

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Maja MARIČ

**BIOLOŠKA VREDNOST BELJAKOVIN BUČNIH POGAČ PO
DODATKU ENE ALI VEČ LIMITIRAJOČIH AMINOKISLIN**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**BIOLOGICAL VALUE OF PUMPKIN SEED CAKE PROTEIN
AFTER LIMITING AMINO ACIDS SUPPLEMENTATION**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija kmetijstvo – zootehnika. Opravljeno je bilo na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Poskus je bil opravljen v prostoru za poskuse na laboratorijskih živalih na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko, kemijske analize pa v kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorico diplomskega dela imenovala doc. dr. Tatjano Pirman.

Recenzent: prof. dr. Andrej Orešnik

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Ivan ŠTUHEC
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: doc. dr. Tatjana PIRMAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Andrej OREŠNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora: 21. december 2009

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

Maja Marič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 636.084/.087(043.2)=163.6
- KG živinoreja/prehrana živali/bučne pogače/biološka vrednost/ beljakovine/
aminokisliline/laboratorijske podgane
- KK AGRIS Q54
- AV MARIČ, Maja
- SA PIRMAN, Tatjana (mentorica)
- KZ SI-1230 Domžale, Groblje 3
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- LI 2009
- IN BIOLOŠKA VREDNOST BELJAKOVIN BUČNIH POGAČ PO DODATKU
ENE ALI VEČ LIMITIRAJOČIH AMINOKISLIN
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP VIII, 39 str., 9 pregl., 21 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V raziskavi smo proučevali biološko vrednost beljakovin ob dodatku limitirajočih aminokislin. Lizin in metionin sta prvi limitirajoči aminokislini v beljakovinah bučnih pogač. V poskus smo vključili 16 (4 skupine po 4 živali) mladih, laboratorijskih podgan in določili kakovost beljakovin bučnih pogač, ki smo jim dodali lizin, metionin ali obe aminokislini. Živali smo namestili v individualne metabolne kletke s prostim dostopom do vode in krme. V kontrolni skupini (K) so bile edini vir beljakovin bučne pogače. Pri ostalih skupinah pa so bile v krmno mešanico dodane tudi limitirajoče aminokisliline. Pri prvi poskusni skupini (L) smo v krmno mešanico dodali lizin, pri drugi (M) metionin in pri zadnji (L+M) obe aminokislini skupaj. Med petdnevnim poskusom smo spremljali telesno maso, zauživanje krme ter ločeno zbirali blato in seč. Statističnih razlik v zaužiti krmi ter v končni telesni masi med skupino K in testnimi skupinami ni bilo. Prirast in učinkovitost zauživanja krme sta se statistično značilno povečala ($P < 0,05$) v skupini L+M, v ostalih dveh testnih skupinah pa ne. Navidezna in prava prebavljivost sta bili podobni v vseh skupinah, v povprečju sta znašali 88,47 % in 93,69 %. Biološka vrednost beljakovin (K=56,62; L=59,71; M=58,78; L+M=61,68) in neto izkoristljivost beljakovin (K=53,10; L=56,33; M=55,01; L+M=57,38) sta se po dodatku aminokislin v krmno povečali. Največja in statistično značilna razlika ($P < 0,05$) je bila v skupini L+M. Razmerje izkoriščanja beljakovin (PER) se je iz 1,3 g pri skupini K povečalo na 1,75 g in 1,70 g pri L in M skupinah do 2,2 g pri L+M skupini, pri kateri je bila razlika statistično značilna ($P < 0,05$).

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 636.084/.087(043.2)=163.6
- CX animal production/animal nutrition/pumpkin cake/biological value/proteins/
amino acids/laboratory rats
- CC AGRIS Q54
- AU MARIČ, Maja
- AA PIRMAN, Tatjana (supervisor)
- PP SI-1230 Domžale, Groblje 3
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science
- PY 2009
- TI BIOLOGICAL VALUE OF PUMPKIN SEED CAKE PROTEIN AFTER
LIMITING AMINO ACIDS SUPPLEMENTATION
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO VIII, 39 p., 9 tab., 21 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB In the experimental study we examined biological value of pumpkin seed cake protein after limiting amino acid supplementation. Lysine and methionine are the first and the second limiting amino acids in pumpkin seed cake protein. Nutritive value of pumpkin seed cake protein after lysine and methionine amino acid addition was determined in the experiment on 16 young laboratory rats (4 groups by 4 animals), housed in individual balance cages and fed *ad libitum* either control diet (C) or diet with added lysine (L), or methionine (M), or both amino acids (L+M). During the five day experimental period, urine and faeces were collected and the amount of consumed diet and body weight of the animals were registered. There was no statistically significant difference in the final body weight and diet consumption. Growth rate and efficiency of diet consumption were statistically significantly higher ($P < 0.05$) in L+M group. The apparent and true protein digestibility was similar in all groups, on average 88.47 % and 93.69 %, respectively. Protein biological value (K=56.62; L=59.71; M=58.78; L+M= 61.68) and net protein utilisation (K=53.10; L=56.33; M=55.01; L+M= 57.38) were increased after the addition of amino acids, but the values were significantly higher ($P < 0.05$) only in L+M group. Protein efficiency ratio was increased from 1.53 g in the group K to 1.75 g, 1.70 g and 2.12 g in groups L, M and L+M, respectively. Statistically significant ($P < 0.5$) difference was in L+M group as compared to the K group.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key word documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Okrajšave in simboli	VII I
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 PRIDELOVANJE IN UPORABNOST BUČ	2
2.2 BUČE GOLICE	3
2.2.1 Semena golic	3
2.2.2 Olje golic	5
2.2.2.1 Pridobivanje olja	5
2.2.2.2 Kemijske lastnosti olja	6
2.3 BUČNE POGAČE	6
2.3.1 Kemijska sestava in hranilna vrednost bučnih pogač	6
2.3.2 Uporaba bučnih pogač v prehrani živali	9
2.3.3 Primerjava bučnih pogač z ostalimi beljakovinskimi krmili	10
2.3.3.1 Krmila rastlinskega izvora	10
2.3.3.2 Krmila živalskega izvora	11
2.4 URAVNAVANJE AMINOKISLINSKE SESTAVE OBROKOV	12
2.5 METODE ZA OCENJEVANJE KAKOVOSTI BELJAKOVIN	14
2.5.1 Navidezna in prava prebavljivost beljakovin	15
2.5.2 Biološka vrednost beljakovin (Biological value – BV)	15
2.5.3 Neto izkoristljivost beljakovin (NIB) (Net protein utilization-NPU)	16
2.5.4 Razmerje izkoriščanja beljakovin (Protein efficiency ratio-PER)	17
2.5.5 Kemijski indeks (Chemical score - CS)	17
2.5.6 Indeks esencialnih aminokislin (The essential amino acid index - EAAI)	17

