

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Bernard VEHOVEC

**ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA NEKATERIH
KRMIL**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Bernard VEHOVEC

ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA NEKATERIH KRMIL

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

ANTIOXIDANT CAPACITY OF SELECTED FEEDS

GRADUATION THESIS
Higher professional studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega študija kmetijstvo-zootehnika. Delo je bilo opravljeno v kemijskem laboratoriju na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorico imenovala doc. dr. Vido Rezar in za somentorico as. dr. Alenko Levart.

Recenzent: prof. dr. Janez Salobir

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Silvester ŽGUR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: doc. dr. Vida REZAR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: as. dr. Alenka LEVART

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Janez SALOBIR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Diplomska naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Bernard VEHOVEC

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Vs
- DK UDK 636.084/.087(043.2)=163.6
- KG živinoreja/prehrana živali/krmila/oksidacijski stres/antioksidanti/
antioksidativna kapaciteta
- KK AGRIS L51
- AK VEHOVEC, Bernard
- SA REZAR, Vida (mentorica)/LEVART, Alenka (somentorica)
- KZ SI-1230 Domžale, Groblje 3
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- LI 2011
- IN ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA NEKATERIH KRMIL
- TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
- OP IX, 34 str. 14 pregl., 12 sl., 28 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Antioksidanti v krmilih imajo pomembno vlogo pri zaščiti organizma pred prostimi radikali, ki lahko povzročijo oksidacijski stres, kot tudi pri zaščiti krmil med skladiščenjem. Antioksidativna kapaciteta je skupno ime za v vodi in v maščobi topne antioksidante, kot so vitamin C in E, karotenoidi in polifenoli. V diplomski nalogi smo z Weendsko analizo določili vsebnost hranljivih snovi v ječmenu in pšenici, da bi ugotovili ali način kmetovanja ter območje pridelanega žita vplivata na vsebnosti hranljivih snovi. Z aparatom Photochem smo izmerili tudi antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov nekaterim žitom, krmilom in krmnim mešanici, ki se uporabljajo za prehrano živali. Pri tem smo želeli ugotoviti ali se zaradi načina pridelave in območja rasti pri ječmenu in pšenici spreminja antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov. Pri analizi krmnih mešanic smo ugotavljali ali postopek obdelave vpliva na antioksidativno kapaciteto. Ugotovili smo, da se vzorci ječmena in pšenice razlikujejo glede vsebnost hranljivih snovi in antioksidativne kapacitete. Da bi dokazali vpliv rastišča in način pridelave, bi bile potrebne večletne raziskave, ki bi zajemale bolj podrobne podatke o samih vzorcih (podatki o rastišču, gnojenju, kolobarjenju, načinu pridelave, skladiščenju...). Pri analizi krmnih mešanic smo ugotovili, da se po postopku peletiranja antioksidativna kapaciteta v vodi topnih antioksidantov zmanjša, antioksidativna kapaciteta v maščobi topnih antioksidantov, pa se pri večini preučevanih krmnih mešanic poveča.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Vs
- DC UDC 636.084/.087(043.2)=163.6
- CX animal production/animal nutrition/feed/oxidative stress/antioxidants/antioxidant capacity
- CC AGRIS L51
- AU VEHOVEC, Bernard
- AA REZAR, Vida (supervisor)/LEVART, Alenka (co-supervisor)
- PP SI-1230 Domžale, Groblje 3
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science
- PY 2011
- TI ANTIOXIDANT CAPACITY OF SELECTED FEEDS
- DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
- NO IX, 34 p. 14 tab., 12 fig., 28 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Antioxidants in the feeds play an important role in the protection of organism against free radicals that can cause oxidative stress, as well as in the protection of feeds during storage. Antioxidant capacity is the common name for antioxidant agents soluble in water and fat, such as vitamins C and E, carotenoids and polyphenols. In this graduation thesis we used the Proximate analysis to determine the content of nutrients in barley and wheat in order to examine whether the farming practices and the area of the crop products influence the contents of nutrients. We also measured the antioxidant capacity of water and fat soluble antioxidants (ACW, ACL, Photochem) on certain grains, feeds and compound feeding stuffs used for animal nutrition. In doing so, we wanted to determine whether the method of production and if the location of barley and wheat fields change the antioxidant capacity of water and fat soluble antioxidants. In analysing the compound feeding stuffs we examined if the treatment process affects the antioxidant capacity. The content of nutrients and antioxidative capacity in barley and wheat samples differed. In order to demonstrate the impact of the growing area and the method of production (information on the growing area, fertilization, crop rotation, mode of production, storage...) further studies would be necessary. In analysing the compound feedstuffs we found out that after the pelleting process the antioxidant capacity of water soluble antioxidants was reduced, while antioxidant capacity of fat soluble antioxidants in most feedstuffs was increased.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Okrajšave in simboli	IX
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 PROSTI RADIKALI IN OKSIDACIJSKI STRES	2
2.2 ANTIOKSIDANTI	3
2.3 OPIS ANTIOKSIDANTOV	4
2.3.1 Askorbinska kislina (vitamin C)	4
2.3.2 Vitamin E	4
2.3.3 Polifenoli	4
2.3.4 Folati (vitamin B ₉)	6
2.4 ŽITA IN ANTIOKSIDANTI	7
2.4.1 Pšenica	7
2.4.2 Koruza	7
2.4.3 Oves	8
2.4.4 Ječmen	8
2.5 NAČINI KMETIJSKE PRIDELAVE	8
2.5.1 Ekološko kmetovanje	8
2.5.2 Integrirano kmetovanje	9
2.5.3 Konvencionalno kmetovanje	9
2.6 MERJENJE ANTIOKSIDATIVNE KAPACITETE ŽIT IN KRMIL	9
3 MATERIAL IN METODE	11

3.1	MATERIAL	11
3.1.1	Vzorci za Weendsko analizo in za merjenje antioksidativne kapacitete	11
3.1.2	Opis vzorcev žit in krmil, v katerih smo določili antioksidativno kapaciteto	12
3.2	METODE	14
3.2.1	Weendska analiza	14
3.2.2	Določitev antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov – metoda ACW	15
3.2.3	Določitev v maščobi topnih antioksidantov – metoda ACL	17
4	REZULTATI	20
4.1	WEENDSKA ANALIZA	20
4.2	ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA	22
4.2.1	Antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v ječmenu in pšenici	22
4.2.2	Antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v žitih iz ekološke pridelave	25
4.2.3	Antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v posamičnih krmilih in krmnih mešanicah	26
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	29
5.1	RAZPRAVA	29
5.2	SKLEPI	32
6	POVZETEK	33
7	VIRI	34
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Količina vitamina B ₉ v nekaterih žitih in v posameznih delih zrnja (Fardet in sod., 2008).	6
Preglednica 2: Opis vzorcev ječmena, v katerih smo določili hranljivo vrednost in antioksidativno kapaciteto	11
Preglednica 3: Opis vzorcev pšenice, v katerih smo določili hranljivo vrednost in antioksidativno kapaciteto	12
Preglednica 4: Osnovni podatki o ekološko pridelanih žitih	13
Preglednica 5: Vzorci krmil in krmnih mešanic, odvzetih v mešalnici močnih krmil	13
Preglednica 6: Osnovni podatki o krmnih mešanicah in postopku obdelave	14
Preglednica 7: Shema pipetiranja pri določanju antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov, metoda ACW (volumni so v µl)	17
Preglednica 8: Shema pipetiranja pri določanju v maščobi topnih antioksidantov, metoda ACL (volumni so v µl)	18
Preglednica 9: Statistični parametri za vsebnost hranljivih snovi za ječmen	21
Preglednica 10: Statistični parametri za vsebnost hranljivih snovi za pšenico	22
Preglednica 11: Statistični parametri za antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov v žitih iz ekološke pridelave	25
Preglednica 12: Statistični parametri za antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov v žitih iz ekološke pridelave	26
Preglednica 13: Primerjava antioksidativne kapacitete v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v vzorcih krmil in krmnih mešanic, odvzetih v mešalnici močnih krmil	27
Preglednica 14: Antioksidativna kapaciteta v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v krmnih mešanicah pred in po obdelavi	28

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Prosti radikali in poškodbe celičnih struktur (Korošec, 2000)	2
Slika 2: Strukturna formula vitamina C (Belitz in Grosch, 1999)	4
Slika 3: Strukturna formula flavonoidov (Fuhrman in Aviram, 2002)	5
Slika 4: Razdelitev polifenolov (Rijken in sod., 2002)	6
Slika 5: Shematski prikaz priprave vzorca za določitev antioksidativne kapacitete v vodi	16
Slika 6: Aparat Photochem, avtomatske pipete in pripravljene reagenti, ki jih potrebujemo za določitev antioksidativne kapacitete	16
Slika 7: Shematski prikaz priprave vzorca za določanje antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov (metoda ACL)	18
Slika 8: Aparat Photochem	19
Slika 9: Vsebnost hranljivih snovi pri ječmenu	20
Slika 10: Vsebnost hranljivih snovi pri pšenici	21
Slika 11: Antioksidativna kapaciteta v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v ječmenu, glede na lokacijo in način pridelave	23
Slika 12: Antioksidativna kapaciteta v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v pšenici glede na lokacijo in način pridelave	24

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ACL	v maščobi topni antioksidanti
ACW	v vodi topni antioksidanti
AOK	antioksidativna kapaciteta
BDI	brezdušični izvleček
Eko.	ekološko
ekv.	ekvivalent
Inte.	integrirano
Konv.	konvencionalno
SB	surove beljakovine
SM	surove maščobe
SP	surovi pepel
SS	suha snov
SV	surove vlaknine

1 UVOD

Človeške in živalske celice so neprestano izpostavljene prostim radikalom, ki povzročajo oksidacijski stres. Prosti radikali so nestabilne in reaktivne oblike atomov, molekul in ionov, ki imajo vsak en neparen elektron (Frankič in Salobir, 2007). Organizem je proti tem procesom razvil snovi oz. molekule, ki imajo sposobnost, da se oksidirajo namesto drugih snovi – imenujemo jih antioksidanti. To so naravne ali sintetične snovi, ki imajo sposobnost, da preprečujejo ali zavirajo nezaželene oksidativne spremembe v živem organizmu in v živilih (Salobir, 2000). O oksidacijskem stresu pri živalih se danes zelo malo govori. Kako pomembno vpliva prehrana na oksidacijski stres pri živalih, je potrdila študija o vplivu dodatkov različnih virov vlaknin v obrok z velikim deležem maščob na oksidacijski stres pri prašičih. Ugotovili so, da dodatek prehranskih vlaknin učinkovito zmanjša oksidacijski stres, povzročen s prekomernim vnosom maščob (Rezar, 2003). Iz raziskave je razvidno, da tudi živali potrebujejo vse potrebne hranljive snovi in tudi antioksidante za zaščito pred oksidacijskim stresom. Antioksidativna kapaciteta je posledica skupnega delovanja različnih antioksidantov, kot so vitamin C in E, karotenoidi in fenoli.

Žita in krmila vsebujejo visoke koncentracije antioksidantov. Na njihovo količino vpliva jo predvsem vrsta žita, sorta, okoljski pogoji (temperaturni stres, sončno sevanje, količina padavin) in postopki obdelave oz. predelave posameznih krmil (Fardet in sod., 2008).

Cilj naloge je določiti vsebnost hranljivih snovi (surove beljakovine, surove maščobe, surov pepel, surovo vlaknino in brezdušični izvleček) v vzorcih ječmena in pšenice, ki smo jih pridobili na različnih območjih Slovenije, na različnih rastiščih in so bili pridelani na različne načine (konvencionalno, integrirano in ekološko). Pri tem smo želeli ugotoviti, ali ti dejavniki vplivajo na vsebnost hranljivih snovi.

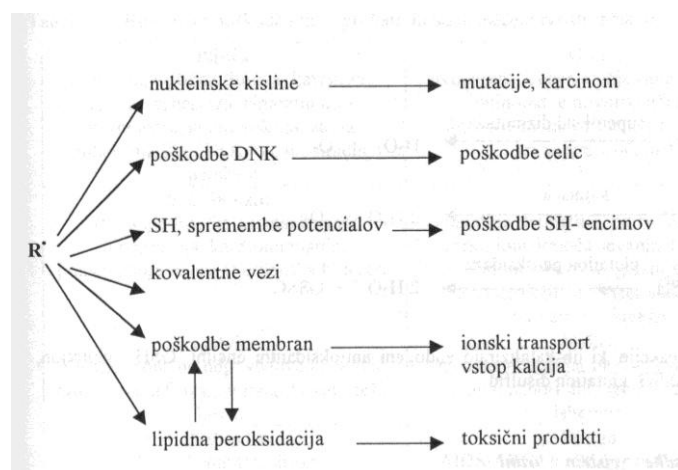
Drugi cilj naloge je določitev antioksidativne kapacitete v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v zbranih vzorcih z aparatom Photochem. Ugotoviti želimo, ali različni načini pridelave in različna območja rasti pri ječmenu in pšenici vplivajo na antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov. Pri krmnih mešanicah smo želeli ugotoviti, ali različni postopki obdelave (peletiranje in toplotna obdelava) vplivajo na antioksidativno kapaciteto.

