optical scanning detector, kolono Hibar – LiChrospher 100, RP-18 (5 μ m) (E. Merck, Darmstadt, Nemčija, 250 mm x 4 mm).

Vzorci otrobov pire, navadne ajde in tatarske ajde smo sprva prefiltrirali skozi filter papir, nato pa filtrat vbrizgali v kolono.

Topila za HPLC so bila:

- A: acetonitril in metanol v razmerju 1:2 in
- B: 0,75 % raztopina H₃PO₄.

Vzorci smo spustili po linearnem gradientu (razmerje topil je bilo 60 % A in 40 % B) v času 20 minut. Potem za nadaljnjih 20 minut pri razmerju topil 100 % A in 0 % B in na kocu še za 10 minut z 100 % topila B.

Spojnam, ki smo jih dobili po filtriranju skozi kolono smo pomerili absorbance pri valovni dolžini 380 nm. Pomerjene vrednosti smo primerjali z pomerjenimi vrednostmi standardne raztopine.

Vsebnost rutina in kvercetina smo izračunali s pomočjo osnovne umeritvene krivulje za standarde rutina in kvercetina pripravljene v metanolu. Rezultate smo izrazili v mg/g suhe mase.

Koncentracijo rutina in kvercetina v posameznih vzorcih smo izračunali po formuli:

$$C_x = C_s \cdot A_v / A_s \quad \dots(4)$$

$$C_{\%} = [(C_s \cdot A_v / A_s) / C_{vz}] \cdot 100 \% \quad \dots(5)$$

C_s – koncentracija standardne raztopine

A_v – absorbance preiskovanega vzorca

A_s – absorbanca standardne raztopine

C_x – koncentracija vzorčne snovi v preiskovanem vzorcu

C_{vz} - koncentracija vzorca (izražena kot razmerje med maso vzorca in volumnom ekstrakcijskega topila)

$C\%$ - delež standarda v preiskovanem vzorcu v %

3.1.3.3 Ugotavljanje vsebnosti taninov z vanilin-HCl metodo

Test z vanilinom je občutljiv, relativno enostaven, specifičen za flavan-3-ole, dihidroalkone in proantocianidine. Uporablja se za kvantitativno določanje kondenziranih taninov (proantocianidov in katehinskih taninov), ki so polimeri flavonoidov in jih najdemo v rastlinah (Vombergar, 2010).

Metoda določanja taninov z vanilinom temelji na principu, da v kislih razmerah poteče reakcija med vanilinom in kondenziranimi tanini, pri tem pa nastane rdeče obarvana raztopina, ki ima absorpcijski maksimum med 480 in 550 nm (Vombergar, 2010).

Reagent smo pripravili tako, da smo 400 mg 4 % vanilina raztopili v 10 mL 96 % etanola.

Standardno raztopino smo pripravili tako, da smo 1 mg standarda (epikatehin) raztopili v 10 mL 60 % etanola.

Prikaz razmer in reagentov za analizo taninov:

- Volumen vzorčne raztopine: 50 μ L,
- Volumen reagenta pri vzorčni raztopini: 100 μ L vanilin, 50 μ L 32 % HCl,
- Volumen reagenta pri slepi raztopini: 100 μ L 96 % etanola, 50 μ L 32 % HCl,
- Standardna raztopina: 0,1 mg/mL epikatehina,
- Merjenje absorbance (A): po 60 minutah,
- Merjenje absorbance pri valovni dolžini (λ): 500 nm.

3.1.3.4 Ugotavljanje antioksidativne aktivnosti z metodo DPPH

Antoiksidativno aktivnost skupnih antioksidantov v otrobih pire, navadne ajde in tatarske ajde smo ugotavljali z metodo DPPH (2,2-diphenil-1-picrilhidrazil). Metoda temelji na principu, da s strani antioksidantov poteče redukcija reagenta DPPH, ki je vijolične barve, po reakciji z antioksidanti pa pride do spremembe barve v rumeno (Molyneux, 2004).

Skupno antioksidativno aktivnost otrobov pire, navadne ajde in tatarske ajde smo ugotavljali tako, da smo pripravili po 1 g vsakega vzorca otrobov (pire, navadne ajde in tatarske ajde) in mu dodali 25 mL 80 % metanola. Tako pripravljene vzorce smo nato pri sobni temperaturi stresali 8 ur na 250 rpm. Po pretečenem času smo vzorce prefiltrirali

skozi filter papir in jih shranili na temperaturo 8 °C. Iz vsakega vzorca otrobov smo pripravili po tri metanolne izvlečke, da smo imeli ponovitve.

Osnovno raztopino reagenta DPPH smo pripravili tako, da smo v 100 mL metanola raztopili 0,025 g DPPH. Tako pripravljeno raztopino smo shranili v hladen in temen prostor.

Neposredno pred analizo smo pripravili raztopino DPPH in metanola v razmerju 1:10. V kiveto smo odpipetirali 3,9 mL tako pripravljene raztopine in pomerili absorbanco (A0) pri valovni dolžini 515 nm. To so bili slepi vzorci vijolične barve.

Takoj za tem smo za analizo pripravili še vzorce, ki so vsebovali metanolne izvlečke otrobov pire, navadne ajde in tatarske ajde. To smo storili tako, da smo 0,1 mL izvlečka dodali v kiveto z reagentom DPPH in 10 minut za tem pomerili absorbanco (A10) pri valovni dolžini 515 nm. Pri teh vzorcih je prišlo do razbarvanja reagenta DPPH (inhibicije), zaradi vsebnosti antioksidantov v vzorcih.

Končno skupno antioksidativno aktivnost posameznega vzorca smo določili tako, da smo izmerili stopnjo razbarvanja (inhibicije) DPPH, ki je premo sorazmerna s količino antioksidantov v vzorcu (Brand-Williams in sod., 1995). Stopnjo razbarvanja DPPH smo določali po 10 minutah. Vzorce z antioksidanti (A10) smo primerjali s slepimi vzorci brez antioksidantov (A0).

Delež DPPH inhibicije je bil določen s pomočjo enačbe in je bil izražen v odstotkih:

$$\text{Inhibicija DPPH (\%)} = [A0 - A10/A0] \cdot 100 \quad \dots(6)$$

A0 – absorbanca slepih vzorcev

A10 – absorbanca vzorcev otrobov pire, navadne ajde in tatarske ajde

3.2 VSEBNOST ANTIOKSIDANTOV V JAJCIH

Vsebnost antioksidantov v jajcih smo merili v pripravljenih vzorcih jajc kokoši domače pasme iz Šentjerneja, ki so bile ob zaključku poskusa stare 12 mesecev. Kokoši smo krmili z otrobi pire, navadne ajde in tatarske ajde. Vzorce smo pripravili iz sveže pobranih jajc. Isti dan, ko smo jajca pobrali smo po 5 jajc razbili. Jajca smo pri vsakem pobiralnem datumu označili z številkami od 1 do 5. Posamezno jajce smo razbili in ga razdelili na rumenjaka in beljaka. Iz vsakega jajca smo pripravili 10 vzorcev rumenjaka in 10 vzorcev beljaka, na način da smo rumenjaka in beljaka shranili v ependorfke, ki smo jih tudi ustrezno označili z datumom pobiranja jajc in s številko posameznega jajca (1 do 5). Tako pripravljene vzorce smo zamrznili v zamrzovalniku. Vzorce smo odmrznili šele, ko smo opravljali analizo antioksidantov. Vedno smo odmrznili le tiste vzorce, ki smo jih takrat analizirali.