2.6	IZBOLJŠANJE KAKOVOSTI BELJAKOVIN Z DODATKOM LIMITIRAJOČIH AMINOKISLIN	18
3	MATERIAL IN METODE	19
3.1	MATERIAL	19
3.1.1	Opis metabolnega poskusa	19
3.1.2	Krmne mešanice	20
3.2	METODE	21
3.2.1	Kemijske analize	21
3.2.1.1	Weendska analiza	21
3.2.1.2	Analiza mineralnih snovi	22
3.2.2	Potek biološkega testa	23
3.2.3	Izračuni	24
3.2.3.1	Količina zaužite krme in prirast	24
3.2.3.2	Količina zaužitega, izločenega in endogenega dušika ter bilanca dušika	24
3.2.3.3	Prebavljivost, biološka vrednost, neto izkoristljivost beljakovin in razmerje izkoriščanja beljakovin	24
3.2.4	Statistična analiza	25
4	REZULTATI	26
4.1	KRMNE MEŠANICE	26
4.2	TELESNA MASA IN PRIRAST ŽIVALI TER KONZUMACIJA KRME	27
4.3	KOLIČINA ZAUŽITEGA IN IZLOČENEGA DUŠIKA TER BILANCA	28
4.4	PREBAVLJIVOST BELJAKOVIN	29
4.5	KAKOVOST BELJAKOVIN	29
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	31
5.1	RAZPRAVA	31
5.2	SKLEPI	35
6	POVZETEK	36
7	VIRI	38
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Pregl. 1: Povprečna kemijska sestava bučnih pogač v 1 kg suhe snovi (Pirman in sod., 2004a: 198)	7
Pregl. 2: Povprečna aminokislinska sestava bučnih pogač (g AK/100 g SB) (Pirman in sod., 2004a: 199)	8
Pregl. 3: Hranilna vrednost beljakovin v krmi za laboratorijske podgane (prirejeno po McDonalds in sod., 2002: 585)	11
Pregl. 4: Sestava krmnih mešanic	20
Pregl. 5: Kemijska analiza krmnih mešanic	26
Pregl. 6: Telesna masa, količina zaužite krme, prirast	27
Pregl. 7: Količina zaužitega in izločenega dušika ter bilanca dušika	28
Pregl. 8: Navidezna in prava prebavljivost surovih beljakovin (SB)	29
Pregl. 9: Biološka vrednost beljakovin, neto beljakovinski izkoristek (NIB), razmerje izkoriščanja beljakovin (PER)	29

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

SB	surove beljakovine
BV	biološka vrednost beljakovin (biological value)
NIB	neto izkoristljivost beljakovin (net protein utilization)
PER	razmerje izkoriščanja beljakovin (protein efficiency ratio)
NP	navidezna prebavljivost
PP	prava prebavljivost

1 UVOD

V severovzhodni Sloveniji in posameznih predelih Avstrije, Hrvaške in Madžarske je pridelava oljnih buč in pridobivanje bučnega olja razširjena dejavnost. Pomembna sta predvsem dva proizvoda: bučno olje in bučne pogače, ki so ostanek po iztiskanju olja. Bučno olje je cenjeno v kulinariki, bučne pogače pa uporabljajo v prehrani živali kot bogato beljakovinsko in energetska krmilo.

Slovenija je uvoznik beljakovinskih krmil rastlinskega izvora, saj pogojev za gospodarno pridelovanje teh krmil nimamo. Zato je potrebno preučiti hranilno vrednost in lastnosti beljakovin v doma pridelanih poljščinah, da jih bomo lahko čim bolj učinkovito vključevali v obroke in krmne mešanice za živali. Bučne pogače so primer iskanja možnih rešitev. Če bomo bolje poznali njihovo kemijsko sestavo in hranilno vrednost, jih bomo lahko uporabljali bolj učinkovito.

O lastnostih bučnih pogač obstaja v strokovni literaturi zelo malo podatkov. V preteklosti so na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete že izvedli metabolni poskus, rezultat katerega je bila določitev biološke vrednosti beljakovin iz bučnih pogač v 5 definiranih vzorcih. Biološka vrednost beljakovin se je gibala med 54 in 70 %. Določen problem predstavljajo tudi maščobe, ki ostajajo po iztiskanju olja v bučnih pogačah. Ob dodatku ustreznih aminokislin bi lahko biološko vrednost beljakovin izboljšali in tako povečali učinkovitost uporabe bučnih pogač v prehrani živali.

Namen dela je bil z metabolnim poskusom določiti prebavljivost, neto beljakovinski izkoristek in PER vrednost beljakovin bučnih pogač ob dodatku ene ali več limitirajočih aminokislin. Predpostavljamo, da dodatek limitirajočih aminokislin poveča kakovost beljakovin in s tem izboljša hranilno vrednost beljakovin bučnih pogač.

2 PREGLED OBJAV

2.1 PRIDELOVANJE IN UPORABANOST BUČ

Buče so v 15. stoletju, iz Srednje Amerike v Evropo pripeljali Španci. Arheološka izkopavanja v Mehiki so pokazala, da so buče uporabljali že v sedmem tisočletju pred našim štetjem (Kocjan Ačko, 1999).

Sprva so buče sejali za okras, v vrtu pa so plodove začeli pridelovati v srednji Italiji. S selekcijo se je večala uporabnost buč, zato se je pridelava širila v zmerno topla območja Evrope. V 18. stoletju je postala buča vse pomembnejša krmna rastlina za domače živali, zlasti prašiče. Stiskanje olja iz semen se je razširilo šele na začetku 19. stoletja. K nam so jih začeli uvajati v 18. stoletju. Naši predniki so buče cenili zaradi vsestranske uporabnosti v prehrani ljudi in živali (Kocjan Ačko, 1999).

Buče zelo dobro uspevajo na humusnih tleh in na kompostnem kupu. Včasih so jih gojili v vrtovih ali kot dosevek na koruznih poljih in šele pozneje so se razvile v samostojno kulturo, ki jo gojijo na velikih njivskih površinah. Večina vrst se vrežasto razrašča, nekatere so enoletnice, druge trajnice. Vse vrste so zelo občutljive na mraz (Hellmiß, 1999; Kocjan Ačko, 1999).

Družina bučnic je zelo številna, obsega 118 rodov, v katerih je razdeljenih 825 vrst. Bučnice razvijejo razmeroma velike plodove tudi z maso 30 do 50 kilogramov pri bučah velikankah. V semenih je olje. Za prehrano uporabljamo predvsem plodove, pri nekaterih vrstah pa tudi poganjke, liste in cvetove (Černe, 2000).