Z nalogo želimo potrditi, da način pridelave in rastišča na različnih območjih Slovenije vplivajo na vsebnost hranljivih snovi in na antioksidativno kapaciteto v ječmenu in pšenici in da toplotna obdelava krmil in peletiranje vplivata na antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v krmnih mešanicah.

2 PREGLED OBJAV

2.1 PROSTI RADIKALI IN OKSIDACIJSKI STRES

Prosti radikali so definirani kot nestabilni in zelo reaktivni atomi, molekule ali ioni z vsaj enim neparnim elektronom. Ti poškodujejo celične strukture, nukleinske kisline in gene ter igrajo pomembno vlogo pri staranju, degenerativnih boleznih, raku, kardiovaskularnih boleznih itd. Nastanejo kot rezultat normalne celične presnove in kot posledica dejavnikov okolja (UV in gama žarkov, toplote, cigaretne dima, onesnaženega okolja). Tvorbo prostih radikalov lahko povzročijo tudi nekatera zdravila in snovi, kot so aflatoksini, alkohol, analgetiki, anestetiki, citostatiki itd. (Korošec, 2000; Frankič in Salobir, 2007). Nastanek prostih radikalov ni vedno negativen ali slučajen proces, saj jih organizem proizvaja tudi za zaščito pred mikroorganizmi, njihova pomembnost pa se odraža tudi pri regulaciji apoptoze in pri procesih celičnega signaliziranja (Frankič in Salobir, 2007).



Slika 1: Prosti radikali in poškodbe celičnih struktur (Korošec, 2000)

Med aerobnim intracelularnim metabolizmom celice se porablja veliko molekularnega kisika, ki se reducira do H_2O . Ta redukcija poteka v mitohondrijih, kjer citokrom oksidaza prenaša štiri elektrone kisika, kar vodi v nastanek reaktivnih kisikovih spojin. Te spojine imenujemo prosti radikali in so zelo reaktivni. To pomeni, da imajo majhno kemijsko specifičnost, zato lahko reagirajo z večino molekul (s proteini, lipidi, ogljikovimi hidrati in DNK). Kadar radikal reagira z neradikalom, nastane nov prosti radikal, ki reagira naprej v verižni reakciji. Pri reakciji radikalov so možni trije načini (Batič in Raspor, 2000; Cigić in Rudan Tasič, 2006):

- a) pritegnitev protona iz neke druge spojine,
- b) adicija na dvojno vez,
- c) reakcija dveh radikalov.

Antioksidanti so pomembni za pretvorbo prostih radikalov v stabilne spojine oziroma da preprečijo njihov nastanek. Nastale proste radikale antioksidanti zadržujejo in preprečujejo vstop v verižne reakcije. To povzroči zaviranje oksidacijskih verižnih reakcij, ne da bi se antioksidanti vključili vanje. S tem ko antioksidanti preprečujejo dostopnost prostih radikalov, preprečijo tudi oksidacijo biološko pomembnih molekul v organizmu – lipidov, beljakovin in nukleinskih kislin (Frankič in Salobir, 2007).

Če se število prostih radikalov v organizmu stalno povečuje, se (navidezno) ravnotežje med prostimi radikali in antioksidanti poruši, kar privede do oksidativnega stresa. Ravnotežje se lahko poruši zaradi različnih dejavnikov, kot so: večja vsebnost večkrat nenasičenih maščobnih kislin v krmnem obroku, prisotnost toksinov, kovinskih ionov v krmi, infekcije itd. Kadar gre porušeno ravnotežje v korist oksidantov, moramo v krmo dodajati antioksidante, da zaščitimo živali in tudi živalske proizvode (ohranitev njihove prehranske vrednosti in okusnosti) pred oksidacijo (Frankič in Salobir, 2007).

2.2 ANTIOKSIDANTI

Po izvoru delimo antioksidante na naravne in umetne (sintetične). Med naravne oksidante prištevamo vitamine A, C, E, flavonoide, karotenoide, polifenole. K sintetičnim antioksidantom pa prištevamo BHT (butiliran hidroksitoluen), BHA (butiliran hidroksianizol), TBHQ (terciarni butilhidrokinon) in propil galat (PG) (Belitz in Grosch, 1999).

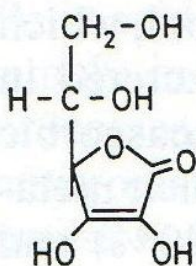
Naravne antioksidante sintetizirajo mikroorganizmi ali rastline. Prednost naravnih antioksidantov je, da jih potrošniki lažje sprejmejo, saj verjamejo v kakovost naravnega proizvoda. Druga prednost pa je, da ni zahtev po dodatnih testiranjih, saj jih uvrščamo v kategorijo varnih proizvodov. Pomanjkljivosti antioksidantov se odražajo v ceni (očiščeni so dražji), funkcionalnosti (neočiščeni so manj aktivni) in uporabi (Raspor in sod., 2000). Po navedbah Rasporja in sod. (2000) lahko uporabljeni antioksidant spremeni značilen okus in barvo proizvoda ali pa se po njegovi uporabi okus proizvoda izgubi.

Glede na topnost lahko antioksidante razdelimo v dve skupini: v vodi topni ali hidrofilni antioksidanti in antioksidanti, ki so topni v maščobi ali lipofilni antioksidanti. Med v vodi topne antioksidante uvrščamo askorbinsko kislino (vitamin C) in flavonoide, tokoferol (vitamin E) in karotenoide pa prištevamo k antioksidantom topnim v maščobi (Raspor in sod., 2000).

2.3 OPIS ANTIOKSIDANTOV

2.3.1 Askorbinska kislina (vitamin C)

Vitamin C je v vodi topen vitamin, ki ga imenujemo tudi askorbinska kislina. Njegova naloga v telesu je, da reducira in preprečuje oksidacijo kateholaminov v sredici nadledvične žleze in maščobno oksidacijo holesterola LDL (low density lipoproteins) (Korošec, 2000). Poleg tega pa vitamin C, v presnovi skupaj z vitaminom E varuje celice pred oksidativnimi poškodbami, ki jih povzročajo prosti radikali (Orešnik in Kermauner, 2009).



Slika 2: Strukturna formula vitamina C (Belitz in Grosch, 1999)

2.3.2 Vitamin E

Vitamin E je topen v maščobi. Poznamo več izomer tokoferolov, najpomembnejše biološko aktivne so štiri izomere tokoferolov in štiri izomere tokotrienolov, ki jih označimo z grškimi črkami abecede. Najpomembnejši med njimi je alfa tokoferol (Mindell, 2000; Belitz in Grosch, 1999). Je močan antioksidant in v organizmu predstavlja prvo obrambno linijo pred peroksidacijo maščob. Peroksidacija maščob pomeni, da nenasičene maščobne kisline v tkivih oksidirajo in povzročijo nastanek prostih radikalov (Mühleib, 1999; Mindell, 1998). Vitamin E deluje kot lovilce prostih radikalov v celičnih membranah in preprečuje oksidacijo večkratnenasičenih lipidov, ki jih povzročajo oksidanti (hidroksilni radikali – OH) (Fardet in sod., 2008).

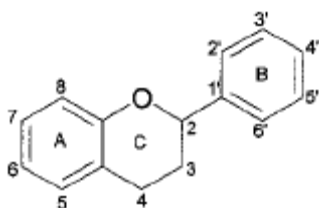
Raziskave vitamina E v *in vivo* okolju so pokazale, da zmanjšuje raven oksidacijskega stresa tako pri živalih kot pri ljudeh. Žita, ki so bogata z vitaminom E, so koruza, rž, pšenica, ječmen, oves, proso, sirek in ajda (Fardet in sod., 2008).

2.3.3 Polifenoli

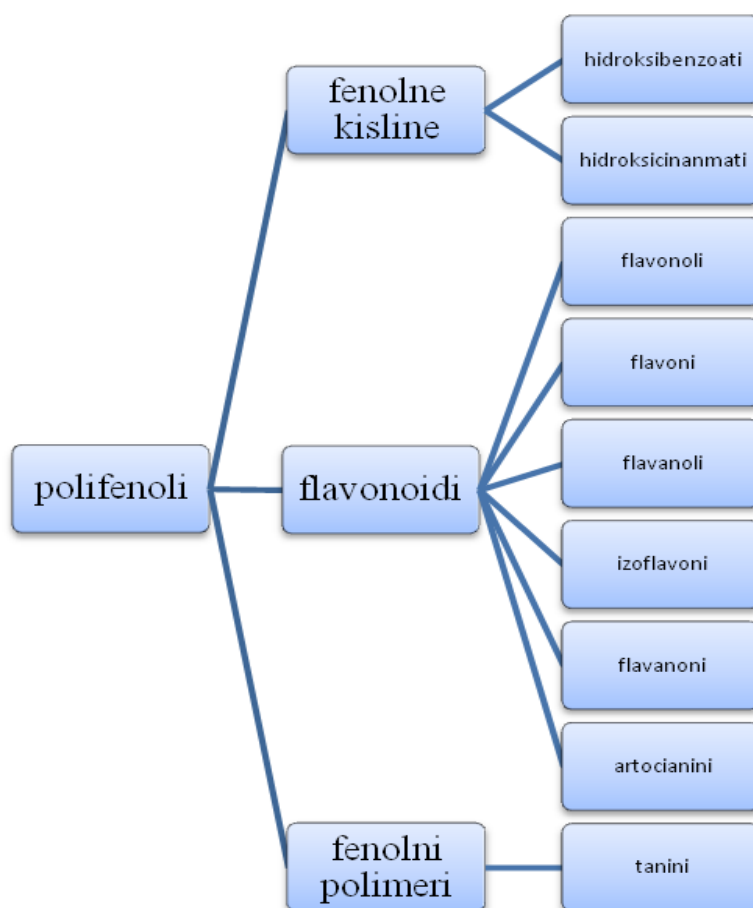
Fenolne spojine ali polifenoli so spojine z vsaj enim aromatskim obročem in z vsaj eno ali več hidroksilnimi skupinami (-OH), ki so direktno vezane na aromatski obroč (Abram, 2000).

Med polifenole prištevamo fenolno kislino, flavonoide in fenolne polimere (Slika 4). So sekundarni metaboliti rastlin, ki jih uvrščamo med v vodi topne antioksidante (Fuhrman in Aviram, 2002). Fenolne spojine imajo potencialno antioksidativne lastnosti zaradi aromatskega fenolnega obroča, ki lahko stabilizira in delokalizira neparni elektron v aromatskem obroču. Polifenoli delujejo v *in vivo* okolju kot lovilci prostih radikalov (Fardet in sod., 2008).

Flavonoidi (Slika 3) predstavljajo največjo in najbolj raziskano skupino rastlinskih fenolov. Poznanih je več kot 5000 različnih vrst. Pogosto so glikolizirani, kar pomeni, da imajo na aromatskem obroču vezano glukozo, galaktozo, arabinozo, ramnozo ali daljše monosaharide (Abram, 2000; Fardet in sod., 2008). Zaradi glikoliziranja so topni v vodi, zato se v celici nahajajo v vakuoli (Glavač in sod., 2007).



Slika 3: Strukturna formula flavonoidov (Fuhrman in Aviram, 2001)



Slika 4: Razdelitev polifenolov (Rijken in sod., 2002)

2.3.4 Folati (vitamin B₉)

Folati so pomembni antioksidanti, ki zmanjšajo koncentracijo homocisteina v plazmi. Hiperhomocisteinemija je nevarna za srce in ožilje zaradi prooksidativnega delovanja. Žita vsebujejo od 16 do 143 μg folatov, količina pa je odvisna od vrste žita. Koruza (110–170 $\mu\text{g}/100$ g zrna) in rž (143 $\mu\text{g}/100$ g zrna) sta dober vir folatov v primerjavi s pšenico (87 $\mu\text{g}/100$ g zrna), vendar pa najdemo večje količine vitamina B₉ v zunanem ovoju zrnja (otrobi, 195 $\mu\text{g}/100$ g zrna) in v pšeničnem kalčku (520 $\mu\text{g}/100$ g zrna) (Fardet in sod., 2008).

Preglednica 1: Količina vitamina B₉ v nekaterih žitih in v posameznih delih zrnja (Fardet in sod., 2008).

Vrsta žita	Količina vitamina B ₉ ($\mu\text{g}/100$ g)
Pšenica	87
Rž	143
Koruza	110–170
Otrobi	195
Pšenični kalčki	520

2.4 ŽITA IN ANTIOKSIDANTI

Žitno zrno je sestavljeno iz ovojnice, endosperma, in kalčka. Okoli endosperma in kalčka je zunanji ovoj, ki ščiti zrnje pred zunanjimi dejavniki (vremenom, insekti, plesnijo in bakterijami). Endosperm zagotavlja hrano za rastočo seme. Kalček je rastlinski zarodek. Okoli 50–75 % endosperma predstavlja škrob, ki je glavni vir energije za zarodek (embrio) v času kaljenja (Slavin, 2004).

Žita vsebujejo veliko količino prehranskih vlaknin, malo maščob, približno 10–15 % proteinov, visoko koncentracijo škroba in vitaminov (posebno vitamina B) ter so bogat vir mineralov (Slavin in sod., 1999).