Za merjenje skupne vsebnosti antioksidantov v vzorcih jajc kokoši, ki smo jih krmili z otrobi pire, navadne ajde in tatarske ajde smo uporabili metodo DPPH.

DPPH je reagent, ki reagira z antioksidanti v vzorcu, na način da poteče redukcija DPPH s strani antioksidantov, kar se pokaže kot sprememba barve vzorca v katerem je reagent, sicer vijolične barve. Stopnja razbarvanosti reagenta DPPH je odvisna od količine antioksidantov, več kot je antioksidantov, bolj se reagent razbarva (Molyneux, 2004).

Raztopino DPPH smo pripravili tako da smo 4 mg DPPH (vijoličen prah) raztopili v 100 ml etil acetata. DPPH je občutljiv na svetlobo, zato smo ga ves čas poskusa hranili v temnem prostoru.

Vzorcem, ki so vsebovali antioksidante in so bili predhodno razredčeni z etil acetatom smo dodali raztopino DPPH in etil acetata. Vzorcem smo po pretečenem reakcijskem času (približno 0,5 ure) pomerili absorbance pri valovni dolžini 517 nm in iz vrednosti le teh skleпали na vsebnost antioksidantov v posameznem vzorcu jajc.

Antioksidativni potencial posameznega jajca smo določali le pri rumenjakih, saj smo tekom poskusa ugotovili, da beljaki jajc ne vsebujejo skoraj nič antioksidantov. Vzorce rumenjakov jajc smo razvrstili po številkah jajc (od 1 do 5) in po datumih pobiranja, kar pomeni, da smo sprva analizirali vsa jajca številka 1 po vseh datumih pobiranja.

Sledila so vsa jajca številka 2 po datumih pobiranja, potem vsa jajca številka 3 in tako vse do jajc številka 5.

Rumenjaki so se zaradi zamrzovanja zgostili (nastala je pasta), zato smo jih tehtali. V ependorfke smo natehtali po 100 mg rumenjakov jajc ter jim dodali 700 μ l etil acetata, ki je bil topilo. Vzorce smo premešali in centrifugirali 10 minut na 10 000 obratih. Po centrifugiranju smo od vsakega vzorca odpipetirali po 200 μ l supernatanta in mu dodali 200 μ l reagenta DPPH. Poleg vsakega vzorca smo pripravili še slepi vzorec, ki je vseboval 200 μ l supernatanta in 200 μ l etil acetata (brez reagenta), na ta način smo želeli ugotoviti kakšno absorbanco ima rumenjak sam. Vedno pa smo pripravili tudi tri slepe vzorce z 200 μ l etil acetata in 200 μ l raztopine DPPH, ki so nam dale podatek, kakšno absorbanco ima sam reagent.

Vse tako pripravljene vzorce smo postavili v temen prostor za 0,5 ure, da je reagent zreagiral z antioksidanti. Po pretečenem času smo vzorce ponovno centrifugirali (10 minut na 10 000 obratih), nato pa smo odpipetirali po 200 μ l vsakega vzorca v mikrotitersko ploščico, ter pri valovni dolžini 517 nm pomerili absorbance vzorcev jajc. Absorbance nam je merila spektrofotometrična naprava TECAN.

3.4 PREVERJANJE SVEŽOSTI JAJC

Pri vsakem pobiranju jajc smo po 6 jajc shranili na stalno temperaturo v klet, z namenom da bi jajca naravno starali in čez čas ugotavljali, katera jajca (v odvisnosti od različne krme) so najdaljši čas ostala sveža. Svežost smo začeli preverjati po 88 dneh odkar smo prva jajca (vzorec Pira 2. 3.) spravili v klet. Za starost 88 dni smo se odločili po dogovoru.

Za ugotavljanje svežosti jajc smo uporabili metodo potapljanja jajc v navadni vodi in vodi z različnimi koncentracijami soli, in sicer voda z 3 % (15 g na 0,5 L) dodane soli, s 6 % (30 g na 0,5 L) dodane soli in 9 % (45 g na 0,5 L) dodane soli. Količina vode v kateri smo potapljali jajca je znašala 0,5 litra. Po tej metodi so jajca, ki potonejo na dno posode sveža, jajca, ki splavajo na površje pa svežosti niso ohranila. Za pripravo različno koncentriranih raztopin vode in soli smo se odločili na podlagi predvidevanja, da jajca v vodi z večjim deležem soli hitreje splavajo na površje, ker je gostota bolj slane vode večja, in težje potonejo na dno posode. V vodi z 9 % soli in vodi z 6 % soli, bi torej potonila le najbolj sveža jajca. V vodi z 3 % soli in navadni vodi zaradi manjše gostote raztopine, jajca lažje potonejo na dno posode, zato smo pričakovali da bo delež jajc, ki bodo potonila v navadni vodi največji, kar nekaj jajc pa da bo potonilo tudi v vodi s 3 % dodane soli.

Najmanj jajc bo potonilo v vodi z 6 % in 9 % dodane soli. Kakšna je dejanska svežost in užitnost jajc po tej metodi nismo mogli natančno določiti, določili smo lahko le kakšen delež jajc iz posameznega vzorca plava v navadni vodi in vodi z različno količino dodane soli. Da bi določili katera jajca so dejansko sveža in še primerna za uporabo, bi morali uporabiti kakšno bolj natančno metodo. Jajca smo potapljali zaporedno po datumih. Vedno smo potopili po 6 jajc iz vsake skupine (datuma), in gledali koliko od šestih jajc bo potonilo in koliko jih bo splavalo na površje v navadni vodi in vodi z različno količino dodane soli. Začeli smo z najstarejšim pobranim vzorcem jajc, to so bila jajca, pri katerih smo kokoši krmili s piro in so bila pobrana 2.3. 2011, ta jajca smo potopili le enkrat ko so bila stara 88 dni, po tem smo jih razbili in spravili v ependorfke, ter shranili v zamrzovalni skrinji.