V svetu poteka pridelava buč na približno 800.000 hektarjih njiv, največ v Evropi in Aziji, z različnimi nameni uporabe plodov oziroma semen (Kocjan Ačko, 1999). V Sloveniji letno pridelamo od 500 do 700 ton bučnih semen, od tega je 70 % semen brez luščin in 30 % z luščinami. Več kot polovico olja predelajo v severovzhodni Sloveniji, v lokalnih mlinih, ki nimajo enotne tehnologije predelave. Največ razlik je v mletju, temperaturi, trajanju praženja in deloma v stiskanju (Babnik in Verbič, 2001).

Glavni delež buče predstavlja meso, pridelamo ga od 50 do 80 t/ha. Meso se uporablja za krmljenje živali. V nekaterih predelih sveta iz mesa buč pripravijo različne jedi, lahko pa tudi kot osnovno sestavino gostih kašastih sokov v industriji gostih sokov. Hranljivi in zdravi so tudi bučni kalčki (Topolovec, 1987; Kocjan Ačko, 1999).

V Sloveniji smo tradicionalni porabniki bučnega olja. V naših ekoloških razmerah so se najbolj prilagodile buče golice v čistih posevkih z mehaniziranim načinom spravila (Topolovec, 1987).

2.2 BUČE GOLICE

V družini bučnic (*Cucurbitaceae*) so žlahnitelji vzgojili sorte in hibride za olje, kot je štajerska golica (*Cucurbita pepo* Linné. convar. *citrullina* var. *styriaca* GREB), katere semena se od navadnih semen razlikujejo po tem, da so prevlečena z neolesenelo semensko luščino. Vzgoja buč golic ima veliko prednost pri pridobivanju olja, saj naporno luščenje bučnih pešk ni več potrebno. V teh bučah je večje število semen kot v tistih, ki imajo semena v debelih luščinah. Za več kot 50 % je povečana tudi količina olja v posamezni peški (Hellmiß, 1999).

Štajerske golice gojijo v Avstriji na okrog 10.000 hektarjih površine. Približno enaka (skupna) površina je zasejana na Madžarskem in Hrvaškem ter v Sloveniji in Romuniji (Hellmiß, 1999).

2.2.1 Semena golic

Semena buč golic so prevlečena z neolesenelo semensko luščino. Štiri zunanje plasti pri tej posebni zvrsti buč niso olesenele in odebeljene, tako kot so sicer pri drugih vrstah. Seme je prevlečeno s tanko kožico in barva z notranje strani preseva na zunanjo stran. Zato ima peška značilno olivno do temno zeleno obarvan videz. Bučne peške z olesenelo luščino pa so belkaste barve (Hellmiß, 1999).

Bučna jedra, predvsem jedra golic imajo širšo uporabno vrednost. V človeški prehrani se uporabljajo tudi v sveži ali predelani obliki in v kombinaciji z drugimi živili, omogočajo zdravo naravno prehrano ali prehrano za posebne terapevtske namene. Bučna

jedrca uspešno zamenjujejo orehe, lešnike in arašide, tako sveža kot tudi v pekovskih in slaščičarskih izdelkih. Zaradi vsebnosti velike količine encimov in alkaloidov jih uporabljajo v farmaciji za pridobivanje teh organskih snovi (Topolovec, 1987).

Za zdravje sta koristni tudi aminokislini cucurbitin, ki uničuje črevesne zajedavce in citrulin, ki organizmu pomaga pri nastajanju sečnine. Na ta način se iz telesa izloči predvsem amoniak, ki nastaja pri presnovi beljakovin. Povečano dodajanje citrulina v obliki bučnih pešk in bučnega olja je priporočljivo pri težavah zaradi edemov (Hellmiß, 1999).

Zrelo posušeno seme vsebuje 25 do 30 % beljakovin in 35 do 55 % maščob. Od maščobnih kislin vsebuje 20 do 30 % enkrat nenasičene oleinske kisline, 45 do 65 % večkrat nenasičene linolne kisline, 5 % stearinske kisline in 10 do 15 % palmitinske kisline. Ogljikovih hidratov vsebuje 4 do 8 % in 2 do 4 % vlaknin. Makrorudnin in mikrorudnin je 4 do 5 %, najbolj so zastopani kalij, kalcij, fosfor, magnezij, železo, baker, mangan, cink in selen. V 100g bučnih pešk je okrog 500 do 610 kcal energije (Kocjan Ačko, 1999).

Seme je bogato z vitamini. Vsebuje vitamine A, B₁, B₂, B₆, C, D in E. Vitamin A je v obliki luteina, kriptoksantina in beta karotina. Vitamin E je v bučnih semenih v obliki α - in γ - tokoferola. V gramu bučnih semen je 37,5 μ g α -tokoferola in 383 μ g γ -tokoferola. Najbolj aktivna je spojina α -tokoferol. Vsem tokoferolom je skupna funkcija oksidacijske zaščite celic v organizmu. Celice ščitijo pred napadi prostih radikalov in agresivnih molekul kisika, ki jih lahko poškodujejo in s tem izzovejo poškodbe na koži, mišicah in drugih tkivih, vse do pojavov prehitrega staranja in rakastih obolenj (Murkovic in sod., 2004; Hellmiß, 1999).

Gram bučnih pešk vsebuje okoli 2,2 mg delta-7-sterolov, ki spadajo v skupino fitosterinov. To je najpomembnejša učinkovina v peškah za zdravljenje bolezni prostate (Hellmiß, 1999).

2.2.2 Olje golic

Seme buč golic vsebuje 48 do 55 % maščob. To pomeni, da iz ene tone bučnic lahko iztisnemo približno 500 litrov čistega olja temne, zeleno rjave barve imenovanega tudi golično olje. Olje je pridelano brez kemične obdelave, torej ni rafinirano, zato vsebuje vse naravne sestavine jedrc (Kocjan Ačko, 1999; Topolovec, 1987).

Bučno olje je varovalno živilo in vir zdravih hranil. Z antioksidativnim delovanjem zagotavlja zaščito celic, varuje organizem pred boleznimi srca in ožilja, ter izboljšuje plodnost. V njem so ohranjena naravna barvila, dišavne snovi in encimi. Zato ga uvrščamo med delikatesna olja. V primerjavi s sončničnim oljem se bučno olje hitreje kvari (Hellmiß, 1999; Kocjan Ačko, 1999).

2.2.2.1 Pridobivanje olja

Seme buč za olje odstranijo od mesa strojno ali ga odplaknejo z vodo. Zaradi prisotnosti sluzi, ki ovira sušenje, bučnice pred sušenjem operejo in odcedijo. Sveže seme vsebuje 50-60 % vlage. Da se seme ne pokvari, mu je treba dovolj hitro odvzeti vlago. Peške sušijo v posebnih sušilnikih pri 50 do največ 60°C. Prekoračitev te temperature in daljši čas sušenja lahko zmanjšata kakovost semen za praženje in iztiskanje olja (Kocjan Ačko, 1999). Pri tem se vsebnost vode v peškah v 12 urah zniža na vsega nekaj odstotkov (Hellmiß, 1999). Pri sušenju golic je pomembno, da pri semenih ne odpade zelena povrhnjica, ki daje olju značilno barvo in okus (Kocjan Ačko, 1999).