Otrobi in kalčki, pridobljeni z navadnim mletjem, zagotavljajo večino biološko aktivnih spojin, ki jih najdemo v zrnju. Vsebujejo visoke koncentracije vitaminov B (tiamin, niacin, riboflavin in pantotenska kislina), mineralov (Ca, Mg, K, P, Na in Fe), aminokislin (lizin, arginin) in izomer vitamina E. V nekaterih delih razvitega sveta polnozrnata žita izpostavijo različnim postopkom predelave (mehanskemu, kemičnemu, toplotnemu), da dobijo zeleni proizvod. Raziskave, narejene na polnozrnatih žitih, ki so bila izpostavljena različnim postopkom obdelave, so pokazale, da se vsebnost biološko pomembnih komponent ne spremeni (Slavin, 2004).

2.4.1 Pšenica

Na antioksidativno kapaciteto pšenice vplivajo okoljski pogoji (kot so temperaturni stres, sončno sevanje in namakanje) ter interakcija med genotipom pšenice in okoljskimi pogoji. Ferulna, vanilinska in p-kumarična kislina, so znane kot proste fenolne kisline in so v pšenici v večjih količinah. Študija različnih vrst pšenice je pokazala, da ferulna kislina (99-231 $\mu\text{g/g}$) prevladuje nad ostalimi fenolnimi kislinami, saj zavzema delež med 46 in 67 % vseh fenolnih kislin v pšenici. Žito, obdelano na različne načine ima različno antioksidativno kapaciteto. Večje količine antioksidativne kapacitete najdemo v alevronski plasti, sledijo ji otrobi in nazadnje polnozrnata žita. Zaradi te ugotovitve se je industrija osredotočila na odstranitev alevronske plasti od zrna in je z njo obogatila žitne produkte (Fardet in sod., 2008).

2.4.2 Koruza

Koruza je pomembna žitarica za prehrano ljudi in živali. Predelujejo jo v različne proizvode, kot so koruzni sladkor, tortilje, čips in polenta. Podobno kot druge žitarice je tudi koruza dober vir antioksidantov, še posebej zato, ker vsebuje ferulno kislino. Količina ferulne kisline v ovojnici koruznega zrna je okoli 2–4 % teže suhega izdelka. Koruzni otrobi lahko po teh podatkih vsebujejo tudi do 33 g ferulne kisline na kilogram otrobov, kar je več kot pšenični otrobi (5,3 – 5,4 g/kg), rženi otrobi (2,8 g/kg), polnozrnati otroboi (1,3 g/kg) in rjavi riž (0,4

g/kg). Tehnološki procesi in različne sorte koruze imajo velik vpliv na vsebnost antioksidantov v koruzi. Sladka koruza ima višjo antioksidativno kapaciteto kot krmna koruza, čeprav ima sladka koruza manj vitamina C (Fardet in sod., 2008).

2.4.3 Oves

Svetovna poraba ovsja je veliko manjša kot poraba pšenice. Oves vsebuje višje koncentracije antioksidantov (vitamin E, fitinsko kislino, fenolne komponente in avenantramide - alkaloide, ki vsebujejo fenolne skupine), ki jih najdemo tudi v zunanjih plasteh zrna. Avenantramidi imajo antioksidativno aktivnost, tako *in vitro* (Peterson in sod., cit. po Fardet in sod., 2008) kot tudi *in vivo* (Chen in sod., cit. po Fardet in sod., 2008). Avenantramid je močnejši antioksidant od nekaterih tipičnih fenolnih spojin v žitih, kot so ferulna kislina, p-hidroksibenzenojska kislina, vanilinska in fitinska kislina (Martinez–Tome in sod., cit. po Fardet in sod., 2008). 90 % tokoferolov je sestavljenih iz α -tokotrienolov in α -tokoferolov. α -tokoferol najdemo v zrnu, α -tokotrienol pa v endospermu. V ovsu prevladuje α -tokotrienol (Fardet in sod., 2008).

2.4.4 Ječmen

Fardet in sod. (2008) navajajo, da ječmen večinoma uživajo živali (80-90 %). To žito ima visoke koncentracije antioksidantov. To so predvsem derivati benzojske in cimetine kisline, proantocianidi, kinoni, flavonoli, halkoni, flavoni, flavanonini ter amino fenolne spojine. Ječmen je odličen vir naravnih antioksidantov, zato ga lahko uporabimo tudi za konzerviranje krme (zaščita pred lipidno oksidacijo) in za preprečevanje bolezni (Liu in Ya., cit. po Fardet in sod., 2008). Najvišji delež med fenolnimi spojinami v ječmenu ima ferulna kislina, katere koncentracija se giblje med 359 in 624 $\mu\text{g/g}$ suhe snovi ječmena (Hernaz in sod., cit. po Fardet in sod., 2008).

2.5 NAČINI KMETIJSKE PRIDELAVE

2.5.1 Ekološko kmetovanje

Ekološko kmetijstvo upošteva ravnovesje v celotnem ekosistemu, ga pomaga ohranjati in neposredno tudi zmanjševati onesnaževanje okolja. Je način trajnega kmetovanja, ki temelji na ravnovesju v sistemu tla – rastline – živali – človek, kar pomeni, da imamo zaprt tokokrog in, da se hranila vračajo nazaj na kmetijske površine (Bavec, 2001; Bavec, 2004). Ekološki kmetijski pridelki so pridelani brez uporabe lahko topnih mineralnih gnojil, kemijsko sintetiziranih fitofarmaceutskih sredstev (pesticidov), gensko spremenjenih organizmov in regulatorjev rasti (MKGP, 2011). Dovoljene pa so uporaba organskih gnojil in naravne metode za preprečevanje bolezni, škodljivcev in plevelov (kolobarjenje in obdelava tal)

(Bavec, 2001). Tako kmetovanje zagotavlja visoko kakovostne pridelke, z bogato prehransko vrednostjo in visoko vsebnostjo vitaminov, mineralov in antioksidantov.

2.5.2 Integrirano kmetovanje

Po Pravilniku o integrirani pridelavi poljščin (2004) je integrirana pridelava način kmetijske dejavnosti, ki pomeni uravnoteženo uporabo agrotehničnih ukrepov ob skladnem upoštevanju gospodarskih, ekoloških in toksikoloških dejavnikov.

Takšno kmetovanje daje prednosti naravnim ukrepom pred veterinarsko-farmaceutskimi, fitofarmaceutskimi in biotehnološkimi dejavniki, z njim pa dosežemo enak gospodarski učinek. Pridelava pridelkov poteka brez uporabe gensko spremenjenih organizmov. Dovoljena je uporaba mineralnih gnojil na podlagi analiz tal in potreb rastlin. Dovoljena je tudi uporaba kemičnih sredstev za varstvo rastlin (pesticidi), ki pa morajo delovati specifično in ne smejo škoditi koristnim mikroorganizmom (MKGP, 2007; Bavec, 2004).

Postopke integrirane pridelave nadzorujejo pooblašene organizacije, ki jih imenuje in nadzoruje Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano RS (MKGP, 2007).

2.5.3 Konvencionalno kmetovanje

Pri konvencionalnem (intenzivnem) načinu kmetovanja je treba upoštevati osnovno kmetijsko zakonodajo. Značilnosti te pridelave so večji pridelki, kar dosežemo z uporabo lahko topnih mineralnih gnojil in sintetičnimi fitofarmaceutskimi sredstvi za varstvo rastlin (Bavec, 2001).

2.6 MERJENJE ANTIOKSIDATIVNE KAPACITETE ŽIT IN KRMIL

Za merjenje antioksidativne kapacitete so v literaturi opisane številne analitske metode (Prior in sod., 2005). V naši raziskavi smo žitom in krmilom določili antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobah topnih antioksidantov z uporabo aparata Photochem.

Osnova določanja antioksidativne (antiradikalske) kapacitete z aparatom Photochem je spremljanje reakcije med superoksidnimi anionskimi radikali in antioksidanti iz vzorca (Popov in Lewin, 1996). Proizvajalec (Analytik Jena) prodaja že pripravljene reagente za določanje v vodi topnih (ACW-kit) in v maščobah topnih (ACL-kit) antioksidantov.

Osnova kvantitativnega določanja v vodi topnih antioksidantov je merjenje zastojnega časa (lag time) reakcije med antioksidanti in superoksidnimi anionskimi radikali. Na začetku merjenja antioksidanti iz vzorca nevtralizirajo nastale proste radikale (zelo nizek signal na detektorju), ko se antioksidanti porabijo, začnejo presežni radikali reagirati z luminolom, pri

čemer se sprošča svetloba, kar pomeni, da se začne povečevati signal na detektorju. Za umerjanje aparata lahko uporabimo kateri koli v vodi topni antioksidant.

Osnova kvantitativnega določanja v maščobah topnih antioksidantov je spremljanje obsega inhibicije kemiluminiscenčnega signala zaradi antioksidantov v vzorcu, ki ga izračunamo iz razlike med površino signala pri neinhibirani reakciji (brez antioksidantov, slepa vrednost) in površine signala delno inhibirane reakcije zaradi antioksidantov v vzorcu. Tudi v tem primeru omejitev glede uporabe antioksidanta za kalibriranje ni.

Prednosti uporabe tehnike za določanje antioksidativne kapacitete vzorcev z uporabo aparata Photochem so visoka občutljivost, razmeroma kratek čas merjenja (180 s za določitev ACL, do 120 s za določitev ACW), uporaba superoksidnega anionskega radikala, ki je prisoten tudi v telesu, možnost kalibriranja aparata z različnimi antioksidanti. Slabosti tehnike so nefiziološki pH (10,5), pri katerem potekajo reakcije, dragi že pripravljene reagenti, katerih sestava ni točno poznana, mehanizem reakcij še ni popolnoma znan (Prior in sod., 2005) in majhna baza podatkov, saj je tehnika še relativno nova.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Vzorci za weendsko analizo in za merjenje antioksidativne kapacitete

V raziskavo za weendsko analizo smo skupno vključili 18 vzorcev ječmena in pšenice, za določitev antioksidativne kapacitete pa smo analizirali 24 vzorcev prej omenjenih žit. Vzorci so bili pridelani na različne načine (ekološko, konvencionalno ali integrirano) in na različnih območjih po Sloveniji (preglednica 2 in 3). Vsebnost hranljivih snovi v vzorcih smo določili z weendsko analizo. Določili smo vsebnost surovih beljakovin, surovega pepela, surovih maščob, surovih vlaknin in izračunali vsebnost brezdušičnega izvlečka. V zbranih vzorcih smo izmerili tudi antioksidativno kapaciteto v vodi topnih in v maščobi topnih antioksidantov.

Preglednica 2: Opis vzorcev ječmena, v katerih smo določili hranljivo vrednost in antioksidativno kapaciteto

Številka vzorca	Območje pridelave	Način pridelave	Weendska analiza	Antioksidativna kapaciteta
1	Mešalnica	Konv.	-	+
2	Prekmurje	Konv.	+	+
3	Gorenjska	Konv.	+	+
4	Štajerska	Inte.	+	+
5	Dolenjska	Inte.	+	+
6	Prekmurje	Eko.	+	+
7	Štajerska	Eko.	+	+
8	Gorenjska	Eko.	+	+
9	Štajerska	Eko.	+	+
10	Štajerska	Eko.	-	+

Legenda: Eko. – ekološka pridelava; Inte. – integrirana pridelava; Konv. – konvencionalna pridelava; + opravili analizo, - nismo opravili analize

Preglednica 3: Opis vzorcev pšenice, v katerih smo določili hranljivo vrednost in antioksidativno kapaciteto

Številka vzorca	Območje pridelave	Način pridelave	Weendska analiza	Antioksidativna kapaciteta
1	Mešalnica	Konv.	-	+
2	Prekmurje	Konv.	+	+
3	Osrednja Slovenija	Konv.	+	+
4	Gorenjska	Konv.	+	+
5	Gorenjska	Konv.	+	+
6	Dolenjska	Inte.	+	+
7	Štajerska	Inte.	+	+
8	Prekmurje	Eko.	+	+
9	Štajerska	Eko.	+	+
10	Štajerska	Eko.	+	+
11	Štajerska	Eko.	+	+
12	Gorenjska	Eko.	-	+
13	Štajerska	Eko.	-	+
14	Štajerska	Eko.	-	+

Legenda: Eko. – ekološka pridelava; Inte. – integrirana pridelava; Konv. – konvencionalna pridelava; + opravili analizo, - nismo opravili analize

Vzorci, naštet v preglednicah 2 in 3, smo pridobili od doc. dr. Darje Kocjan Ačko s Katedre za poljedelstvo in sonaravno kmetijstvo (Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani), od kmetovalcev, nekaj vzorcev pa smo odvzeli v mešalnici močnih krmil.

3.1.2 Opis vzorcev žit in krmil, v katerih smo določili antioksidativno kapaciteto

Antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov smo določili z aparatom Photochem. V analizo smo vključili 64 vzorcev različnih vrst žit in krmil. Vzorce žit smo pridobili od različnih kmetovalcev, od doc. dr. Darje Kocjan Ačko (Oddelek za agronomijo in sonaravno kmetijstvo), nekaj vzorcev žit in krmil pa je bilo odvzetih v mešalnici močnih krmil.

V preglednici 4 so podani vzorci žit iz ekološke pridelave. V raziskavi smo analizirali po en vzorec ajde, ovsu in tritikale, po 2 vzorca pire, 3 vzorce koruze ter 5 oz. 7 vzorcev ječmena in pšenice.