Vzorci smo shranjevali v ependorfke z namenom, da bi jih lahko v prihodnje uporabili še v kakšnem nadaljnjem poskusu. Sočasno smo potopili še vsa ostala jajca iz ostalih pobiranj in beležili katera potonejo in katera plavajo. Torej, vedno smo potapljali vsa jajca vseh datumov pobiranj, razbili pa smo vedno le tista jajca, ki smo jih pobrali najbolj zgodaj; jajca, ki so bila najstarejša. Potapljanje smo ponavljali na pet dni in vsakič smo razbili najstarejših 6 jajc, ko so ta dosegla starost 88 dni in jih spravili v ependorfke ter zamrzovalnik. Vsa jajca so morala ob razbitju doseči starost 88 dni, zato, da smo lahko primerjali enako stara jajca glede na različno krmo med seboj. Po petih dneh smo tako potopili in razbili jajca pobrana 8.3. 2011.

Postopek potapljanja in razbijanja smo torej ponovili enajstkrat, vedno na pet dni, vse dokler nismo potopili in razbili še zadnjih jajc, pobranih 21.4. 2011.

3.4.1 Spremljanje ohranjanja svežosti jajc z razlivanjem rumenjakov

Pri analizi preverjanja svežosti jajc smo spremljali še razlivanje rumenjakov. Saj velja, da se s starostjo rumenjaki jajc hitreje razlijejo kot rumenjaki svežih jajc (Higienska stališča za higieno živil..., 2009).

Razlivanje rumenjakov jajc smo spremljali tako, da smo posamezno jajce previdno in na majhni višini razbili na ploščatem krožniku in beležili ali se je rumenjak ob razbitju razlil ali ne.

3.4.2 Vpliv krme na premere rumenjakov in maso jajc

Da bi določili vpliv krme na jajca kokoši smo spremljali tudi maso jajc (g) in premere rumenjakov (cm) in odvisnost teh dveh parametrov od različne krme. Maso jajc smo določili tako, da smo posamezno jajce iz vsake skupine stekali trikrat na digitalni kuhinjski tehtnici in izračunali povprečje teh treh vrednosti mase jajca. Premer jajčnega rumenjaka smo izmerili tako, da smo jajce previdno in na majhni višini razbili na ploščatem krožniku potem pa smo z ravnilom izmerili premer rumenjaka. Vzeli smo vzorce jajc po datumih, pri katerih smo kokošim krmili določeno krmo 10 dni. Vsa preučevana jajca so bila starana v kleti in ob razbitju stara 88 dni. Ker se je nekaj rumenjakov med razbijanjem jajc razlilo, nekaj podatkov o premerih rumenjakov manjka.

3.5 STATISTIČNE ANALIZE

Rezultate smo analizirali z uporabo programov: Microsoft Excel 2007, ter programoma STAT G (Statgraphics 5.0, Statistical Graphics Corporation, ZDA) in s programom R (grafični vmesnik R-Commander). Statistične analize so bile opravljene po statistični metodi ANOVA, statistične značilnosti pa smo ugotavljali pri $p < 0,05$. V nekaterih primerih smo računali tudi standardni odklon, ki je bil uporabljen za merjenje statistične razpršenosti enot. Definiran je kot kvadratni koren variance.

4 REZULTATI

Iz preglednice št. 2 je razvidno, da otrobi navadne ajde vsebujejo v povprečju treh ponovitev največ surovih beljakovin v suhi snovi, kar 24,2 (% N x 6,25), sledi ji tatarska ajda z 21,6 (% N x 6,25), najmanj surovih beljakovin pa vsebuje pira, samo 16,3 (% N x 6,25).

Vsebnost pepela, torej anorganskega dela je največja pri otrobih tatarske ajde in znaša 3,9 %, malo manjša je pri navadni ajdi 3,8 %, vendar sta rezultata primerljiva za obe ajdi, odstopa pira z le 2,4 % pepela v suhi snovi.

Pri vsebnosti polifenolov v preglednici št. 2 vidimo, da otrobi tatarske ajde vsebujejo izrazito več polifenolov (13,08 mg/g suhe snovi), kot navadna ajda (8,02 mg/g suhe snovi) in pira, ki ima majhno vsebnost polifenolov v primerjavi z obema ajdama (1,79 mg/g suhe snovi).

Po vsebnosti rutina prav tako odstopajo otrobi tatarske ajde, saj je njegova vsebnost kar 8,67 mg/g suhe mase, bistveno manj rutina vsebuje navadna ajda, le 0,11 mg/g suhe mase, za vzorec otrobov pira pa vsebnost rutina ni bila ugotovljena, ker je ta pod mejo detekcije, oziroma ker pira rutina ne vsebuje.

Izkazalo se je tudi, da največ antioksidanta kvercetina vsebujejo otrobi tatarske ajde (0,49 mg/g suhe mase), vsebnost kvercetina pri navadni ajdi pa je bila tako majhna, da je nismo mogli določiti, saj je bila pod mejo detekcije. Pri otrobih pira prav tako nismo določili vsebnosti kvercetina, saj ga pira ne vsebuje.

Po vsebnosti taninov oziroma ekvivalentov katehina prav tako prednjačijo otrobi tatarske ajde (15,9 mg/g suhe mase) in je skoraj štirikrat večja kot vsebnost taninov oziroma ekvivalentov katehina pri navadni ajdi (4,0 mg/g suhe mase). Zelo malo taninov oziroma ekvivalentov katehina pa je v otrobih pira (0,07 mg/g suhe mase).

Po metodi določanja antioksidativne sposobnosti z 10 minutnim razbarvanjem reagenta DPPH ima, kot je razvidno iz preglednice št. 2, daleč največjo antioksidativno aktivnost otrobi tatarske ajde (87,23 % DPPH se je razbarvalo zaradi vsebnosti antioksidantov), bistveno manjšo antioksidativno sposobnost izraža navadna ajda (11,71 % DPPH razbarvanja), zelo majhno antioksidativno sposobnost pa ima pira (1,01 % DPPH razbarvanja).

Preglednica 2: Vsebnost surovih beljakovin v suhi snovi, pepela v suhi snovi, polifenolov, rutina, kvercetina, taninov oziroma ekvivalentov katehina ter antioksidativna sposobnost v otrobih pira, navadne ajde in tatarske ajde

VZORCI	Vsebnost surovih beljakovin v s.s.* (% N x 6, 25)	Vsebnost pepela v s.s.* (%)	Polifenoli (mg/g suhe mase)	Rutin (mg/g suhe mase)	Kvercetin (mg/g suhe mase)	Tanin, ekvivalenti katehina (mg/g suhe mase)	Antioksidativna sposobnost (% DPPH razbarvanja), po 10 min.
Pira, otrobi	16,3	2,4	1,79 ±0,12	N.u.*	N.u.*	0,07 ±0,01	1,01 ± 0,39
Navadna ajda, otrobi	24,2	3,8	8,02 ±0,17	0,11 ± 0,04	N.u.*	4,0 ±0,90	11,71 ± 0,63
Tatarska ajda, otrobi	21,6	3,9	13,08 ±0,26	8,67 ± 0,09	0,49 ± 0,05	15,9 ±1,19	87,23 ± 1,94

Povprečni rezultati treh ponovitev ± standardni odklon *s.s. – suha snov *N. u. – ni ugotovljeno

Iz vrednosti izmerjenih absorbanč je iz preglednice št. 3 razvidno, da je antioksidativni potencial jajc v povprečju zelo podoben, in da krma nima bistvenega vpliva na količino antioksidantov v jajcih. To smo potrdili tudi z analizo varianc s katero smo ugotovili, da ničelno domnevo o enakosti varianc po obravnavanih obdržimo ($p=0,166$), rezultati niso statistično značilni.