Osušene peške grobo zmeljejo z dodatkom vode in soli, nato pa zgnetejo v gosto kašo. Kašo pražijo pri 60 do največ 70°C. Praženje traja približno pol ure, tako da izpari prisotna voda. Poteka v velikih ponvah in je odločilno za okus bučnega olja. Kadar je temperatura previsoka, zadiši po prežganem toastu in olje nima več pravega okusa (Hellmiß, 1999).

Spraženo maso naložijo v stiskalnico med kovinske plošče, kjer dosežejo pritisk med 300 in 350 bari. Pri tem temperatura v masi ne sme prekoračiti 60°C. Delčki snovi, ki lebdiijo v pridobljenem olju, se po kakšnem tednu dni usedejo na dno soda, ali pa jih s filtri takoj odstranijo (Hellmiß, 1999).

2.2.2.2 Kemijske lastnosti olja

V bučnem olju je 90 % maščob. Vsebuje velik delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin, med katerimi s 63 % prevladujeta oleinska in linolna kislina, stearinske in palmitinske pa je približno 27 %. Olje vsebuje 30 % enkrat nenasičenih kislin in 10 % nasičenih maščobnih kislin (Kocjan Ačko, 1999; Topolovec, 1987).

Energijska vrednost bučnega olja je 900 do 920 kcal/100g maščobe. S 30 mg vitamina E, predvsem v obliki γ -tokoferola na 100g bučnih pešk je bučno olje dober vir vitamina E (Kocjan Ačko, 1999; Hellmiß, 1999).

2.3 BUČNE POGAČE

Bučne pogače so odlični beljakovinsko bogati ostanki po stiskanju olja iz semen buč. Primerne so tudi za človeško prehrano. Iz polnovredne pšenične moke ter posušenih in zmletih pogač lahko spečemo poseben dietetični kruh. V preteklosti pa so bučne pogače grizljali otroci na poti v šolo, med igro ali kmečkimi opravili (Kocjan Ačko, 1999).

2.3.1 Kemijska sestava in hranilna vrednost bučnih pogač

Bučne pogače vsebujejo velik delež beljakovin, ki se giblje tudi preko 600 g/kg suhe snovi. Vsebnost surovih maščob variira predvsem v odvisnosti od tehnologije iztiskanja olja iz semen. V preglednici 1 je prikazana povprečna kemijska sestava petih vzorcev bučnih pogač, ter minimalne in maksimalne vrednosti. Količina surovih maščob je po rezultatih Pirman in sod. (2004a) precej variabilna, med 98,61 g/kg in 197,10 g/kg suhe snovi bučnih pogač. Podobno variabilnost je ugotovila tudi Svenšek (2001), med 57,66 g/kg in 191,19 g/kg suhe snovi. Do podobne variabilnosti v vsebnosti surovih maščob (87 g/kg do 201 g/kg suhe snovi) sta prišla tudi Babnik in Verbič (2001). Poleg tega pa sta ugotovila veliko variabilnost v vsebnosti surove vlaknine (36 g/kg do 126 g/kg suhe snovi), kar je bilo odvisno od barve bučnih pogač. Temnejše so imele več surove vlaknine. Veliko variabilnost je opaziti tudi pri vsebnosti surovega pepela in s tem posameznih rudninskih snovi. Bučne pogače vsebujejo veliko fosforja, poleg tega tudi kalija in

magnezija, od mikrorudnin pa železa in cinka (Pirman in sod., 2004a; Mansour in sod., 1993). Vsebnost natrija in železa je precej variabilna (preglednica 1).

Preglednica 1: Povprečna kemijska sestava bučnih pogač v 1 kg suhe snovi (Pirman in sod., 2004a: 198)

Sestavina	Povprečje	Minimum	Maksimum
Suha snov (g/kg)	956,21	932,31	983,94
Surove beljakovine (g)	608,82	573,25	629,42
Surove maščobe(g)	140,55	98,61	197,1
Surova vlaknina (g)	43,60	38,33	47,06
Brezdušični izvleček (g)	117,80	106,78	127,9
Surovi pepel (g)	89,23	76,31	110,53
P (g)	18,95	16,32	21,64
Ca (g)	1,10	0,83	1,51
Mg (g)	8,29	7,43	8,94
K (g)	14,90	12,85	15,51
Na (mg)	5,45	0,08	16,31
Zn (mg)	157,27	126,52	194,06
Mn (mg)	83,85	70,72	95,64
Fe (mg)	301,04	175,84	578,14
Cu (mg)	24,07	22,99	25,82

Maščobe bučnih pogač vsebujejo v povprečju 15,7 % nasičenih maščobnih kislin, 35 % enkrat nenasičenih maščobnih kislin in 48 % večkrat nenasičenih maščobnih kislin. Oleinska in linolna maščobna kislina skupaj predstavljata 80 % vseh maščobnih kislin (Pirman in sod., 2004b).

V preglednici 2 je navedena povprečna koncentracija posameznih aminokislin v beljakovinah petih vzorcev bučnih pogač. Vsebnost metionina v vzorcih je bila v tej raziskavi pod mejo zaznavnosti aparature (Pirman in sod., 2004b). Zdunczyk in sod. (1999) in El-Adawy in Taha (2001) navajajo vrednosti okrog 2 g metionina v 100 g beljakovin. Za razliko od drugih rastlinskih beljakovin je vsebnost žveplo - vsebujočih aminokislin v beljakovinah bučnih pogač dokaj velika (Babnik in Verbič, 2001; Pirman in sod., 2004b). Prva limitirajoča aminokislina v bučnih pogačah je lizin (El-Adawy in Taha, 2001; Zdunczyk in sod., 1999; Pirman in sod., 2004b). Mansour in sod. (1993) pa navajajo kot prvi limitirajoči aminokislini izoleucin in valin, kot tretjo pa treonin.