Preglednica 4: Osnovni podatki o ekološko pridelanih žitih

Vrsta žita	Število vzorcev
Ajda	1
Ječmen	5
Koruza	3
Oves	1
Pira	2
Pšenica	7
Tritikala	1

Legenda: Eko. – ekološka pridelava

Pri analizi krmil iz mešalnice močnih krmil smo analizirali vzorce, ki so prikazani v preglednici 5.

Preglednica 5: Vzorci krmil in krmnih mešanic, odvzetih v mešalnici močnih krmil

Vrsta krmil	
Posamična krmila	Krmne mešanice
Pšenično krmilo	K-19 briketi
Koruza	Beljakovinsko krmilo
Koruzni gluten	Energijsko krmilo
Koruzno glutenska moka	Bro-starter
Oves	Bro-finišer
Seno - peletirano	Pur-finišer
Lucerna	NSK1 ostanki drobljenec
Pesni rezanci	
Repične tropine	
Sojine tropine	
Sončnične tropine	
Kvas	
Ribja moka	

V preglednici 6 so prikazane krmne mešanice in njihovi postopki obdelave, ki smo jih zajeli v našo raziskavo, in sicer: krmna mešanica K-19, energijsko krmilo, pur- in bro – finišer ter NSK 1 in NSK ster termik.

Preglednica 6: Osnovni podatki o krmnih mešanicah in postopku obdelave

Krmilo	Pred obdelavo	Po obdelavi	Postopek obdelave
K-19	Moka	Peleti	Peletiranje
Energijsko krmilo	Moka	Peleti	Peletiranje
Pur – finišeer končni	Moka	Peleti	Peletiranje
Bro – finišeer 2% elanc	Moka	Peleti	Peletiranje
NSK 1	Moka	Moka	*
NSK ster termik	Moka	Drobljenec	Toplotna obdelava + peletiranje + mletje

* ni postopka obdelave

K-19 je krmna mešanica za krave molznice z dnevno mlečno proizvodnjo do 20 litrov mleka. Energijsko krmilo je dopolnilna krmna mešanica za krave molznice. Pur – finišeer končni je popolna krmna mešanica za purane v pitanju od 12. do 16. tedna starosti. Bro – finišeer je popolna krmna mešanica za piščance brojlerje od 13. dne starosti dalje do 5 dni pred zakolom. Pri vseh naštetih krmilih po končanem postopku obdelave dobimo pelete. Peletiranje poteka s postopkom iztiskanja različnih žetvenih ostankov skozi matrico pod visokim pritiskom (KIS, 2010). NSK-1 je popolna krmna mešanica za kokoši nesnice lahkega tipa. NSK ster termik je popolna krmna mešanica za kokoši nesnice jedilnih jajc. Krmilo je specifično termično obdelano pri temperaturi 110 °C, kar mu zagotavlja visoko higiensko varnost. Po toplotni obdelavi ga peletirajo pri temperaturi 75–80 °C, nato pelete ohladijo in zmeljejo. Krmnim mešanicam, med postopkom obdelave dodajajo melaso ali olje. Pri krmilu K-19 na pelete dodajo melaso, medtem ko pri krmilih Pur- in Bro-finišeer dodajo maščobo.

3.2 METODE

Homogeniziranje vzorcev

Vzorci smo zmelili v kavnem mlinčku in jih premešali, da smo dobili homogen vzorec. Če vzorec ni dobro zmelit in premešan, lahko pride do prevelikih odstopanj, kar privede do netočnih podatkov. Vse analize smo naredili v dveh ponovitvah.

3.2.1 Weendska analiza

Suha snov

Suho snov smo določili s sušenjem zmeltega vzorca pri temperaturi 10–105 °C do konstantne mase. Vzorce smo stehali pred in po sušenju. Količino vlage v vzorcu izračunamo iz razlike v masi vzorca pred in po sušenju.

Surovi pepel

Surovi pepel (anorganska snov) smo določili iz razlike v masi vzorca pred in po sežigu v žarilni peči pri 520–550 °C.

Surove beljakovine

Surove beljakovine smo določali po Kjeldahl metodi. S to metodo smo določili, koliko dušika vsebuje vzorec. S pomočjo dobljenega podatka smo izračunali vsebnost surovih beljakovin v vzorcu, pri čemer smo predpostavili, da beljakovine vsebujejo 16 % dušika ($F = 6,25$).

Surove maščobe

Surove maščobe smo določili tako, da smo jih ekstrahirali v petroleter. Po končanem postopku smo ekstrakt posušili in stehtali ter izračunali vrednost surovih maščob.

Surova vlaknina

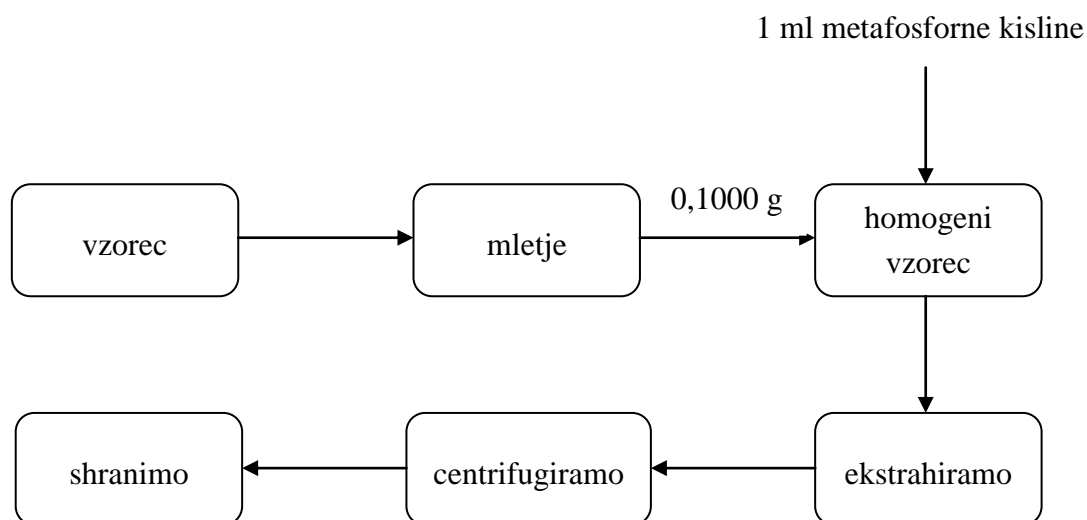
Surovo vlaknino smo določili s hidrolizo vzorca v kisli (1,25 odstotna raztopina H_2SO_4) in nato še v alkalni raztopini (1,25 odstotna raztopina NaOH). Trdni ostanek po obeh hidrolizah smo nato posušili, stehtali, prežarili in ponovno stehtali. Iz razlik v masi smo izračunali vsebnost surove vlaknine.

Brezdušični izvleček

Brezdušični izvleček je heterogena mešanica zmesi, ki je nismo zajeli v ostalih analizah. Izračunamo ga tako, da od celotne mase vzorca (1000 g) odštejemo suho snov, surovi pepel, surove beljakovine, surove maščobe in surove vlaknine.

3.2.2 Določitev antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov – metoda ACW

Pred merjenjem antioksidativne kapacitete moramo antioksidante iz trdih vzorcev ekstrahirati. V ta namen smo v 1,5 mililitrsko plastično epruveto s pokrovčkom odtehtali $0,1000 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ homogenega vzorca. V posodico smo nato odpipetirali 1,00 ml 2 odstotne vodne raztopine metafosforne kisline in ga v temi 30 minut ekstrahirali z vrtinčnikom. Zatem smo vzorec prenesli v centrifugo in ga 10 minut centrifugirali pri 10000 obratov/minuto, pri temperaturi $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Vzorce smo do analize, največ 3 ure, shranili v temi na ledu.



Slika 5: Shematski prikaz priprave vzorca za določitev antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov (metoda ACW)



Slika 6: Aparat Photochem, avtomatske pipete in pripravljene reagenti, ki jih potrebujemo za določitev antioksidativne kapacitete

Antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo določili s pomočjo aparata Photochem. Ker so volumni raztopin, ki jih pipetiramo, majhni, je izjemno pomembno, da

smo zelo natančni. V preglednici 7 je prikazana shema pipetiranja reagentov, standardne raztopine za kalibriranje (askorbinska kislina) in vzorcev pri določanju antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov.

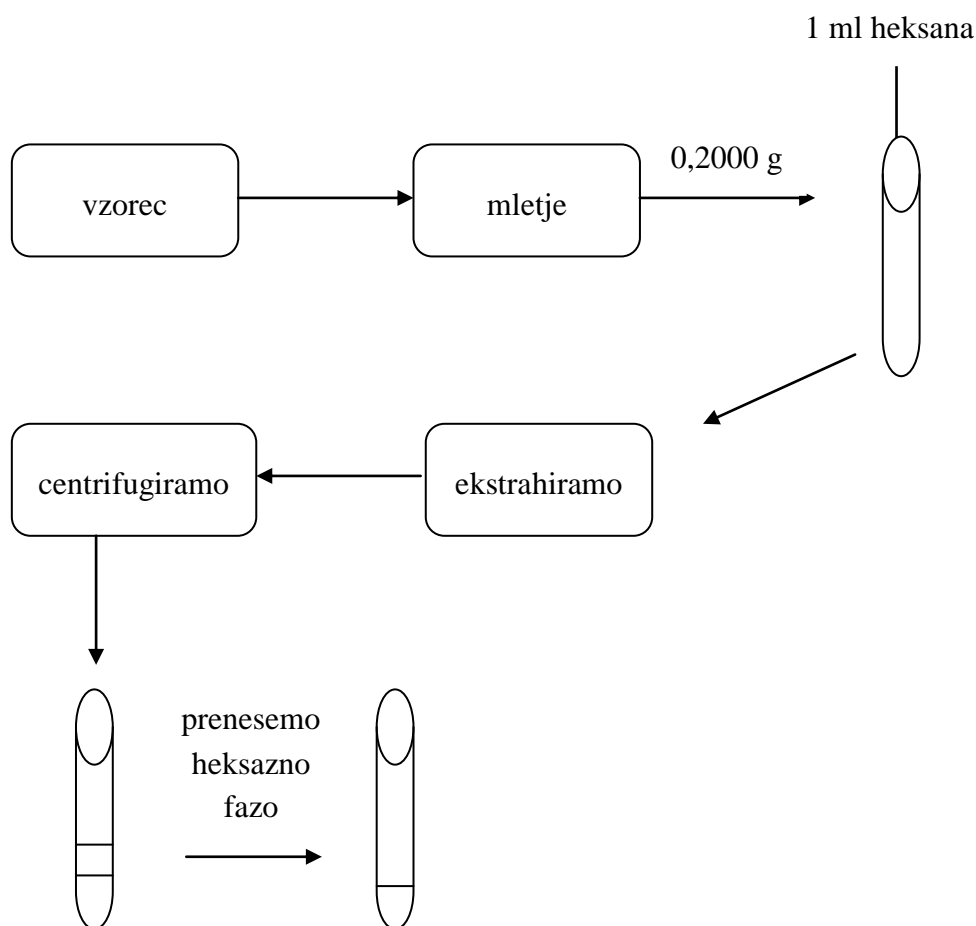
Preglednica 7: Shema pipetiranja pri določanju antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov, metoda ACW (volumni so v μl)

Reagent	Milli Q voda	pufer	luminol	askorbinska kislina	vzorec
slepa vrednost	1500	1000	25		
kalibriranje	1500	1000	25	X (5-40)	
vzorec	1500	1000	25		Y (10-40)

Merjenje v vodi topnih antioksidantov je potekalo tako, da smo v plastično posodico odpipetirali mili Q vodo in pufer, raztopino premešali z vibracijskim mešalnikom, nato smo dodali alikvot (5-40 μl) vode (slepa vrednost) ali raztopine standarda (kalibriranje) ali v fosfori kislini ekstrahiranega vzorca in ponovno premešali. Tik pred merjenjem smo dodali raztopino luminola, ki smo jo pred pipetiranjem premešali z vibracijskim mešalnikom. Celotno raztopino smo na koncu zopet premešali z vrtinčnikom. Posodico smo takoj vstavili v aparat ter pričeli z meritvijo. Naprava nam nato sama izračuna vsebnost v vodi topnih antioksidantov. Rezultate meritev smo podali v μmol ekvivalentov askorbinske kisline v kilogramu vzorca.

3.2.3 Določitev v maščobi topnih antioksidantov – metoda ACL

V 1,5 mililitrsko plastično posodico s pokrovčkom smo natehtali 0,2000 g ($\pm 0,0010$ g) zmletega homogenega vzorca krme. V posodico smo odpipetirali 1,00 ml heksana in vzorec dobro premešali s pomočjo vibracijskega mešalnika. Vzorec smo ekstrahirali 10 minut v UZ kopeli, zmes pa je bilo treba večkrat premešati, saj se delci posedajo. Nato smo vzorce 10 minut centrifugirali pri 10000 obrati na minuto, pri temperaturi 4 °C. Po končani centrifugaciji smo zgornjo, heksansko fazo prenesli s Hamiltonovo iglo v novo posodico s pokrovčkom, pri tem smo pazili, da nismo zajeli tudi trdega vzorca. Posodice smo shranili v temi v stiroporni škatli na ledu.