Ena od možnih razlag tega rezultata je, da kokoši, ki so starejši osebki in s tem bolj podvržene stresnim dejavnikom okolja porabijo antioksidante predvsem zase. Porazdelitev antioksidantov v jajce (plod) pa je drugotnega pomena, saj piščanci kot mladi osebki ne potrebujejo toliko varovalnih učinkovin, kot so antioksidanti. Druga možnost je ta, da imajo vse tri krme podobno vsebnost antioksidantov, obe ajdi imata več hidrofilnih antioksidantov kot so rutin, kvercetin in kvercitrin. Pira pa vsebuje več lipofilnih antioksidantov, kot so karotenoidi. In ker smo merili skupno vsebnost antioksidantov, tako nismo določali deležev posameznih antioksidantov v vzorcih. Vsa ta predvidevanja bi lahko imela vpliv na rezultat, ki pravi, da ni bistvene razlike med vsebnostjo antioksidantov v jajcih ne glede na to s kakšno krmo smo se odločili krmiti kokoši.

Preglednica 3: Prikazuje antioksidativno aktivnost rumenjakov jajc (1 do 5) po različnih vzorcih (datumih) jajc ter povprečje antioksidativnih aktivnosti rumenjakov za posamezne vzorce (datume) jajc

VZORCI	AA* (jajca 1)	AA* (jajca 2)	AA* (jajca 3)	AA* (jajca 4)	AA* (jajca 5)	POVPREČJE
2.3.Pira		0,422	0,402	0,367	0,371	0,390
8.3.Pira	0,362	0,418		0,374		0,385
13.3.N. ajda	0,336	0,403	0,391	0,376	0,375	0,376
18.3.N. ajda	0,365	0,351	0,380	0,370	0,373	0,368
23.3.N. ajda		0,415		0,361		0,388
29.3.T. ajda	0,367	0,415		0,378	0,375	0,384
1.4.T. ajda	0,362	0,418	0,416	0,378	0,373	0,389
6.4.T. ajda		0,422	0,386	0,369		0,393
12.4.Pira	0,372	0,419	0,390	0,381	0,364	0,385
16.4.Pira	0,373	0,418	0,371	0,377	0,371	0,382
21.4.Pira		0,424		0,368		0,396

*AA-antioksidativna aktivnost Kjer je prazno mesto, nismo imeli vzorca.

Iz preglednice št. 4 je razvidno, da jajca kokoši krmljenih s tatarsko ajdo najdaljši čas ohranijo svežost, saj je število jajc, ki potonejo v navadni vodi v tem primeru največje. Po 83 dneh starosti jajc pri krmi navadne ajde potoneta 2 jajci od 18 (3 krat po šest jajc za vsako krmo), pri krmi tatarske ajde 3 jajca od 18 in pri krmi pire le 1 jajce od 18 jajc. Po 78 dneh pa pri krmi navadne ajde potonejo 3 jajca od 18, pri krmi tatarske ajde 6 jajc od 18 in pri krmi pire 3 jajca od 18.

Preglednica 4: Število jajc, ki potonejo po določenem številu dni (od pobiranja jajc iz gnezda, do potapljanja jajc) v navadni vodi, glede na posamezne datume pobiranja jajc

VZOREC	Število dni od pobiranja do potapljanja jajc in število jajc, ki potonejo po določenem številu dni										
	38 d*	43 d	48 d	53 d	58 d	63 d	68 d	73 d	78 d	83 d	88 d
PIRA 2.3.											0
PIRA 8.3.										0	0
N. AJDA 13.3.									0	0	0
N. AJDA 18.3.								4	3	2	1
N. AJDA 23.3.							2	2	0	0	0
T. AJDA 29.3.						4	3	2	2	1	1
T. AJDA 1.4.					5	4	3	2	2	2	1
T. AJDA 6.4.				4	4	4	4	4	2	0	0
PIRA 12.4.			4	3	3	2	2	1	1	0	0
PIRA 16.4.		6	6	6	6	5	3	2	2	1	1
PIRA 21.4.	5	5	5	5	5	3	2	2	0	0	0

d* - število dni od pobiranja jajc iz gnezda do potapljanja jajc v navadni vodi.

Da bi preverili, ali je teza upravičena smo rezultat potapljanja v navadni vodi primerjali z rezultatom potapljanja jajc v vodi, ki je vsebovala 3 % delež soli.

Tudi iz rezultata potapljanja jajc v vodi s 3% deležem soli (preglednica št. 5) je razvidno, da jajca kokoši krmljenih s tatarsko ajdo najdlje ostanejo sveža, saj tudi v tem primeru potone največ jajc kokoši krmljenih s to vrsto krme. Pri 83 dneh starosti jajc pri krmi tatarske ajde še vedno potone eno jajce od 18 jajc, med tem ko pri ostalih dveh krmah vsa jajca splavajo na površje. Prav tako, po 78 dneh pri krmi tatarske ajde potoneta še 2 jajci od 18, pri ostalih dveh krmah pa ne potone več nobeno jajce, kar pomeni, da ta jajca niso ohranila svežosti.

Glede na dobljeni rezultat, bi lahko sklepali da tatarska ajda vsebuje določene konzervirajoče snovi (antioksidanti), ki vplivajo na daljše ohranjanje svežosti. S tem poskusom smo dokazali, da bi v primeru če bi kokoši krmili s krmo tatarske ajde, jajca teh kokoši daljši čas ostala sveža, kot če bi jih krmili s piro ali navadno ajdo. Sicer so razlike med krmo in številom jajc, ki potonejo majhne, vendar nakazujejo, da lahko ima taka krma določen vpliv na ohranjanje svežosti jajc. In v našem primeru se je v ta namen kot najboljša izkazali otrobi tatarske ajde.