Preglednica 2: Povprečna aminokislinska sestava bučnih pogač (g AK/100 g SB) (Pirman in sod., 2004a)

Amino kislina	Povprečje ± SD
Treonin	3,92 ± 0,29
Valin	5,51 ± 0,39
Izolevcin	3,86 ± 0,28
Levcin	6,75 ± 0,30
Cistein	1,51 ± 0,17
Fenilalanin	4,89 ± 0,24
Tirozin	2,51 ± 0,31
Lizin	3,09 ± 0,21
Arginin	13,93 ± 0,71
Histidin	2,26 ± 0,10
Alanin	4,38 ± 0,23
Asparaginska kislina	8,21 ± 0,33
Glutaminska kislina	18,36 ± 0,61
Glicin	5,31 ± 0,19
Prolin	3,75 ± 0,41
Serin	4,96 ± 0,36
Vsota	93,01

Mansour in sod. (1993) so v svoji raziskavi produktov bučnih semen, ki so vsebovali med 720 g in 960 g surovih beljakovin (SB) na kilogram suhe snovi, ugotovili zelo dobro prebavljivost beljakovin (med 87,78 % in 96,83 %) ter veliko biološko vrednost (med 72,65 % in 86,49 %). Pirman in sod. (2004b) so na petih vzorcih bučnih pogač, ki so vsebovale povprečno 608,8 g (med 562,3 g in 659,5 g) SB na kilogram suhe snovi, izmerili podobno prebavljivost (med 87,5 % in 90,1 %) in precej manjšo biološko vrednost (med 54 % in 69,2 %). Nižja biološka vrednost je posledica drugačne aminokislinske sestave bučnih pogač, kot pri raziskavi Mansourja in sod. (1993).

Bučne pogače so po biološki vrednosti (0,73–0,86) podobne ostalim ostankom po stiskanju olja (Mansour in sod., 1993). Kemijski indeks (0,46) je nekoliko nižji od indeksa sojine moke (Zdunczyk in sod., 1999). Svenšek (2001) je pri analizi kakovosti beljakovin bučnih pogač izračunala neto izkoristljivost beljakovin med 48 % in 61 %, razmerje izkoriščanja beljakovin (PER) pa med 1,6 in 1,9 g. PER vrednosti so višje, kot jih navajajo Zdunczyk in sod. (1999), ki so v svoji raziskavi izračunali PER 1,01 g in pripisujejo glavni razlog za nizko vrednost pomanjkanju lizina kot prve limitirajoče aminokislinae. V istem poskusu so dokazali, da se kakovost beljakovin bučnih pogač ob dodatku drugih virov beljakovin zviša. Bučne pogače kombinirane s sojinimi tropinami, ki vsebujejo veliko lizina, so podgane izrabile učinkoviteje. Prebavljivost in razmerje izkoriščanja beljakovin sta bili primerljivi s PER vrednostjo sojinih tropin.

2.3.2 Uporaba bučnih pogač v prehrani živali

Bučne pogače so primerne za krmljenje prežvekovalcev. Njihova beljakovinska vrednost je visoka, toda variabilna. Variabilnost je posledica temperature in časa praženja semen pred stiskanjem olja. Bučne pogače so za prežvekovalce dober vir žveplo - vsebujočih aminokislin (Babnik in Verbič, 2001). Luščene bučne pogače so visoko prebavljive in krave jih radi uživajo. Ugodno vplivajo na vsebnost maščobe v mleku in imajo ugoden dietetski učinek (Žgajnar, 1990).

Z njimi krmimo tudi prašiče. Pogače dodajo h koruzni silaži ali v mešanice za krmo v količini 15–30 %, odvisno od kakovosti osnovne krme. Prav dobro so se izkazale tudi v prehrani perutnine (Kocjan Ačko, 1999; Stekar, 1985).

Temeljno pravilo pri pokladanju pogač prašičem in perutnini je, da moramo dopolnjevati njihovo aminokislinsko sestavo. Čeprav so bučne pogače, v primerjavi z ostalimi rastlinskimi krmili, bogate z žveplo - vsebujočimi aminokislinami, le teh za potrebe prašičev in perutnine v obrokih še vedno primanjkuje. Največkrat primanjkuje cistina in metionina, kot tudi lizina. Izravnavo lahko dosežemo s sintetično pridobljenimi aminokislinami. Če te izravnave oziroma dopolnitve ni, živali slabše priraščajo, prireja se na sploh zmanjša in v telesu se nalaga več maščobnega tkiva (Stekar, 1985).

Pogače lahko precej zvišajo energetske vrednosti obroka, zlasti, če je vsebnost olja v njih visoka. Vsebnost olja je odvisna od uporabljenega postopka pri pridobivanju olja in njegove učinkovitosti. To pomeni, da imajo lahko pogače iz različnih oljarn različno hranilno vrednost. Nekontrolirana uporaba pogač, ki vsebujejo precej olja lahko povzroči prebavne motnje, če vsebuje olje veliko nenasičenih maščobnih kislin. Mlečna in telesna maščoba lahko postaneta mehkejši, posledično se zmanjša tudi kakovost klavnih polovic (Stekar, 1985).

2.3.3 Primerjava bučnih pogač z ostalimi beljakovinskimi krmili

2.3.3.1 Krmila rastlinskega izvora

Cela vrsta rastlin daje semena ali plodove, ki vsebujejo veliko maščob. Pri pridobivanju olja iz soje, sončnic, buč, sezama, bombaža, arašidov, palmovih zrn in kokosa ostaja precej stranskih produktov. Med predelavo v celoti ali delno odstranimo maščobo. Ostaja nam stranski proizvod, ki vsebuje malo maščobe ali je skoraj ne vsebuje več. Vsebuje veliko surovih beljakovin in so eden od najpomembnejši virov beljakovin v obrokih za prašiče (Stekar, 1987).

V produktih, ki nastanejo po iztiskanju olja, je kar 950 g/kg skupnega dušika v obliki pravih beljakovin. V preglednici 3 je prikazano, da je biološka vrednost beljakovin ostankov soje, bombaža in arašidov večja kot biološka vrednost ovsa in pšenice ter dosega biološko vrednost beljakovin v ribji moki. Višje PER vrednosti pomenijo, da je kakovost beljakovin dobra. Nizka vrednost kemijskega indeksa kaže na slabo uravnoteženo sestavo aminokislin v oljnih ostankih. Gre za pomanjkanje vsaj ene esencialne aminokislina. Na splošno imajo semena oljnic malo cisteina in metionina ter spremenljivo a ponavadi nizko vsebnost lizina. Rezultat je, da ne predstavljajo ustreznega dopolnila beljakovinam žitnih zrn, s katerimi jih ponavadi v obrokih kombinirajo. Kakovost beljakovin v določeni vrsti oljnih semen je relativno konstantna. V pogačah je odvisna tudi od metode iztiskanja olja. Zaradi visoke temperature in pritiska lahko beljakovine denaturirajo in s tem se zmanjša njihova prebavljivost, posledično tudi hranilna vrednost (McDonald in sod., 2002).