Slika 7: Shematski prikaz priprave vzorca za določanje antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov- (metoda ACL)

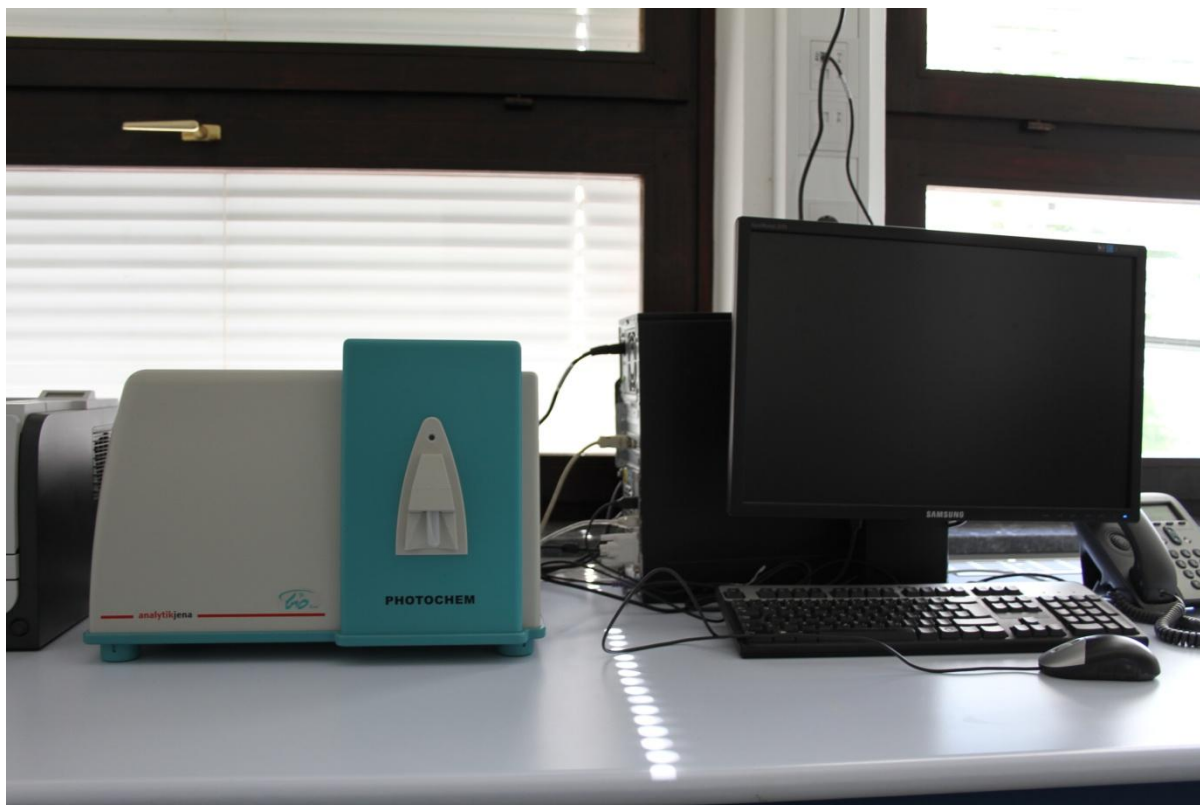
Shema pipetiranja reagentov, standarda za kalibriranje (Trolox) in vzorca pri določevanju antioksidativne kapacitete v maščobah topnih antioksidantov je prikazana v Preglednici 8. Aparat smo umerili s standardno raztopino troloxa, vodotopnega analoga vitamina E.

Preglednica 8: Shema pipetiranja pri določanju v maščobi topnih antioksidantov, metoda ACL (volumni so v μl)

Reagent	Metanol	Pufer	Luminol	Trolox	vzorec
slepa	2300	200	25		
kalibriranje	2300	200	25	X (5-40)	
vzorec	2300	200	25		Y (10-40)

Merjenje v maščobi topnih antioksidantov je potekalo po naslednjem postopku: v plastično posodico smo odpipetirali metanol in pufer ter premešali z vibracijskim mešalnikom. Zatem smo dodali alikvot (5-40 μl) heksana (slepa vrednost) ali standarda (kalibriranje) ali heksanskega ekstrakta vzorca, ki smo ga dobro premešali z vibracijskim mešalnikom. Na koncu smo dodali še luminol, ki smo ga pred pipetiranjem premešali. Posodico smo takoj

vstavili v aparat in pričeli z merjenjem. Naprava nam nato sama izračuna vsebnost v maščobi topnih antioksidantov. Rezultate meritev smo podali v μmol ekvivalentov troloxa v kilogramu vzorca.



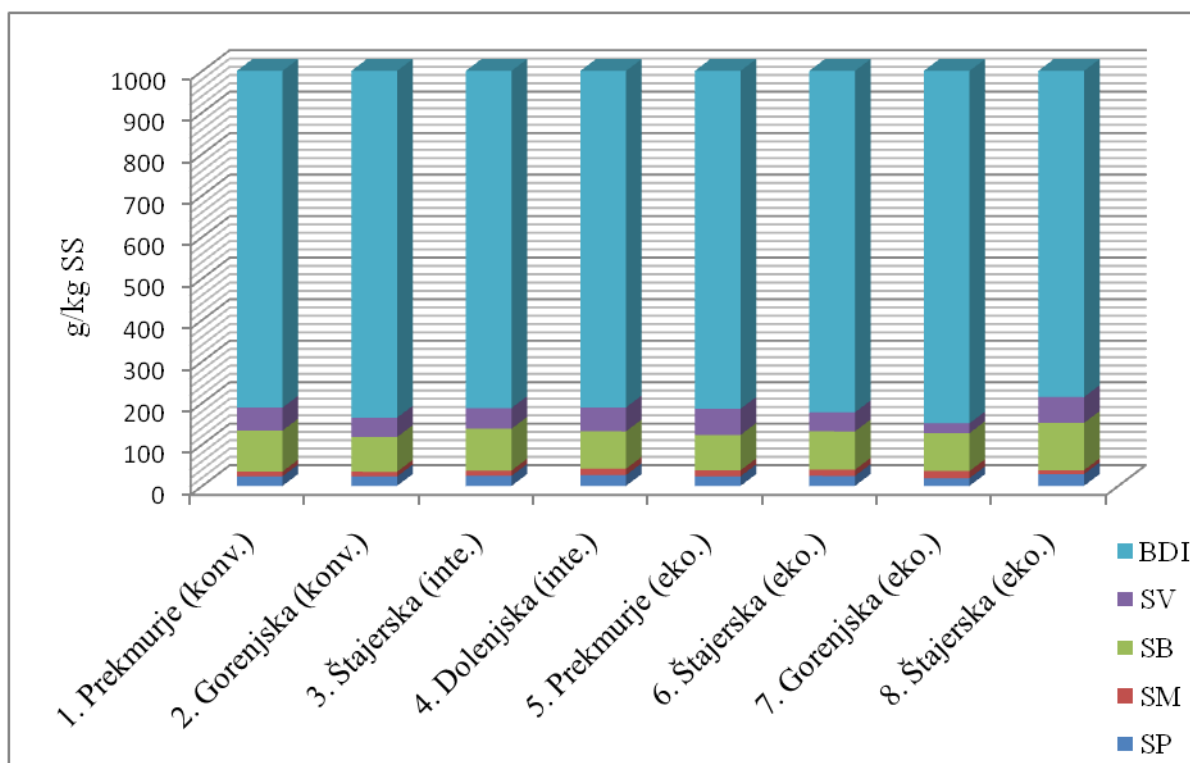
Slika 8: Aparat Photochem

4 REZULTATI

4.1 WEENDSKA ANALIZA

Na slikah 9 in 10 so prikazani rezultati weendske analize ječmena in pšenice.

Analize ječmena so pokazale (Slika 9), da so odstopanja med posameznimi analiziranimi vzorci, ki vsebujejo različne količine hranljivih snovi. Največ odstopanj smo zabeležili pri vzorcih številka 7 (Gorenjska, ekološka pridelava) in številka 8 (Štajerska, ekološka pridelava). Pri vzorcu 7 smo zabeležili najmanjšo količino surovega pepela (18,60 g/kg) in surovih vlaknin (23,50 g/kg) ter najvišjo količino surovih maščob (17,16 g/kg) in brezdušičnega izvlečka (849,21 g/kg). Pri vzorcu številka 8 pa smo zabeležili najmanjšo količino surovih maščob (9,56 g/kg) in brezdušičnega izvlečka (786,01 g/kg) ter najvišjo količino surovega pepela (28,14 g/kg) in surovih beljakovin (113,98 g/kg) v primerjavi z ostalimi vzorci.



Legenda: SP – surov pepel, SM – surove maščobe, SB – surove beljakovine, SV – surova vlaknina, BDI – brezdušični izvleček; konv. – konvencionalna pridelava; inte. – integrirana pridelava; eko. – ekološka pridelava

Slika 9: Vsebnost hranljivih snovi pri ječmenu

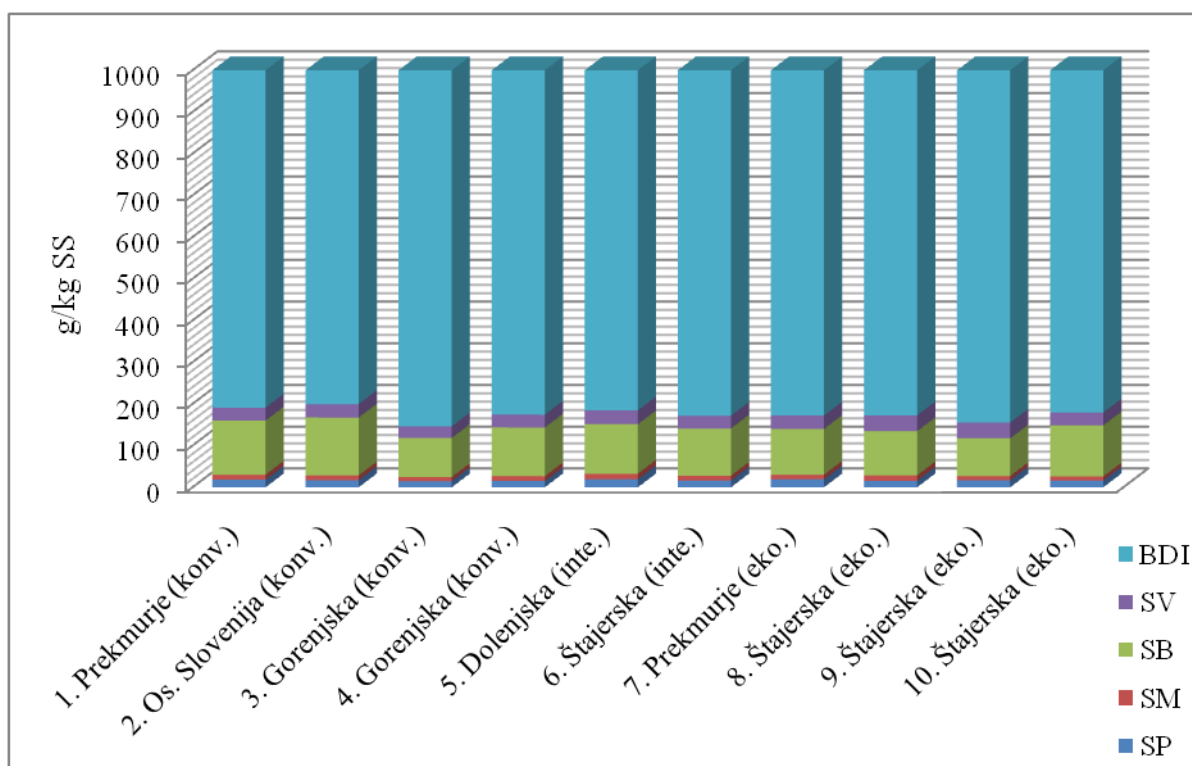
V preglednici 9 so podani statistični parametri za ječmen. V povprečju smo zabeležili, da ječmen vsebuje 24 g/kg SS surovega pepela, 13 g/kg SS surovih maščob, 95 g/kg SS surovih beljakovin, 51 g/kg SS surovih vlaknin in 818 g/kg SS brezdušičnega izvlečka. Največji standardni odklon smo izračunali pri BDI, najmanjšega pa pri surovih maščobah.

Preglednica 9: Statistični parametri za vsebnost hranljivih snovi za ječmen

Statistični parametri	SP	SM	SB	SV	BDI
Poprečna vrednost (g/kg SS)	23,75	13,36	94,55	50,53	817,81
Minimum (g/kg SS)	18,60	9,56	83,65	23,50	786,00
Maksimum (g/kg SS)	28,13	17,16	113,98	62,92	849,21
Standardni odklon	2,77	2,53	9,80	12,72	18,79

Legenda: SP – surov pepel, SM – surove maščobe, SB – surove beljakovine, SV – surova vlaknina, BDI – brezdušični izvleček

Weendska analiza pšenice (Slika 10) je pokazala, da omenjeno žito vsebuje različne koncentracije surovega pepela, surovih maščob, surovih beljakovin, surovih vlaknin in brezdušičnega izvlečka. Največja odstopanja smo zabeležili pri vzorcu številka 3 (Gorenjska, konvencionalna pridelava). Omenjeni vzorec vsebuje najmanjšo količino surovega pepela (14,78 g/kg) in surovih vlaknin (27,88 g/kg) ter najvišjo količino brezdušičnega izvlečka (853,75 g/kg) v primerjavi z ostalimi analiziranimi vzorci.