Preglednica 5: Število jajc, ki potonejo po določenem številu dni (od pobiranja jajc iz gnezda, do potapljanja jajc) v vodi, ki smo ji dodali 3 % soli, glede na posamezne datume pobiranja jajc

VZOREC	Število dni od pobiranja do potapljanja jajc in število jajc, ki potonejo po določenem številu dni										
	38 d*	43 d	48 d	53 d	58 d	63 d	68 d	73 d	78 d	83 d	88 d
PIRA 2.3.											0
PIRA 8.3.										0	0
N. AJDA											
13.3.									0	0	0
N. AJDA											
18.3.								0	0	0	0
N. AJDA											
23.3.							0	0	0	0	0
T. AJDA											
29.3.						1	1	1	1	1	0
T. AJDA 1.4.					1	1	1	1	1	0	0
T. AJDA 6.4.				3	3	1	0	0	0	0	0
PIRA 12.4.			2	2	2	1	0	0	0	0	0
PIRA 16.4.		6	5	4	3	1	1	0	0	0	0
PIRA 21.4.	5	5	3	3	1	0	0	0	0	0	0

d* - število dni od pobiranja jajc iz gnezda do potapljanja jajc v vodi s 3 % dodane soli

V vodi, ki je vsebovala 6 in 9 % soli so plavala vsa jajca vseh vzorcev, zato primerjave glede na krmo nismo mogli izvesti.

V preglednici št. 6 so z "x" označena jajca, katerih rumenjaki so se ob razbitju jajca razlili pri določenem vzorcu jajc. Vidimo, da se je največ rumenjakov razlilo pri jajcih kokoši krmljenih s tatarsko ajdo (vzorec tatarska ajda 29.3), razlilo se je vseh 6 rumenjakov, noben rumenjak pa se ob razbitju jajc ni razlil pri jajcih kokoši krmljenih z navadno ajdo (vzorec navadna ajda 13.3). Iz rezultata lahko sklepamo, da na razlivanje rumenjakov v tem primeru ni imela vpliv krma ampak je precejšen vpliv imelo okolje. Pri jajcih, ki smo jih pobrali v mesecu marcu so se rumenjaki manj razlivali kakor pri jajcih, ki smo jih pobrali meseca aprila. Sklepamo, da je na razlivanje rumenjakov vplivala temperatura okolja, marca je bilo vreme hladnejše in so se jajca posledično tudi počasneje kvarila, kakor meseca aprila, ko je bilo vreme že precej toplo. Vidimo, da se je od pobiranja meseca marca skupno razlilo le 5 rumenjakov jajc, od pobiranja meseca aprila pa kar 21 rumenjakov jajc.

Preglednica 6: Prikaz jajc (po številkah), pri katerih se je ob razbitju razlil rumenjak pri različnih vzorcih (označeno z x)

VZOREC	Jajca, pri katerih se je razlil rumenjak						Število jajc	VSOTA
	1.	2.	3.	4.	5.	6.		
PIRA 2.3.						x	1	
PIRA 8.3.		x					1	2
N. AJDA 13.3.							0	
N. AJDA 18.3.						x	1	
N. AJDA 23.3.		x	x				2	3
T. AJDA 29.3.	x	x	x	x	x	x	6	
T. AJDA 1.4.			x				2	
T. AJDA 6.4.		x		x			2	10
PIRA 12.4.		x	x	x		x	4	
PIRA 16.4.			x	x			2	
PIRA 21.4.	x		x	x	x	x	5	11

V preglednici št. 7 iz rezultatov lahko vidimo, da imajo jajca kokoši krmljenih s piro nekoliko večje rumenjake, kot jajca kokoši krmljenih z navadno ajdo in tatarsko ajdo. Rezultat smo preverili še z analizo varianc in ugotovili, da ničelno domnevo o enakih povprečnih premerih glede na krmo zavrnamo ($p=0,0466$), rezultati so statistično značilni.

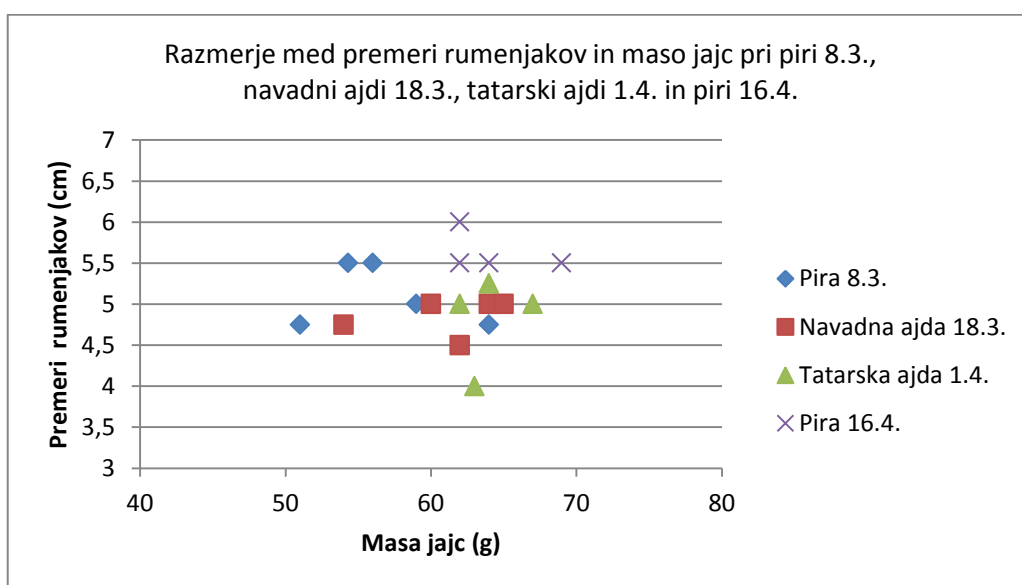
Ena od možnosti, da smo dobili takšen rezultat je ta, da obe ajdi vsebujeta dobro izkoristljive aminokislino (visoka biološka vrednost) in se tako posledično pri jajcu izgradi več beljaka, ki ga tvorijo predvsem beljakovine, katerih osnovni gradniki so aminokislino. Manj snovi se v tem primeru porabi za izgradnjo rumenjaka in posledično imajo ta jajca manjše rumenjake. Obstaja tudi možnost, da kokoši raje jedo piro in posledično te pojedjo več, zato so jajca in njihovi rumenjaki v tem primeru nekoliko večji. Verjetno je, da okus

navadne in tatarske ajde kokošim ne ustreza najbolje (grenčine) in posledično te krme pojedjo manj, kar ima ponovno vpliv na velikost jajc in premere rumenjakov.