Preglednica 3: Hranilna vrednost beljakovin v krmi za laboratorijske podgane (prirejeno po McDonald in sod., 2002: 585)

Krma	Biološka vrednost (%)	Kemijski indeks	Razmerje izkoriščenja beljakovin (g)
Oves	65	0,46	-
Pšenica	67	0,37	1,5
Bombaževa moka	80	0,37	2,0
Arašidova moka	85	0,24	1,7
Sojina moka	75	0,49	2,3
Ribja moka	77	-	-
Mleko	85	0,69	2,8
Jajce - celo	95	1,00	3,8

2.3.3.2 Krmila živalskega izvora

Beljakovine živalskega izvora imajo na splošno prednost pred rastlinskimi, saj je njihova aminokislinska sestava bliže prehranskim potrebam živali kot pri rastlinskih beljakovinah. Vendar pa krmila živalskega izvora predstavljajo tveganje za okužbo z bakterijo *Salmonella*. Potrebna je redna kontrola vzorcev. V zadnjih letih pa predstavljajo tudi veliko nevarnost okužbe živali in posredno ljudi z BSE (bovino spongiformno encefalopatijo). Meso sesalcev in kostna moka nista primerna za krmljenje prežvekovalcev in neprežvekovalcev. Evropska skupnost je 4. decembra 2000 za vse članice Evropske unije prepovedala uporabo predelanih živalskih beljakovin v krmi za živali, ki so v reji za prehrano ljudi. Prepoved ne velja za uporabo mleka in mlečnih izdelkov. Neprežvekovalcem se lahko krmi ribja moka (McDonald in sod., 2002).

Krmila živalskega izvora so proizvodi, pridobljeni s predelavo delov živali in njihovih proizvodov, kamor spadajo: ribja moka, mesna moka, moka iz odpadkov pri klanju in predelavi perutnine, mesno – kostna in kožna moka, krvna in jetrna moka, ocvirki, mast in ribje olje, posneto mleko, sirotka, albumin, kazein idr. Živalim smo jih pokladali v majhni količini, ker navadno same po sebi niso bile namenjene kot vir beljakovin, temveč za izravnavo določenih esencialnih aminokislin v obroku. Obenem pa so bistveno prispevala

k oskrbi živali z rudninskimi snovmi in so hkrati bogat vir različnih vitaminov B-kompleksa (Štruklec in Salobir, 1991).

Vsebnost surovih beljakovin v ribji moki variira med 500 in 750 g/kg suhe snovi, vendar je beljakovinska sestava relativno konstantna. Bogata je z esencialnimi aminokislinami, še posebej z lizinom, cisteinom, metioninom in triptofanom. Ribja moka je dobro beljakovinsko dopolnilo krmnim mešanicam, ki kot glavni vir energije vsebujejo žita. Kakovost beljakovin v ribji moki je visoka, vendar je zaradi različnih postopkov pri pridelavi precej variabilna. Biološka vrednost za laboratorijske podgane se giblje med 0,36 in 0,82 (McDonald in sod., 2002). V primerjavi z biološko vrednostjo bučnih pogač je nekoliko slabša. Razlika v aminokislinski sestavi pa je v višji vrednosti lizina, metionina in cisteina pri ribji moki. Prva limitirajoča aminokislina pri bučnih pogačah je lizin, pri ribji moki pa histidin (Pirman in sod., 2004b; McDonald in sod., 2002).

2.4 URAVNAVANJE AMINOKISLINSKE SESTAVE OBROKOV

Beljakovine so visokomolekularne organske spojine zgrajene iz aminokislin. Podobno kot ogljikovi hidrati in maščobe vsebujejo ogljik, vodik in kisik, dodatno pa še dušik, žveplo in druge elemente. So sestavni del vsake žive celice in sodelujejo pri vseh procesih v njej (Štruklec in Salobir, 1991).

Sinteza beljakovin v telesu poteka iz aminokislin, ki so prišle v telo iz prebavil ali pa so nastale v presnovnih procesih v telesu. Koncentracija aminokislin v celicah se z dotokom novih aminokislin močno poveča, intenzivna je tudi izmenjava med krvjo in celularnimi aminokislinami, ne pa med prostimi aminokislinami in beljakovinami v celicah. Te beljakovine so izpostavljene razgradnji in ponovni sintezi, vendar so ti procesi različno intenzivni. Za uspešno sintezo beljakovin morajo biti prisotne vse aminokisliline, sicer sinteza ne poteka. Vzroki za to, da ponudba aminokislin ne ustreza potrebam, so lahko različni. Mednje štejemo neustrezno prehrano in konkurenčnost posameznih aminokislin pri absorpciji. Motnje v preskrbi se kažejo v manjšem zauživanju krme in slabši rasti (Žgajnar, 1990).

Rastline in veliko mikroorganizmov lahko tvorijo iz enostavnih dušikovih spojin aminokislina in iz njih beljakovine. Živali te sposobnosti nimajo, zato so odvisne od aminokislin v krmi. Določene aminokislina se v telesu lahko tvorijo iz drugih aminokislin. Tiste, ki jih telo ne more tvoriti, imenujemo nepogrešljive ali esencialne aminokislina. Mednje sodi 10 aminokislin, od katerih v krmilih za živali najpogosteje primanjkuje predvsem lizina, metionina, treonina in triptofana (Štruklec in Salobir, 1991).

Živali imajo malo zmožnosti, da shranijo aminokislina v prosti obliki. Če aminokislina ni takoj uporabljena v sintezi beljakovin, se pretvori v neesencialno aminokislina ali uporabi kot vir energije. Za učinkovito rast in dobro produktivnost je torej pomembno pravo ravnotežje esencialnih aminokislin v obroku (McDonald in sod., 2002).

Bogati viri lizina, metionina, treonina in triptofana so predvsem krmila živalskega izvora (ribja moka, mleko v prahu), krmni kvas in stročnice (soja, bob). Ker se količina oz. učinek aminokislin iz posameznih krmil v krmnih mešanicah seštevata, se potrebe živali krijejo iz vseh virov aminokislin v krmi. Tako se lahko hkrati uporabljajo bogati in revni viri neke aminokislina, da bi se zadostile potrebe živali po tej aminokislini (Štruklec in Salobir, 1991).

Potrebe prežvekovalcev in neprežvekovalcev po esencialnih aminokislinah lahko uravnavamo z uporabo dobro uravnoteženih beljakovinskih krmil, ki so ponavadi draga, ali z večjimi količinami krmil, ki sicer vsebujejo veliko beljakovin, vendar le te niso dobro uravnotežene. Za pokritje potreb po limitirajoči aminokislini s slabše uravnoteženimi beljakovinskimi krmili je potrebna večja količina le teh. Nastane problem z ostankom skupnih beljakovin, ki se deaminirajo, izloča pa se dušik. Oba procesa izrabljata energijo. Izločen dušik pa je tudi vzrok onesnaževanja okolja. Alternativa uporabi velike količine neuravnoteženih beljakovinskih krmil je dodajanje prostih, sintetičnih aminokislin. To zmanjšata skupno količino uporabljenih beljakovin v obrokih. Z izboljšano aminokislinsko sestavo je izboljšana učinkovitost uporabe energije in izgubljeno je manj dušika. Sintetične aminokislina so proizvedene industrijsko s kemijskimi in mikrobiološkimi postopki (McDonald in sod., 2002).