Legenda: SP – surov pepel, SM – surove maščobe, SB – surove beljakovine, SV – surova vlaknina, BDI – brezdušični izvleček; konv. – konvencionalna pridelava; inte. – integrirana pridelava; eko. – ekološka pridelava

Slika 10: Vsebnost hranljivih snovi pri pšenici

Analizirana pšenica v povprečju vsebuje 17 g/kg SS surovega pepela, 11 g/kg SS surovih maščob, 114 g/kg SS surovih beljakovin, 32 g/kg SS surove vlaknine in 825 g/kg SS brezdušičnega izvlečka. Najvišji standardni odklon smo zabeležili pri surovih beljakovinah in brezdušičnem izvlečku, najmanjšega pa pri surovem pepelu (Preglednica 10).

Preglednica 10: Statistični parametri za vsebnost hranljivih snovi za pšenico

Statistični parametri	SP	SM	SB	SV	BDI
Povprečna vrednost (g/kg SS)	16,94	11,28	114,01	32,42	825,33
Minimum (g/kg SS)	14,78	9,58	90,31	27,88	800,52
Maksimum (g/kg SS)	19,24	13,42	138,92	37,93	853,75
Standardni odklon	1,59	1,25	15,03	3,13	15,68

Legenda: SP – surov pepel, SM – surove maščobe, SB – surove beljakovine, SV – surova vlaknina, BDI – brezdušični izvleček

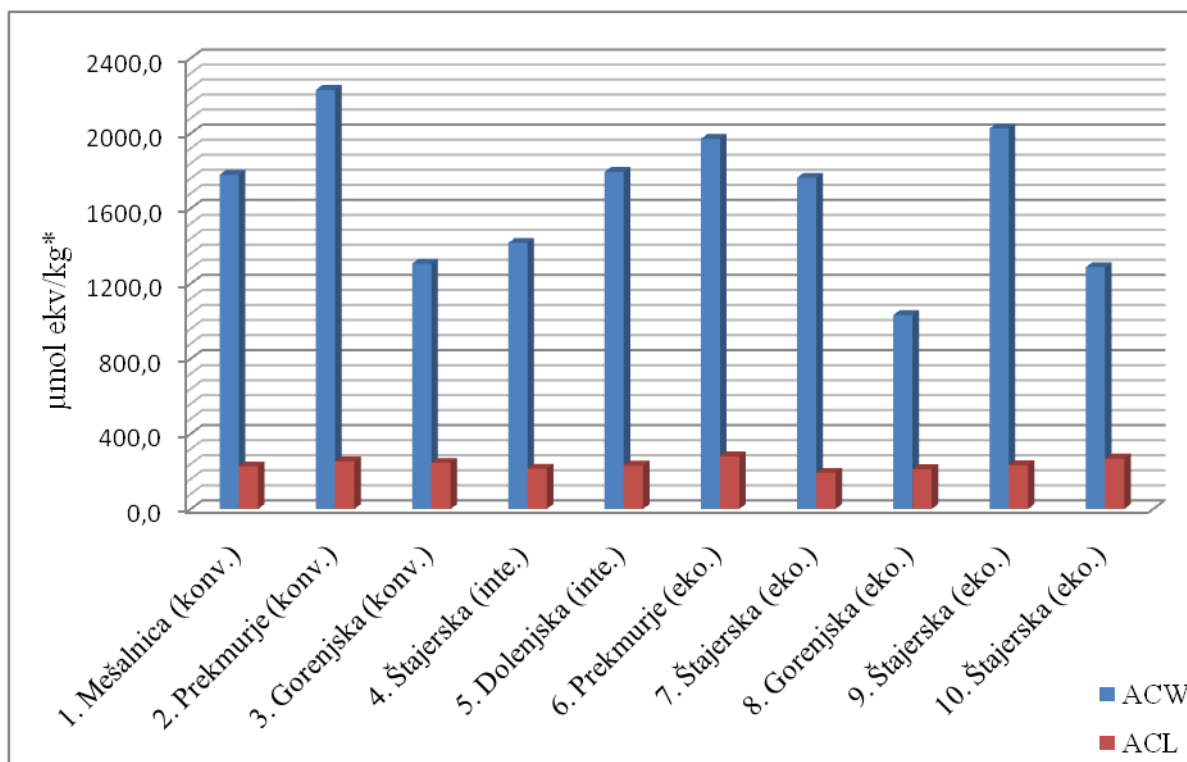
4.2 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA

Za določitev antioksidativne kapacitete v vzorcih žit in krmil, ki smo jih zajeli v raziskavo, smo uporabili aparat Photochem, s katerim lahko določamo antioksidativno kapaciteto v vodi (metoda ACW) in v maščobah (metoda ACL) topnih antioksidantov. Rezultati so podani v μmol ekvivalentnih askorbinske kisline v kg vzorca za v vodi topne antioksidante oz. μmol ekvivalentnih trolox-a v kg vzorca za antioksidante, ki so topni v maščobi.

4.2.1 Antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v ječmenu in pšenici

V analizo smo zajeli vzorce iz različnih pokrajin (Gorenjska, Štajerska, Prekmurje in Osrednja Slovenija) in različnih načinov pridelave. Z raziskavo smo želeli ugotoviti, ali način in območje pridelave vplivata na antioksidativno kapaciteto.

Na Slikah 11 in 12 so prikazani rezultati antioksidativne kapacitete v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v ječmenu in pšenici. Iz rezultatov je razvidno, da ječmen v povprečju vsebuje večjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov v primerjavi s pšenico, medtem ko pšenica v povprečju vsebuje večjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov.



* v ACW - μmol ekv. askorbinske kisline/kg; v ACL μmol ekv. troloxa/kg

Legenda: ACW – antioksidanti, topni v vodi; ACL – antioksidanti, topni v maščobi; konv. – konvencionalna pridelava; inte. – integrirana pridelava; eko. – ekološka pridelava

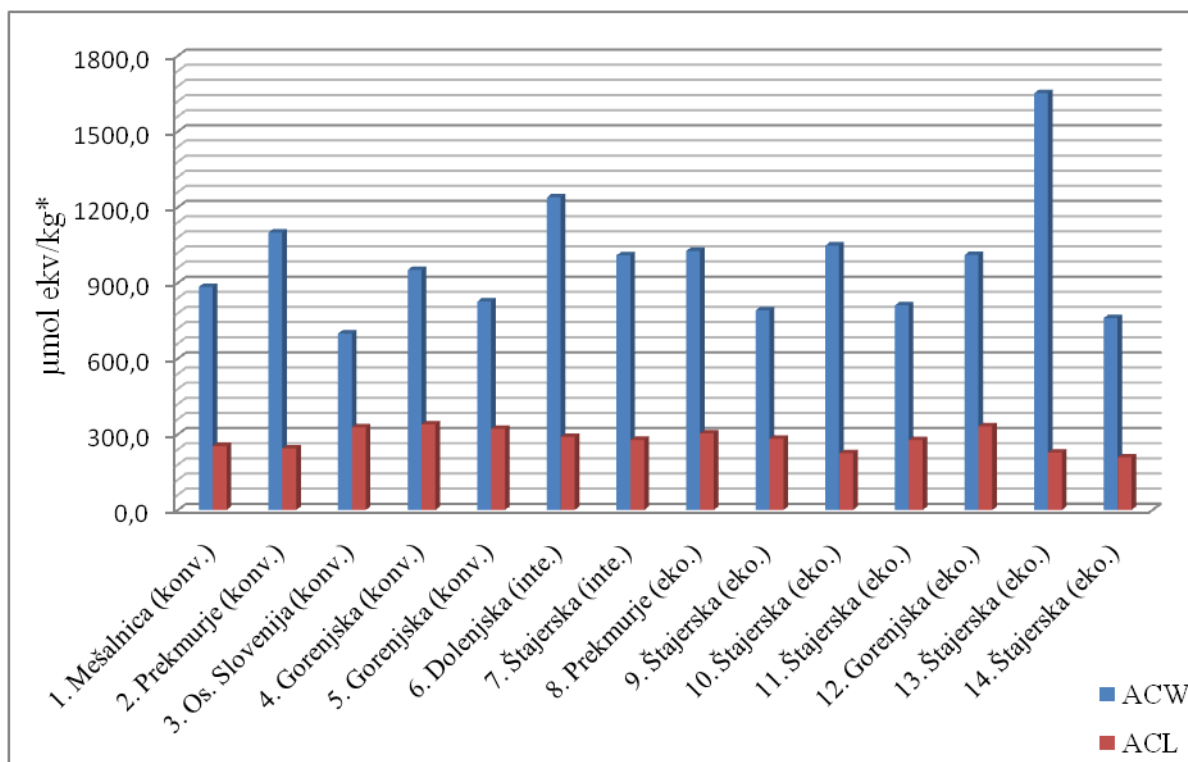
Slika 11: Antioksidativna kapaciteta v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v ječmenu, glede na lokacijo in način pridelave

Kot je razvidno s Slike 11, je antioksidativna kapaciteta v vodi topnih antioksidantov, v primerjavi z antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov, tudi do 8-krat večja.

Najvišjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo zabeležili pri konvencionalni pridelavi v Prekmurju (vzorec številka 2), in sicer smo izmerili 2232 μmol ekv. askorbinske kisline/kg. Najmanjšo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo dobili pri vzorcu iz ekološke pridelave na Gorenjskem in sicer (vzorec številka 8), 1033 μmol ekv. askorbinske kisline/kg.

Pri antioksidativni kapaciteti v maščobi topnih antioksidantov razlike niso tako izrazite. Najvišjo in najnižjo vrednost smo zabeležili pri ekološki pridelavi. Najvišja vrednost znaša v vzorcu iz Prekmurja (vzorec številka 6), in sicer 280 μmol ekv. troloxa/kg, najnižjo pa smo zabeležili v vzorcu s Štajerske (vzorec številka 7), kjer smo izmerili 192 μmol ekv. troloxa/kg.

Pšenica (prav tako kot ječmen) vsebuje večjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov (Slika 12), vendar je njihova vrednost, v primerjavi z ječmenom, za več kot polovico manjša.



* v ACW - μmol ekv. askorbinske kisline/kg; v ACL μmol ekv. troloxa/kg

Legenda: ACW – antioksidanti, topni v vodi; ACL – antioksidanti, topni v maščobi; konv. – konvencionalna pridelava; inte. – integrirana pridelava; eko. – ekološka pridelava

Slika 12: Antioksidativna kapaciteta v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v pšenici glede na lokacijo in način pridelave

Pri določanju antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov pri pšenici (Slika 12) smo največjo antioksidativno kapaciteto zabeležili pri ekološki pridelavi na Štajerskem (vzorec številka 13), njegova vrednost je znašala 1652 μmol ekv. askorbinske kisline/kg. Najmanjšo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov pa smo izmerili pri konvencionalni pridelavi v Osrednji Sloveniji (vzorec številka 3), ki je znašala 699 μmol ekv. askorbinske kisline/kg.

Pri merjenju antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov smo največjo antioksidativno kapaciteto izmerili pri konvencionalni pridelavi na Gorenjskem (vzorec številka 4), in sicer 339 μmol ekv. troloxa/kg. Vzorec iz ekološke pridelave na Štajerskem (vzorec številka 14) ima najmanjšo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov. Njegova vrednost je znašala 208 μmol ekv. troloxa/kg.

4.2.2 Antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v žitih iz ekološke pridelave

Rezultati analize antioksidativne kapacitete v vodi (ACW) in v maščobi (ACL) topnih antioksidantov v žitih iz ekološke pridelave so prikazani v Preglednicah 11 in 12.

Največjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo izmerili pri ajdi (2235 μmol ekv. askorbinske kisline/kg), najmanjšo pa pri piri (651 μmol ekv. askorbinske kisline/kg). Razlike v antioksidativni kapaciteti v vodi topnih antioksidantov smo izmerili tudi znotraj iste skupine žit (vsi rezultati niso prikazani). Tako smo npr. pri ječmenu izmerili antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov med 1033 in 2026 μmol ekv. askorbinske kisline/kg, pri pšenici pa med 761 in 1651 μmol ekv. askorbinske kisline/kg. Tudi analiza koruze je dala podobne rezultate. Najmanjšo antioksidativno kapaciteto, ki smo jo izmerili, je znašala 831 μmol ekv. askorbinske kisline/kg, največja pa 2155 μmol ekv. askorbinske kisline/kg.

Preglednica 11: Statistični parametri za antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov v žitih iz ekološke pridelave

		Statistični parametri za ACW (μmol ekv. askorbinske kisline/kg)			
Žito	Število vzorcev	Povprečna vrednost*	Minimum	Maksimum	Standardni odklon
Ajda	1	2235,4	/	/	/
Ječmen	5	1615,8	1032,5	2025,8	437,0
Koruza	3	1522,6	830,4	2154,8	664,2
Oves	1	1212,2	/	/	/
Pira	2	650,6	611,0	690,1	56,0
Pšenica	7	1014,3	760,7	1651,5	306,2
Tritikala	1	1025,0	/	/	/

* Kjer imamo samo po en vzorec, je to njegova vrednost in ne povprečna vrednost.