Preglednica 7: Vrednosti mase (g) in premerov rumenjakov (cm) jajc kokoši krmljenih s piro 8.3., navadno ajdo 18.3., tatarsko ajdo 1.4. in piro 16.4. (po 10 dneh krmljenja s posamezno krmo)

Številka jajca	PIRA 8.3.		N. AJDA 18.3.		T. AJDA 1.4.		PIRA 16.4.	
	masa (g)	premeri rum.* (cm)	masa (g)	premeri rum.* (cm)	masa (g)	premeri rum.* (cm)	masa (g)	premeri rum.* (cm)
1	59	5	64	5	67	5	62	5,5
2	53		60	5	64	5,5	64	5,5
3	64	4,7	54	4,7	61		61	
4	56	5,5	62	4,5	62	5	54	
5	51	4,7	65	5	63	4	69	5,5
6	54,3	5,5	56		60		62	6

Kjer je v preglednici prazno mesto, pomeni, da se je rumenjak razlil. *rum. –rumenjak



Slika 4: Razmerje med maso jajc (g) in premeri rumenjakov (cm) jajc kokoši krmljenih s piro 8.3., navadno ajdo 18.3., tatarsko ajdo 1.4. in piro 16.4 (po 10 dneh krmljenja s posamezno krmo)

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Z analiziranjem otrobov pira, navadne ajde in tatarske ajde smo ugotovili, da po vsebnosti antioksidantov otrobi tatarske ajde zelo odstopajo od otrobov navadne ajde in pira. Skupna vsebnost polifenolov v tatarski ajdi je kar 1,6-krat večja kot v navadni ajdi in kar 7,3-krat večja, kot v piri. Prav tako tatarska ajda prednjači po vsebnosti rutina in kvercetina. Količina rutina v tatarski ajdi znaša 8,67 mg/g suhe mase in presega količino rutina v navadni ajdi kar za 78,8-krat. V piri rutin ni bil ugotovljen, ker v njej ni prisoten. Količina kvercetina v tatarski ajdi je 0,49 mg/g suhe mase. V navadni ajdi kvercetin ni bil ugotovljen, saj je njegova količina pod mejo detekcije, pira pa kvercetina ne vsebuje. Tatarska ajda odstopa tudi po vsebnosti taninov oziroma ekvivalentov katehina. Teh vsebuje 15,9 mg/g suhe mase in presega vsebnost taninov oziroma ekvivalentov katehina v navadni ajdi kar za 4-krat. Najnižjo vsebnost taninov oziroma ekvivalentov katehina pa ima pira. Vsebnost taninov v tatarski ajdi je kar za 227-krat večja od vsebnosti taninov v piri. Skupna antioksidativna aktivnost je zaradi na sploh večje vsebnosti antioksidantov v tatarski ajdi, v teh otrobih največja, in znaša 87,23 % DPPH razbarvanja. Sledi ji navadna ajda z precej manjšo skupno antioksidativno aktivnostjo, ki je 11,71 % DPPH razbarvanja. Najmanjšo antioksidativno aktivnost pa ima pira (1,01 % DPPH razbarvanja).

Največ surovih beljakovin v suhi snovi vsebujejo otrobi navadne ajde, sledi ji tatarska ajda, najmanj surovih beljakovin pa je v otrobih pira. Bonafaccia in sodelavci (2003) navajajo, da imajo proteini ajde visoko biološko vrednost, vendar je prebavljivost teh proteinov v resnici nizka. To pomeni, da v telesu delujejo kot vlaknine. Izdelki iz proteinov ajde pomagajo zavirati razvoj žolčnih kamnov, zmanjšujejo pojavnost raka na prsih pri ženskah, saj znižujejo nivo hormona estradiola, zavirajo pa tudi razvoj raka debelega črevesa.

Vsebnost pepela v suhi snovi je pri obeh ajdah skoraj enaka. Nekoliko manj pepela pa ostane po žarjenju pira. To nakazuje na dejstvo, da pira vsebuje manj anorganske snovi (minerali), kot navadna in tatarska ajda.

Pri vsebnosti antioksidantov v rumenjkih jajc kokoši, ki smo jih krmili s tremi različnimi vrstami krme, otrobi pira, navadne ajde in tatarske ajde, se kljub dokazanim razlikam o vsebnosti antioksidantov v krmi, razlike v vsebnosti antioksidantov v jajcih niso pokazale. K temu je lahko botrovalo več dejavnikov, predvsem poraba in presnovni procesi antioksidantov v organizmu kokoši.

Pri preverjanju svežosti jajc z metodo potapljanja jajc smo ugotovili, da pri starosti 83 dni v navadni vodi potonejo 3 jajca od 18 pri krmi tatarske ajde, 2 jajci od 18 pri krmi navadne ajde in 1 jajce pri krmi pira. Pri starosti 78 dni pa v navadni vodi pri krmi navadne ajde potonejo 3 jajca od 18, pri krmi tatarske ajde 6 jajc od 18 in pri krmi pira 3 jajca od 18.

Podobno je bilo ugotovljeno tudi pri potapljanju jajc v vodi s 3 % dodane soli. Pri starosti 83 dni pri krmi tatarske ajde še vedno potone eno jajce od 18 jajc, po 78 dneh pri krmi tatarske ajde pa potoneta še 2 jajci od 18, medtem ko pri ostalih dveh krmah vsa jajca splavajo na površje pri starosti 78 in 83 dni. Rezultat nakazuje, da jajca kokoši, ki smo jim krmili otrobe tatarske ajde res daljši čas ostanejo sveža, vendar so razlike v številu jajc, ki potonejo med različnimi krmami tako majhne, da nam ne povedo dosti o dejanski svežosti jajc glede na krmo.

Tudi iz rezultata potapljanja jajc v vodi s 3% deležem soli je razvidno, da jajca kokoši krmljenih s tatarsko ajdo najdlje ostanejo sveža, saj tudi v tem primeru potone največ jajc kokoši krmljenih s to vrsto otrobov. Pri 83 dneh starosti jajc pri krmi tatarske ajde še vedno potone eno jajce od 18 jajc, med tem ko pri ostalih dveh krmah vsa jajca splavajo na površje. Prav tako, po 78 dneh pri krmi tatarske ajde potoneta še 2 jajci od 18, pri ostalih dveh krmah pa ne potone več nobeno jajce, kar pomeni, da ta jajca niso ohranila svežosti.

Bajt in sodelavci (1997) so ocenjevali svežost jajc na podoben način, tako da so nekatera jajca potopili v vodo z dodanimi 3 % soli, v vodo z dodanimi 6 % soli in vodo z dodanimi 10 % soli in dobili rezultate, da popolnoma sveže jajce potone v vodi z 10 % deležem soli. Pet do šest tednov staro jajce tone v vodi s 6 % deležem soli in plava v vodi z 10 % deležem soli. Več kot šest tednov staro jajce plava v vodi s 6 % soli in tone v vodi s 3 % soli. Pokvarjeno jajce pa plava v vodi s 3 % deležem soli.