Esencialne aminokisliline pri odraslem govedu niso problematične, ker jih zagotavlja mikroflora s sintezo svoje biomase, nekaj pa se jih tudi izogne razgradnji v predželodcih. Pri veliki mlečnosti ali hitri rasti pa sinteza ni zadostna, zato dodajamo posamezne aminokisliline v obrok. Učinek dodajanja je seveda odvisen od številnih dejavnikov. Znana nam mora biti potreba po posameznih aminokislinah in količina posameznih aminokislin, ki se absorbira iz prebavnega trakta (Žgajnar, 1990). Monogastrične živali pa te možnosti nimajo, zato morajo vse esencialne aminokisliline v primerni količini dobiti s krmo.

2.5 METODE ZA OCENJEVANJE KAKOVOSTI BELJAKOVIN

Za ocenjevanje kakovosti beljakovin v prehrani neprežvekovalcev uporabljamo različne metode: biološke (prebavljivost, biološka vrednost-BV, neto izkoristljivost beljakovin-NIB, razmerje izkoriščanja beljakovin-PER, neto nalaganje beljakovin-NPR, produktivna vrednost beljakovin-PVB), kemijske metode (aminokislinska analiza, kemijski indeks-CS, indeks esencialnih aminokislin-EAAI, določitev izkoristljivega lizina), mikrobiološke metode in biokemični parametri kot ocena hranilne vrednosti beljakovin (Žgajnar, 1990; McDonald in sod., 2002).

Biološke metode temeljijo na vrednotenju beljakovin s pomočjo preizkusa na živalih. S tem ugotavljamo vrednost beljakovin za določeno prirejo. Ni nam znano, katera aminokislina je tista, ki prirejo omejuje ali pa je teh aminokislin več. Uporabne so, ker je prebavljivost beljakovin in aminokislin močno variabilna. V različnih beljakovinah krme so iste aminokisliline različno prebavljive in v določeni beljakovini so različne aminokisliline različno prebavljive. Biološke metode so težavne in dolgotrajne. Potrebna je tudi draga tehnična oprema (McDonald in sod., 2002; Stekar, 1987).

Kemično ugotavljanje kakovosti beljakovin nam da hitro, dokaj dobro in uporabno oceno kakovosti neke beljakovine. Te metode temeljijo na skupni aminokislinski sestavi beljakovine in ne na aminokislinah, ki so dostopne živali. Razumljivo je, da ti *in vitro* testi ne morejo v celoti nadomestiti *in vivo* preizkusov na živalih (Stekar, 1987).

2.5.1 Navidezna in prava prebavljivost beljakovin

Žival prebavi le del hranljivih snovi, ki jih zaužije, neprebavljen del pa izloči z blatom. Razlika med s krmo zaužitimi hranljivimi snovmi in v blatu izločenimi hranljivimi snovmi je prebavljena količina določene hranljive snovi. Prebavljivost dobimo, če izrazimo prebavljeno količino hranljive snovi v razmerju do zaužite količine hranljive snovi. Tako dobljeni prebavljivosti pravimo navidezna prebavljivost (Stekar, 1987; Žgajnar, 1990).

Prava prebavljivost se od navidezne razlikuje v tem, da upošteva še endogene snovi, ki so se izločile z blatom, niso pa prišle v prebavila s krmo. Sem štejemo ostanke prebavnih sokov, žolča, mukoznega tkiva, produktov izločanja v prebavni trakt, celične ostanke in metabolite mikroorganizmov. Te tako imenovane endogene sestavine blata povzročijo, da je dejansko več prebavljene, kot smo izračunali iz razlike med hranljivimi snovmi krme in hranljivimi snovmi iz blata. Pri izračunavanju navidezne prebavljivosti smo endogene hranilne snovi prišteli k hranljivim snovem blata in jih tako štejemo za neprebavljive. Za izračun prave prebavljivosti pa jih od blata odštejemo (Stekar, 1987; Žgajnar 1990).

V blatu se tudi pri obroku brez beljakovin izloča določena količina dušika. Zato je pri beljakovinah navidezna prebavljivost nekoliko manjša kot prava prebavljivost. Velikost te razlike je odvisna od količine zaužite količine beljakovin. Pri večji količini zaužitih beljakovin bo razlika manjša, ker je količina v blatu izločenega endogenega dušika pri enaki količini zaužite suhe snovi tako rekoč enaka (Stekar, 1987).

2.5.2 Biološka vrednost beljakovin (Biological value – BV)

Biološka vrednost beljakovin je sposobnost neke beljakovine, da oskrbi telo z aminokislinami, potrebnimi za tvorbo dušičnih snovi in za telesne funkcije. Definiramo jo kot delež absorbiranega dušika, ki se naloži v telesu (McDonald in sod., 2002; Stekar, 1983).

Biološka vrednost beljakovin je odvisna od njihove aminokislinske sestave. V kolikšni meri bodo beljakovine zadostile potrebam živali ni odvisno le od prebavljivosti beljakovin in absorptivnosti aminokislin, ampak tudi od tega, kako blizu sta si aminokislinska sestava krme in potrebe živali. Če manjka v krmi ena od esencialnih aminokislin, potem ne

pomaga še tako velika količina beljakovin, saj se izkoristi le tisti delež, do koder zadošča oskrba s prvo aminokislino, ki je je premalo in je ni mogoče nadomestiti z drugo aminokislino (Štruklec in Salobir, 1991).

Biološko vrednost beljakovin ugotavljamo s pomočjo standardiziranih poskusov na rastočih laboratorijskih podganah. Živali držimo v tako imenovanih metabolnih kletkah, da lahko natančno merimo in analiziramo zaužito krmo, izločeno blato in urin. Rezultati veljajo samo za nalaganje dušika pri podganah v tistem stadiju rasti, ko smo opravljali poskus. Pri drugih živalskih vrstah in drugi prireji utegne biti biološka vrednost drugačna. Pri isti živalski vrsti se biološka vrednost spremeni v kasnejšem življenjskem obdobju, ker je potreba po esencialnih aminokislinah pri starejšem organizmu manjša (Stekar, 1987).

$$BV = \frac{(NK - (NB - ENB) - (NS - ENS))}{NK - (NB - ENB)} \times 100 \quad \dots(1)$$

Legenda: NK – zaužiti dušik, NB - dušik izločen z blatom, ENB - endogene izgube dušika iz blata, NS - dušik izločen s sečem, ENS - endogene izgube dušika iz seča

Biološko vrednost izračunamo iz podatkov o zaužiti krmi, izločenem blatu in seču ter izločenim endogenim dušikom v blatu in endogenim dušikom v seču. Endogeni dušik v seču je posledica nepovratnih reakcij, ki so vključene v propadanje ter zamenjavo različnih beljakovinskih struktur in izločkov v telesu. Endogeni dušik v blatu in seču predstavlja dušik, ki je bil absorbiran in že izkoriščen v telesu, kasneje pa se je izločil (McDonald in sod., 2002).