Razlike v antioksidativni kapaciteti v maščobi topnih antioksidantov med analiziranimi žiti ekološke pridelave, so manjše, kot pri antioksidativni kapaciteti v vodi topnih antioksidantov (Preglednica 12). Pri ječmenu smo izmerili med 192 in 280 μmol ekv. troloxa/kg. Pri vzorcih pšenice, ki smo jih zajeli v raziskavo, smo izmerili najvišjo vrednost 332 μmol ekv. troloxa/kg, najnižjo pa 208 μmol ekv. troloxa/kg. Vrednosti, ki smo jih dobili pri analizi koruze, pa so med 226 in 288 μmol ekv. troloxa/kg. Najmanjšo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov vsebuje ajda (135 μmol ekv. troloxa/kg), največjo pa tritikala (347 μmol ekv. troloxa/kg).

Preglednica 12: Statistični parametri za antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov v žitih iz ekološke pridelave

Žito	Število vzorcev	Statistični parametri za ACL (μmol ekv. troloxa/kg)			
		Povprečna vrednost *	Minimum	Maksimum	Standardni odklon
Ajda	1	135,0	/	/	/
Ječmen	5	237,1	192,4	280,0	36,9
Koruza	3	248,0	226,4	288,2	34,8
Oves	1	182,1	/	/	/
Pira	2	247,5	231,3	263,7	22,9
Pšenica	7	265,1	208,3	331,9	45,9
Tritikala	1	347,3	/	/	/

* Kjer imamo samo po en vzorec je to njegova vrednost in ne povprečna vrednost

4.2.3 Antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v posamičnih krmilih in krmnih mešanicah

V Preglednici 13 so prikazani rezultati antioksidativne kapacitete v vodi in v maščobi topnih antioksidantov, posamičnih vzorcev krmil in krmnih mešanic odvzetih v mešalnici močnih krmil. Med posamičnimi krmili smo izmerili velike razlike v vsebnosti v vodi in maščobi topnih antioksidantov. Največjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo izmerili pri sončničnih ($554945 \mu\text{mol}$ ekv. askorbinske kisline/kg) in repičnih tropinah ($457518 \mu\text{mol}$ ekv. askorbinske kisline/kg), ki jih uvrščamo med stranske proizvode oljne industrije. Najvišjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov smo izmerili pri repičnih tropinah ($921 \mu\text{mol}$ ekv. troloxa/kg) in kvasu ($785 \mu\text{mol}$ ekv. troloxa/kg), ki ga dobimo kot stranski proizvod pri proizvodnji alkoholnih pijač. Najnižjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo izmerili pri ribji moki in ovsu (562 oz. $691 \mu\text{mol}$ ekv. troloxa/kg), najnižjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov pa pri senu in sojinah tropinah (134 oz. $138 \mu\text{mol}$ ekv. troloxa/kg).

Analizirali smo tudi krmne mešanice in ugotovili, da ima beljakovinsko krmilo najvišjo antioksidativno kapaciteto v vodi ($203980 \mu\text{mol}$ ekv. askorbinske kisline/kg) in v maščobi ($1059 \mu\text{mol}$ ekv. troloxa/kg) topnih antioksidantov. Najnižjo antioksidativno vrednost v vodi topnih antioksidantov smo zabeležili pri krmni mešanici Pur-finišer ($2325 \mu\text{mol}$ ekv. askorbinske kisline/kg), medtem ko smo najnižjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov izmerili pri NSK1 ostanki drobljenec, in sicer $267 \mu\text{mol}$ ekv. troloxa/kg.

Preglednica 13: Primerjava antioksidativne kapacitete v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v vzorcih krmil in krmnih mešanic, odvzetih v mešalnici močnih krmil

Krmila	ACW (μmol ekv. askorbinske kisline/kg)	ACL (μmol ekv. troloxa/kg)
Posamična krmila		
Pšenično krmilo	2498,0	540,6
Koruza	1122,2	304,7
Koruzni gluten	9866,1	np
Koruzno glutenska moka	2465,1	np
Oves	690,9	260,8
Seno - peletirano	3931,6	134,0
Lucerna	5036,5	553,1
Pesni rezanci	2661,7	165,1
Repične tropine	457517,7	920,6
Sojine tropine	2521,1	137,6
Sončnične tropine	554945,4	348,4
Kvas	7493,7	785,0
Ribja moka	561,8	190,3
Krmne mešanice		
K-19 briketi	73178,0	439,0
Beljakovinsko krmilo	203980,4	1059,2
Energijsko krmilo	2949,9	281,4
Bro-starter	3171,3	384,6
Bro-finišer	3478,2	732,2
Pur-finišer	2325,4	368,2
NSK1 ostanki drobljenec	17086,3	267,1

Legenda: np – ni podatka

V Preglednici 14 so prikazani rezultati antioksidativne kapacitete v vodi in v maščobi topnih antioksidantov za krmila in določene krmne mešanice, ki so bile obdelane z različnim procesi obdelave.

Analiza je pokazala, da ima krmna mešanica K-19 najvišjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov pred (72405 μmol ekv. askorbinske kisline/kg) in po obdelavi (67311 μmol ekv. askorbinske kisline/kg). Pri ostalih analiziranih krmnih mešanicah pa smo izmerili nižjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov, tako pred kot tudi po obdelavi. Najvišjo razliko antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov pred in po obdelavi krmne mešanice smo izračunali pri NSK ster termik, ta razlika je znašala 40 %. Najmanjšo razliko v antioksidativni kapaciteti v vodi topnih antioksidantov pred in po obdelavi smo zabeležili pri krmilu Pur-finišer končni, ta razlika je znašala 9 %.

Najvišjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov pred obdelavo smo izmerili pri krmni mešanici K-19 (470 μmol ekv. troloxa/kg). Največjo antioksidativno kapaciteto po obdelavi pa smo zabeležili pri Pur-finišer končni (656 μmol ekv. troloxa/kg). Vse krmne mešanice, razen K-19, so vsebovale višjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov po obdelavi. Največjo razliko v antioksidativni kapaciteti v maščobi topnih antioksidantov pred in po obdelavi smo izračunali pri krmni mešanici Pur-finišer končni, in sicer je razlika znašala 230 %. To pomeni, da se je vsebnost antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov po obdelavi povečala za več kot dvakrat, kar lahko pripišemo dodajanju dela maščobe na pelete. Najmanjšo razliko smo zabeležili pri NSK 1 ostanki. Ta razlika je znašala 5 %. Pri krmni mešanici K-19 smo zabeležili po obdelavi 13 % nižjo koncentracijo v maščobi topnih antioksidantov.

Preglednica 14: Antioksidativna kapaciteta v vodi (ACW) in v maščobah (ACL) topnih antioksidantov v krmnih mešanicah pred in po obdelavi

Krmne mešanice	AOK	ACW (μmol ekv. askorbinske kisline/kg)		ACL (μmol ekv. troloxa/kg)	
		Pred obdelavo	Po obdelavi	Pred obdelavo	Po obdelavi
K-19		72404,6	67311,2	470,4	410,1
Energijsko krmilo		3875,5	2896,5	271,7	295,6
Pur-finišer končni		3295,6	3030,8	277,7	655,9
Bro-finišer 2 odstotni elanc		6089,8	3202,6	388,1	468,9
NSK 1 ostanki		26715,3	17870,9	302,7	316,8
NSK ster termik		37467,1	21978,4	307,8	324,4

Legenda: AOK- antioksidativna kapaciteta

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V prvem delu diplomske naloge smo z weendsko analizo ugotavljali vsebnost hranljivih snovi (surove beljakovine, surove maščobe, surov pepel, surove vlaknine in brezdušični izvleček) v ječmenu in pšenici. Zanimalo nas je, ali različna območja pridelave in različni načini kmetovanja vplivajo na vsebnost omenjenih hranil. V analizo smo skupno vključili 18 vzorcev, od tega je bilo 8 vzorcev ječmena in 10 vzorcev pšenice.

Pri analizi ječmena smo ugotovili, da se vsebnost hranljivih snovi med vzorci razlikuje. Največje odstopanje smo zabeležili pri vzorcih, pridobljenih na Gorenjskem (ekološka pridelava) in Štajerskem (ekološka pridelava). Pri vzorcu z Gorenjske smo zabeležili najmanjšo količino surovega pepela in surovih vlaknin ter najvišjo količino surovih maščob in brezdušičnega izvlečka, pri vzorcu s Štajerske pa smo zabeležili najmanjšo količino surovih maščob in brezdušičnega izvlečka ter najvišjo količino surovega pepela in surovih beljakovin glede na ostale analizirane vzorce.

Analizirali smo tudi vzorce pšenice, odvzete na različnih območjih Slovenije, pri katerih smo ugotovili, da se vsebnost hranljivih snovi, tako kot pri ječmenu, med vzorci razlikuje. Največja odstopanja smo zabeležili pri vzorcu z Gorenjske (konvencionalna pridelava), ki vsebuje najmanjšo količino surovega pepela in surovih vlaknin ter največjo količino brezdušičnega izvlečka v primerjavi z ostalimi analiziranimi vzorci.

Kemično sestavo različnih sort ječmena in pšenice sta ugotavljala tudi Pirman in Orešnik (1999). V analizo sta vključila 4 sorte ječmena in 5 sort pšenice. Ugotovila sta, da ječmen v povprečju vsebuje (g/kg SS) 24,10 SP, 16,69 SM, 102,47 SB, 61,91 SV in 794,88 BDI, pšenica pa (g/kg SS) 18,06 SP, 13,00 SM, 118,98 SB, 31,65 SV in 818,3 BDI. Ugotovila sta, da kemična sestava in s tem hranljiva vrednost nista odvisni samo od genetskih lastnosti rastlin, ampak se spreminjata glede na pogoje rasti in agrotehnične ukrepe pri pridelavi. Če primerjamo rezultate naše analize z raziskavo, ki sta jo opravila Pirman in Orešnik (1999), lahko ugotovimo, da so rezultati med seboj primerljivi. Metayer in sod. (1993 cit. po Pirman in Orešnik, 1999) so preučevali sestavo posameznih sort francoskih žit (ječmen, pšenica, koruza in oves) ter ugotovili, da se sestava spreminja tako znotraj iste vrste žit, kot tudi med različnimi žiti. Raziskavo so izvajali več let in ugotovili da se hranljiva vrednost žit spreminja glede na klimatske in rastne pogoje, odvisna pa je tudi od gnojenja in genetskih lastnosti sorte.

Iz rezultatov, ki smo jih dobili z raziskavo, lahko sklepamo, da različni načini in območja pridelave vplivajo na vsebnost hranljivih snovi v ječmenu in pšenici. Da bi potrdili naše rezultate, bi morali narediti bolj poglobljene raziskave, ki bi trajale več let in bi vsebovale natančnejše podatke o genotipu, kolobarju, načinu kmetovanja, območju pridelave ter

vremenu. Treba bi bilo opraviti tudi analizo prsti. S tem bi ugotovili kako se območja pridelave razlikujejo med seboj in kako so tla založena s hranili.

V drugem delu diplomske naloge smo z aparatom Photochem merili antioksidativno kapaciteto posameznih krmil in krmnih mešanic. V analizo smo vključili 64 različnih vzorcev krmil. Analizo smo izvedli z namenom, da bi ugotovili, ali različni načini (ekološko, integrirano in konvencionalno kmetovanje) in različna območja pridelave krmil ter različni postopki obdelave krmnih mešanic (peletiranje, toplotna obdelava) vplivajo na antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov.

Rezultati analiz ječmena so pokazali, da se analizirani vzorci v antioksidativni kapaciteti v vodi in v maščobah topnih antioksidantov med seboj razlikujejo. Najvišjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo zabeležili v vzorcu iz Prekmurja (konvencionalna pridelava), najmanjšo pa v vzorcu z Gorenjske (ekološka pridelava). V vzorcu iz Prekmurja (ekološko kmetovanje) smo zabeležili najvišjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov, najmanjšo pa v vzorcu s Štajerske (ekološko kmetovanje). Pri analizi antioksidativne kapacitete pšenice smo prišli do enakega zaključka kot pri ječmenu. Najvišjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo zabeležili pri ekološki pridelavi na Štajerskem, najnižjo vrednost pa smo izmerili pri konvencionalni pridelavi v Osrednji Sloveniji. Največjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov, smo izmerili pri konvencionalni pridelavi na Gorenjskem, najnižjo pa pri ekološki pridelavi na Štajerskem. Ali način pridelave in območje rasti vplivata na antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov, ne moremo z gotovostjo trditi, ker nismo imeli dovolj natančno definiranih vzorcev (premalo podatkov o genotipu, kolobarju, načinu kmetovanja, območju pridelave, skladiščenju in vremenu) in premalo vzorcev glede na način pridelave.

Žita so pomemben vir antioksidantov, ki pomembno prispevajo k zaščiti organizma. Primerjali smo antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v različnih žitih iz ekološke pridelave. Fardet in sod. (2008) navajajo, da imajo različna žita različno antioksidativno kapaciteto. Tudi mi smo prišli do enakih zaključkov. Najvišjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov smo izmerili pri ajdi, najnižjo pa pri piri. Pri v maščobi topnih antioksidantov pa smo zabeležili največjo antioksidativno kapaciteto pri tritikali, najnižjo pa pri ajdi.