S spremljanjem ohranjanja svežosti jajc kokoši krmljenih z različnimi otrobi, na podlagi razlivanja rumenjakov smo ugotovili, da na razlivanje rumenjakov nima bistvenega vpliva krma sama, ampak se tu močno izraža časovni trend, ki je pogojen s temperaturo v okolju. Rumenjaki jajc pobranih meseca marca so se ob razbitju manj razlivali, kot tisti pobrani meseca aprila.

Pri spremljanju mase jajc in premerov rumenjakov glede na določeno krmo, ki smo jo krmili kokošim smo ugotovili, da je masa jajc kokoši krmljenih s piro nekoliko večja od mase jajc kokoši krmljenih s krmo navadne in tatarske ajde, nekoliko večji pa so tudi premeri rumenjakov. To bi lahko bilo povezano z ješčnostjo kokoši, kjer sklepamo, da so kokoši lahko jedle krmo pira raje kot krmo obeh vrst ajde. Vendar je na ta rezultat težko sklepati, ker ne poznamo dovolj dobro stanja, starosti in ješčnosti ter genetskih lastnosti kokoši, vse skupaj vpliva na maso jajc in premere rumenjakov, kot navaja Kolar (2007) v svoji diplomski nalogi.

5.2 SKLEPI

Iz rezultatov poskusa lahko sklepamo, da otrobi tatarske ajde po vsebnosti antioksidantov (polifenolov, rutina, kvercetina, taninov oziroma ekvivalentov katehina ter skupni antioksidativni aktivnosti) res odstopajo od otrobov navadne ajde in sploh otrobov pire. Ugotovili smo tudi, da je delež surovih beljakovin večji v otrobih navadne ajde, kot v otrobih tatarske ajde in pire. Vsebnost pepela pa je skoraj identična v obeh vrstah otrobov ajde in manjša v otrobih pire.

Pri ugotavljanju vsebnosti antioksidantov v jajcih kokoši krmljenih s tremi vrstami krme (otrobi pire, navadne ajde in tatarske ajde) smo ugotovili, da krma nima bistvenega vpliva na vsebnost antioksidantov v jajcih, in da je verjetno pogojena s potekom presnove le teh v kokoših samih.

Otrobi imajo določen vpliv na hitrost staranja jajc, saj smo ugotovili, da jajca kokoši, ki smo jim krmili otrobe tatarske ajde dalj časa ostanejo sveža kot jajca kokoši, ki so uživale otrobe pire in navadne ajde. Vendar konkretnih zaključkov o dejanskem vplivu otrobov na ohranjanje svežosti ne moremo dati, saj so bile razlike med jajci, ki so ostala sveža med posameznimi otrobi premajhne in so bile lahko zgolj posledica naključja.

Na razlivanje rumenjakov jajc kokoši krmljenih z različnimi otrobi, otrobi sami po sebi niso imeli bistvenega vpliva. Lahko pa sklepamo, da so se jajca, ki so bila izpostavljena višjim temperaturam okolja (v mesecu aprilu) hitreje kvarila od jajc, ki smo jih pobirali v mesecu marcu, ko so bile temperature v okolju nižje in posledično so se rumenjaki jajc pobranih v mesecu aprilu hitreje razlivali kot rumenjaki jajc pobranih v mesecu marcu.

Ugotovili smo tudi, da so imela jajca kokoši krmljenih z otrobi pire nekoliko večjo maso in tudi premere rumenjakov, kot jajca kokoši krmljenih z otrobi tatarske in navadne ajde. Posledica tega pa je lahko sama ješčnost kokoši, ki jim je morda zaradi okusa bolj ustrezala krma pire in presnova različne krme v organizmu kokoši. Za natančnejši zaključek, bi morali v poskus vključiti tudi preučevanje kokoši in vpliv presnavljanja posamezne krme na njih samih. Do sedaj pa moramo dopuščati možnost, da so večja jajca pri kokoših krmljenih z otrobi pire zgolj naključje.

Dokazali smo torej, da tatarska ajda prednjači v vsebnosti antioksidantov. Da so določene razlike med vsebnostjo posameznih snovi v otrobih tatarske ajde, navadne ajde in pire. Da obe vrsti ajde kljub razlikam med njima močno odstopata po vsebnosti vseh preučevanih snovi od pire. Ugotovili pa smo tudi, da pri krmljenju kokoši s temi tremi vrstami otrobov nismo dosegli značilnih razlik v vsebnosti antioksidantov, da krma pravzaprav nima vpliva na pokvarljivost jajc, in da ima majhen vpliv na povečanje mase jajc in premerov rumenjakov, če kokošim krmimo otrobe pire.

6 POVZETEK

Antioksidanti so snovi, ki ugodno vplivajo na naše zdravje. To so snovi, ki nam pomagajo ohranjati mladost in vitalnost ter preprečujejo nastanek nekaterih bolezni, med njimi tudi degenerativnih, kot je rak. Ker smo danes ljudje vse bolj izpostavljeni stresu in neredni ter nekakovostni prehrani, je zelo pomembno vedeti, na kakšen način in s kakšno prehrano telesu zagotoviti zadostne količine antioksidantov.

Pira, navadna ajda in tatarska ajda so rastline, ki se zaradi večje ozaveščenosti ljudi o zdravem načinu prehranjevanja ponovno vračajo na naše krožnike. So bogat vir zdravih in hranljivih snovi, ki so pomembne za ohranjanje in izboljšanje našega zdravja. Ker jih lahko uporabljamo tudi kot krmo, smo želeli njihove pozitivne lastnosti razširiti tudi na kokoši in predvsem jajca teh kokoši, ki jih uporabljamo za prehrano.

V poskusu smo preučevali lastnosti otrobov zrnja pira, navadne ajde in tatarske ajde, ki smo jih krmili kokošim. Ugotavljali smo koliko polifenolov, rutina, kvercetina, taninov oziroma ekvivalentov katehina vsebuje zrnje pira, navadne ajde in tatarske ajde, ter kakšno antioksidativno aktivnost imajo posamezni otrobi. Določili smo tudi vsebnost surovih beljakovin in pepela v vseh treh krmah. Preučevali smo tudi ali se bodo razlike v vsebnosti antioksidantov pokazale tudi v jajcih kokoši, ki smo jim krmili te tri vrste krme, in ali bodo ta jajca zaradi pozitivnih učinkov otrobov morda daljši čas ohranila svežost. Ugotavljali smo tudi, če in kakšen vpliv bodo imeli otrobi na velikost samih jajc. Jajca za ugotavljanje teh lastnosti smo pobirali od začetka meseca marca (2.3.2011), ko smo pobrali prva jajca, pa do konca meseca aprila (21.4.2011), ko smo pobrali zadnja jajca. Jajca smo pobirali na vsakih pet dni, vedno smo pobrali po 11 jajc. Pet jajc smo namenili analizi vsebnosti antioksidantov, šest jajc pa ugotavljanju vpliva krme na staranje jajc. V času od začetka marca pa do konca aprila smo kokoši zaporedno krmili z vsemi tremi vrstami krme. Prvih 10 dni smo jim krmili z otrobi pira, potem je sledilo 15 dnevno krmljenje z otrobi navadne ajde, temu je sledilo 15 dnevno krmljenje z otrobi tatarske ajde in na koncu ponovno 15 dnevno krmljenje z otrobi pira. Krmo za analizo antioksidantov, beljakovin in pepela smo s kmetije vzeli sproti, ob začetku krmljenja kokoši s posamezno vrsto krme.