Poleg ječmena in pšenice smo analizirali tudi druga žita, ki jih uporabljamo v prehrani živali (koruza, oves,...), in nekatera posamična krmila (repične in sončnične tropine, kvas, koruzni gluten,...), ki jih dobimo kot stranski proizvod živilske industrije (oljna industrija, industrija alkoholnih pijač, škroba,...). V analizo smo vključili vzorce, ki smo jih pridobili iz mešalnice krmil, da bi ugotovili, kakšna je antioksidativna kapaciteta v posamičnih krmilih. Ugotovili smo, da so velike razlike v antioksidativni kapaciteti v vodi in v maščobi topnih antioksidantov med posameznimi krmili. Največjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov imajo sončnične in repične tropine, najmanjšo pa oves in ribja moka. Eden od

možnih vzrokov za visoko odstopanje antioksidativne kapacitete sončničnih in repičnih tropin od ostalih analiziranih krmil so lahko oksidirane beljakovine in aminokislina, za katero je znano (Popov in Lewin, 1999), da se njihova antiradikalska kapaciteta po *in vitro* oksidaciji poveča tudi do 300-krat. Največjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov smo zabeležili pri repičnih tropinah in kvasu, najmanjšo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov pa imajo seno, sojine tropine in pesni rezanci.

V mešalnici krmil smo odvzeli različne krmne mešanice, v katerih smo izmerili antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov. Rezultati so pokazali, da ima največjo antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov beljakovinsko krmilo. Pur-finišer ima najnižjo antioksidativno kapaciteto v vodi topnih antioksidantov, NSK ostanki pa najnižjo antioksidativno kapaciteto v maščobi topnih antioksidantov. Zaradi različne obdelave krmnih mešanic (toplotna obdelava, peletiranje,...) smo analizirali njihovo antioksidativno kapaciteto pred in po obdelavi. Ugotovili smo, da se po postopku obdelave krmne mešanice antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov spremeni. Pri analizi antioksidativne kapacitete v vodi topnih antioksidantov smo ugotovili, da se po obdelavi pri vseh krmnih mešanicah zmanjša njihova vsebnost. Pri določitvi antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov pa so se vrednosti antioksidativne kapacitete po obdelavi povečale pri vseh krmnih mešanicah, razen pri K-19. Krmni mešanici K-19 so med postopkom obdelave dodajali melaso, medtem ko pri krmnih mešanicah Pur- in Bro-finišer dodajo olje. To je lahko vzrok za povečanje antioksidativne kapacitete v maščobi topnih antioksidantov.

Dobljeni rezultati antioksidativne kapacitete potrjujejo, da imajo krmila in krmne mešanice različno antioksidativno kapaciteto v vodi in maščobi topnih antioksidantov. Rezultati so tudi pokazali, da obdelava krmnih mešanic lahko vpliva na koncentracijo antioksidativne kapacitete.

Hipoteze, da načini pridelave in območje rasti vplivajo na vsebnost antioksidativne kapacitete, nismo potrdili. Zato bi bile potrebne večletne raziskave, ki bi zajemale večje število vzorcev in bolj podrobne podatke o rastišču, gnojenju, kolobarjenju, skladiščenju in načinu pridelave.

5.2 SKLEPI

- Rezultati weendske analize so pokazali, da se analizirani vzorci ječmena in pšenice razlikujejo v vsebnosti hranljivih snov glede na rastišče in način pridelave.
- Med analiziranimi vzorci ječmena in pšenice smo ugotovili razlike v antioksidativni kapaciteti tako v vodi in kot tudi v maščobi topnih antioksidantov. Za potrditev vpliva pridelave in območja rasti pa bi potrebovali več vzorcev in bolj natančne podatke o rastišču, gnojenju, genotipu, kolobarju in skladiščenju vzorcev.
- Raziskava je pokazala, da različna krmila in krmne mešanice vsebujejo različno koncentracijo antioksidativne kapacitete v vodi in maščobi topnih antioksidantov.
- Med analiziranimi vzorci krmnih mešanic smo ugotovili razlike v antioksidativni kapaciteti v vodi in v maščobi topnih antioksidantov pred in po obdelavi. Vzroka za to sta lahko dva, in sicer postopek obdelave ali pa dodajanje melase oz. olja krmnim mešanicam med peletiranjem (K-19, Pur- in Bro-finišer).
- Za bolj natančno potrditev vpliva rastišč, kolobarja, gnojenja, načina pridelave, vremenskih vplivov na vsebnost antioksidantov v posameznih krmilih bi bile potrebne nadaljnje večletne raziskave, s katerimi bi pridobili natančno definirane vzorce krmil (vpliv vremena, gnojenja, sončnega obsevanja, sorte, sušenja, skladiščenja in tudi staranja), s katerimi bi lahko bolj natančno potrdili razlike v vsebnosti antioksidantov.

6 POVZETEK

Antioksidanti v krmilih imajo pomembno vlogo pri zaščiti organizma pred prostimi radikali, ki lahko povzročijo oksidacijski stres, kot tudi pri zaščiti krmil med skladiščenjem. Antioksidativna kapaciteta je posledica skupnega delovanja različnih antioksidantov (vitaminov C in E, polifenolov, karotenoidov,...).

V diplomski nalogi smo z weendsko analizo določili vsebnost hranljivih snovi (surov pepel, surove maščobe, surove beljakovine, surove vlaknine in brezdušični izvleček) v 8 vzorcih ječmena in 10 vzorcih pšenice da bi ugotovili ali različna rastišča in načini pridelave vplivajo na vsebnosti hranljivih snovi. Pri tem smo ugotovili, da se vsebnost hranljivih snovi v ječmenu in pšenici razlikuje, nismo pa potrdili, ali rastišča in način pridelave vplivata na njihovo vsebnost.

Nekaterim krmilom in krmnim mešanicom, ki se uporabljajo v prehrani živali, samo z aparatom Photochem izmerili antioksidativno kapaciteto v vodi in maščobi topnih antioksidantov. Pri tem smo želeli ugotoviti, ali se antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v posameznih žitih (ječmenu in pšenici) razlikuje zaradi načina pridelave in območja rasti, kakšno antioksidativno kapaciteto imajo analizirana krmila (sončnične in repične tropine, ribja moka,...) ter ali se antioksidativna kapaciteta v vodi in v maščobi topnih antioksidantov v krmnih mešanicah razlikuje glede na postopke obdelave (peletiranje, termična obdelava). Pri tem smo ugotovili, da imajo različna žita, krmila in krmne mešanice različno antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov ter da na antioksidativno kapaciteto v vodi in v maščobi topnih antioksidantov lahko vpliva postopek obdelave krmne mešanice. Nismo pa potrdili hipoteze, da območje rasti in načini pridelave vplivajo na vsebnost antioksidativne kapacitete v posameznih krmilih. Za bolj natančno potrditev vpliva rastišč, kolobarja, gnojenja, načina pridelave, vremenskih vplivov na vsebnost antioksidantov v posameznih krmilih bi bile potrebne nadaljnje večletne raziskave, s katerimi bi pridobili natančno definirane vzorce krmil (vpliv vremena, gnojenja, sončnega obsevanja, sorte, sušenja, skladiščenja in tudi staranja), s katerimi bi lahko bolj natančno potrdili razlike v vsebnosti antioksidantov.

7 VIRI

- Abram V. 2000. Antioksidativno delovanje flavonoidov. V: Antioksidanti v živilstvu, 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26-27 okt. 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23-32
- Batič M., Raspor P. 2000. Kvasna biomasa kot vir antioksidativnih snovi. V: Antioksidanti v živilstvu, 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26-27 okt. 2000. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 67-75
- Bavec M. 2001. Ekološko kmetijstvo. Ljubljana, Kmečki glas: 9
- Bavec M. 2004. Ekološka živila - tržna priložnost v Sloveniji. V: Varnost živil, 22. Bitenčevi živilski dnevi, Radenci, 18-19 mar. 2004. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 153-171
- Belitz H.D., Grosch W. 1999. Food chemistry. 2nd ed. Berlin, Springer: 992 str.
- Cigić B., Rudan Tasič D. 2006. Antioksidanti in prooksidanti. V: Karcinogene in antikarcinogene komponente v živilih, 24. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 9-10 nov. 2006. Gašperlin L., Žlender B. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 103-116
- Fardet A., Rock E., Rémés C. 2008. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? *Journal of Cereal Science*, 48: 258-267
- Frankič T., Salobir J. 2007. Antioksidanti v prehrani živali. V: Zbornik predavanj 16. mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali, "Zdravčevi-Erjavčevi dnevi, Radenci, 8-9 nov. 2007. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 27-40
- Fuhrman B., Aviram M. 2001. Polyphenols and flavonoids protect LDL Against atherogenic modifications. V: Handbook of antioxidants. 2nd ed. Cadenas E., Packer L. (eds.). New York, Marcel Dekker, Inc.: 303-336
- Glavač I., Kočever Glavač N., Kreft S. 2007. Flavonoidi. *Farmacevtski vestnik*, 58, 4: 145-148
- Korošec L. 2000. Prosti radikali in vloga antioksidantov v bioloških sistemih. V: Antioksidanti v živilstvu, 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26-27 okt. 2000. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 11-21
- Mindell E. 1998. Hrana kot zdravilo. Ljubljana, Mladinska knjiga: 53-57
- Mindell E. 2000. Vitaminska biblija za novo tisočletje. Ljubljana, Mladinska knjiga: 94-96
- MKGP (Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano). Kaj je ekološko kmetijstvo? http://www.mkgp.gov.si/si/o_ministrstvu/direktorati/direktorat_za_kmetijstvo/starasektor_za_sonaravno_kmetijstvo/oddelek_za_kmetijstvo_in_okolje/kmetijsko_okoljska_placila/ekolosko_kmetovanje/ekolosko_kmetijstvo_dejstva_in_podatki/1_kaj_je_ekolosko_kmetijstvo/ (15. avg. 2011)

- MKGP (Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano). 2007. Integrirana pridelava v Sloveniji.
www.mkgp.gov.si/fileadmin/mkgp.gov.si/pageuploads/Promocija/integrPridelava.pdf
(15. avg. 2011)
- Mühleib F. 1999. Vitamini: za zdravje in dobro počutje. Bricelj A. (prev.). Ljubljana, DZS0: 116 str.
- Orešnik A., Kermauner A. 2009. Osnove prehrane živali. Učbenik. Slovenj Gradec, Kmetijska založba: 15-17
- Pirman T., Orešnik A. 1999. Kemična sestava nekaterih žitnih in koruznih sort, pridelanih v Sloveniji. Zbornik Biotehniške fakultete, 74: 15-25
<http://aas.bf.uni-lj.si/zootehnika/74-1999/vseb74-2.htm> (18. sep. 2011)
- Popov I, Lewin G. 1999. Photoluminiscent detection of antiradical activity. IV. Antioxidant characteristics of human blood plasma, low density lipoprotein, serum albumin and amino acids during in vitro oxidation. Luminiscence, 14: 169-174
- Popov I.N., Lewin G. 1996. Photoluminiscent detection of antiradical activity, IV: testing of lipid-soluble antioxidants. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 31: 1-8
- Pravilniku o integrirani pridelavi poljščin. Ur. l. RS 10-438/04
- Prior R.L., Wu X., Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 4290-4302
- Raspor P., Kovač B., Barič M., Berglez D. 2000. Bioproceni pridobivanja antioksidantov. V: Antioksidanti v živilstvo, 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26-27 okt. 2000. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 53-64
- Rezar V., Pajek T., Marinšek Logar R., Ješe Janežič V., Salobir K., Orešnik A., Salobir J. 2003. Wheat bran and oat bran effectively reduce oxidative stress induced by high-fat diets in pigs. Annals of Nutrition and Metabolism, 47: 78-84
- Rijken J.P., Wiseman S.A., Wesgerber, U. M., van Mierlo C.A.J., Quinlan P. T., van de Put F., Balentine D.A., Paetau-Robinson I. 2002. Antioxidant and other properties of green and black tea. V: Handbook of antioxidants 2nd ed. Cadenas E., Packer L. (eds.). New York, Marcel Dekker, Inc.: 371-399
- Salobir K. Antioksidanti v živilih – vpliv na zdravje. 2000. V: Antioksidanti v živilstvo, 20. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 26-27 oktober 2000. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 287-287
- Slavin J. 2004. Wholegrains and human health. Minnesota, University of Minnesota, Department of food science and nutrition: 99-101

Slavin L. J., Martini C. M., Jacobs R. D., Marquart J., Marquart L. 1999. Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. *American journal of clinical Nutrition*, 70, 3: 459S-463S <http://www.ajcn.org/content/70/3/459S.full> (13. avg. 2011)

ZAHVALA

Zahvaljujem se svoji mentorici, doc. dr. Vidi Rezar in svoji somentorici, dr. Alenki Levart, za vso strokovno pomoč, nasvete in potrpežljivost pri nastajanju diplomske naloge.

Zahvaljujem se tudi ge. Sabini Knehtl za vso pomoč preko celega študijskega obdobja.

Hvala tudi vsem neimenovanim, ki so kakor koli prispevali k nastajanju diplomskega dela.