Rezultati so pokazali, da otrobi tatarske ajde po vsebnosti antioksidantov močno odstopajo od otrobov navadne ajde in pira. Največ surovih beljakovin najdemo v otrobih navadne ajde, malo manj v otrobih tatarske ajde in najmanj v otrobih pira. Po vsebnosti pepela (mineralnih snovi) v suhi snovi so otrobi tatarske ajde in navadne ajde primerljivi, manj pepela pa vsebujejo otrobi pira. Izkazalo se je tudi, da krma nima bistvenega vpliva na vsebnost antioksidantov v jajcih kokoši, saj bistvenih razlik med vsebnostjo antioksidantov, ne glede na vrsto otrobov, ki so jo uživale kokoši, ni bilo. Pri ohranjanju svežosti jajc smo ugotovili, da najdaljši čas ostanejo sveža jajca kokoši, ki smo jim krmili otrobe tatarske ajde. V tem primeru je število jajc, ki so po določenem številu dni (73, 78, 83) še ostala sveža največje.

Največjo maso in premere rumenjakov so dosegala jajca, pri katerih smo kokošim krmili otrobe pire. Jajca, kjer smo krmili otrobe navadne in tatarske ajde so bila lažja in so imela manjše rumenjake.

7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu, 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, oddelek za živilstvo: 23-32
- Bajt N., Škerlavaj Golec S., Štrumbelj Drusany I. 1997. Meso in mesni izdelki, ribe, jajca. Ljubljana, Zavod Republike Slovenije za šolstvo: 114 str.
- Bonafaccia G., Fabjan N. 2003. Nutritional comparison of Tartary buckwheat with common buckwheat and minor cereals. Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, kmetijstvo, 81: 349-355
- Bonafaccia G., Marocchini M., Kreft I. 2003. Composition and technological properties of the flour and bran from common and Tartary buckwheat. Food Chemistry, 80: 9-15
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 28:25-30
- Buckwheat: a casualty of American agriculture
[http://www.honeybeesuite.com/buckwheat-a-casualty-of-american-agriculture/\(25.5.2012\)](http://www.honeybeesuite.com/buckwheat-a-casualty-of-american-agriculture/(25.5.2012))
- Fabjan N. 2007. Zel in zrnje tatarske ajde kot vir flavonoidov. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo: 208 str.
- Fabjan N., Rode J., Košir I. J., Wang Z., Zhang Z., Kreft I. 2003. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 6452-6455
- Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. Tartary buckwheat.
<http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=FATA> (25.5.2012)
- Gadžo D., Djikič M., Gavrić T., Štrekelj P. 2010. Comparison of tannin concentration in young plants of common and Tartary buckwheat. Acta agriculturae Slovenica, 95: 75-78
- Ikeda S., Tomura K., Lin R., Kreft I. 2004. Nutritional characteristics of minerals in Tartary buckwheat. Fagopyrum, 21:79-84
- Higienska stališča za higieno živil, namenjena delavcem v živilski dejavnosti/2. stopnja. Ljubljana, Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije in območni zavodi za zdravstveno varstvo: 58 str.
- Kocjan Ačko D. 1999. Pozabljene poljščine. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 187 str.

- Kolar Š. 2007. Pregled in analiza rezultatov proučevanja nekaterih lastnosti kakovosti jajc v Sloveniji. Diplomsko naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za zootehniko: 48 str.
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu, 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, oddelek za živilstvo: 11-21
- Kreft I. 1995. Ajda. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 112 str.
- Kreft I. 2011. Tatarska ajda (*Fagopyrum tataricum*). Acta agriculturae Slovenica, 97: potiskan ovitek: 4 str.
- Kreft I., Škrabanja V., Bonafaccia G. 2000. Temelji prehranskih in biotskih vplivov antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvu, 20. Bitenčevi živilski dnevi 2000. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, oddelek za živilstvo: 33-37
- Luthar Z. 1992. Tanin v semenih navadne in tatarske ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench. in *Fagopyrum tataricum* Gaertn.). Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, 59: 55-62
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakar Journal of Science and Technology, 26: 211-219
- Pravilnik o metodah jemanja vzorcev in metodah fizikalnih in kemičnih analiz za kontrolo kakovosti žit, mlevskih in pekarskih izdelkov, testenin in hitro zmrznjenega testa. 1988. Ur. l. SFRJ 74/1988
- Sadar V. 1949. Naše žito. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 243 str.
- Semena poljščin: opis semen poljščin, fotografije
- http://www.google.si/imgres?um=1&hl=sl&biw=1400&bih=853&tbm=isch&tbnid=P_qDdOVpuyjjzM:&imgrefurl=http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2719/semena_polj%25C5%25A1%25C4%258Din.htm&docid=nEDzfDIcz2eTRM&imgurl=http://stari.bf.uni-lj.si/poljedelstvo/semena/pira.jpg&w=2048&h=1536&ei=bwmxT_-tE47jtQaZg7WzBg&zoom=1&iact=hc&vpx=847&vpy=163&dur=4922&hovh=194&hovw=259&tx=137&ty=103&sig=101148767224286943974&page=1&tbnh=165&tbnw=227&start=0&ndsp=28&ved=1t:429,r:4,s:0,i:73 (25.5. 2012)
- Vombergar B. 2010. Rutin v frakcijah zrn navadne ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench) in tatarske ajde (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.). Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo: 147 str.

Wieslander G., Fabjan N., Vogrinčič M., Kreft I., Janson C., Spetz-Nystrom U., Vombergar B., Tagesson C., Leanderson P., Norback D. 2011. Eating cookies is associated with the reduction in serum levels of myeloperoxidase and cholesterol: A double blind crossover study in day-care centre staffs. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 225: 123-130

ZAHVALA

Za strokovne nasvete, pomoč in razumevanje se zahvaljujem mentorju akademiku prof. dr. Ivanu Kreftu in sodelavcem Katedre za farmacevtsko biologijo na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani. Za strokovne nasvete in mnenje pri nastajanju te naloge se zahvaljujem tudi predsednici komisije izr. prof. dr. Marijani Jakše in recenzentu izr. prof. dr. Robertu Veberiču.

Za vsestransko pomoč in oporo tekom študija se zahvaljujem svoji družini.