2.5.3 Neto izkoristljivost beljakovin (NIB) (Net protein utilization-NPU)

$$NIB = \frac{BV \times PPSB}{100} \quad \dots(2)$$

Legenda: BV - biološka vrednost, PPSB - prava prebavljivost surovih beljakovin

Neto izkoristljivost beljakovin je produkt biološke vrednosti in prave prebavljivosti beljakovin. Predstavlja delež zaužitega dušika, ki se naloži v telesu. Uporablja se za rastoče živali. Dobimo ga iz razmerja med naloženim in zaužitim dušikom v prirastu (McDonald in sod., 2002; Stekar, 1983).

NIB nam pove koliko gramov telesnih beljakovin se lahko izgradi iz 100 g zaužitih beljakovin za gradnjo telesnih beljakovin iz določenega krmila (Stekar, 1983).

2.5.4 Razmerje izkoriščanja beljakovin (Protein efficiency ratio-PER)

Razmerje izkoriščanja beljakovin nam pove, koliko gramov prirasta telesne mase dosežemo iz 100g s krmo zaužitih surovih beljakovin iz krme. Ocenjevanje temelji na razmerju med prirastom in zaužitimi beljakovinami in je primerno za mlade, hitro rastoče živali (Stekar, 1983).

$$PER = \frac{\text{prirast}}{\text{zaužite SB}} \quad \dots(3)$$

PER ugotavljamo navadno pri mladih, štiri tedne starih podganah moškega spola in temelji na rasti ter zauživanju krme. Izračunane vrednosti nam lahko zelo dobro podajo relativne razlike med surovimi beljakovinami iz različnih krmil (Stekar, 1987).

2.5.5 Kemijski indeks (Chemical score - CS)

Kemijski indeks temelji na aminokislinski sestavi beljakovine. Kakovost beljakovine določa aminokislina, ki je najbolj primanjkuje v primerjavi s standardom. Standard je beljakovina celega jajca (rumenjaki + beljak), ker ima jajce največjo biološko vrednost beljakovin. Vsebnost vsake aminokislina je izražena z njenim deležem v standardu. Indeks je odvisen od aminokislina, ki je v beljakovini v najmanjšem deležu (McDonald in sod., 2002; Stekar 1983).

Kemijski indeks je primerljiv z biološko vrednostjo za podgane in ljudi. Uporaben je za uvrščanje beljakovin v skupine. Ima veliko pomanjkljivost, da ne upošteva vseh aminokislin, ki jih primanjkuje, temveč samo tisto, ki je najmanj (Stekar, 1983).

2.5.6 Indeks esencialnih aminokislin (The essential amino acid index - EAAI)

Indeks esencialnih aminokislin (EAAI) temelji na vsebnosti vseh esencialnih aminokislin v beljakovini. EAAI se dobro ujema z biološko vrednostjo. Uporaben je za predvidevanje oziroma oceno pričakovane biološke vrednosti, ko dopolnjujemo beljakovine z aminokislinami. Slabost je ta, da imajo lahko beljakovine z različnimi aminokislinami podoben ali celo isti EAAI. Različne aminokislina, ki so prisotne v neki beljakovini, so lahko različno prebavljive (Stekar, 1983).

2.6 IZBOLJŠANJE KAKOVOSTI BELJAKOVIN Z DODATKOM LIMITIRAJOČIH AMINOKISLIN

Kakovost beljakovin je odvisna od vsebnosti limitirajočih aminokislin v beljakovini. Aminokislinska sestava nekega krmila je relativno konstantna, so pa beljakovine, ki se bodo iz njih sintetizirale, odvisne od vrste živali in funkcije, ki jo bodo beljakovine opravljale. Beljakovine v krmu s primanjkljajem katerekoli aminokislina, bodo težile k nizki biološki vrednosti. Kombinacija krmila s presežkom neke aminokislina in krmila s primanjkljajem le te, bo bolj uravnotežena in bo imela višjo biološko vrednost, kot če bi krmili s posameznim krmilom. Spremembe v količini drugih aminokislin ne bodo vplivale na biološko vrednost, dokler same ne postanejo limitirajoče (McDonald in sod., 2002).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Opis metabolnega poskusa

Metabolni poskus smo izvedli na 16 laboratorijskih podganah (soj Wistar) moškega spola. Njihova povprečna masa na začetku predposkusa je bila 131 g (\pm 4,15 g). Naselili smo jih v individualne metabolne kletke. Vsaka žival je imela prost dostop do krme in vode. V prostoru je bila stalna temperatura 21°C in relativna vlažnost 40 %, kar smo dnevno preverjali s termometrom in higrometrom ter zapisovali. Prostor je bil osvetljen 12 ur dnevno, regulacija je potekala avtomatsko.

Živali smo razdelili v štiri homogene skupine glede na telesno maso. Krmne mešanice vseh skupin so vsebovale bučne pogače istega proizvajalca. Kontrolno skupino (K) smo krmili z osnovno krmno mešanico, brez dodatka aminokislin. Ostalim skupinam smo v krmno mešanico dodali aminokislino. Prva skupina (L) je dobila krmno mešanico z dodatkom lizina, druga (M) z dodatkom metionina, tretja skupina (L+M) je imela dodani obe aminokislini. Lizin in metionin predstavljata prvi dve limitirajoči aminokislini v beljakovinah bučnih pogač. Krmili smo vsak dan ob 9.00.

Poskus je trajal 14 dni. Izvedli smo ga v dveh delih: prilagoditveno obdobje (9 dni) in metabolni poskus (5 dni). Med celotnim obdobjem smo spremljali količino zaužite krme in telesno maso. Deveti dan smo začeli z metabolnim obdobjem. V času metabolnega poskusa smo ločeno zbirali blato in seč.

3.1.2 Krmne mešanice

V krmnih mešanicah (Preglednica 4) smo uporabili kot vir beljakovin bučne pogače štajerske golice iz oljarne v severovzhodni Sloveniji. Z dodatkom drugih krmil smo uravnali sestavo tako, da je zagotovila pri živalih pokritje potreb po vseh hranljivih snoveh (NRC, 1995). Krmni mešanici L smo dodali 0,6 g lizina, mešanici M smo dodali 0,55 g metionina, krmni mešanici L+M smo dodali obe aminokislini v enakih količinah kot pri skupinah L in M.

Preglednica 4: Sestava krmnih mešanic (delež posameznih komponent v %)

SKUPINA komponenta	K	L	M	L+M
Bučne pogače	21	21	21	21
Aminokislina lizin		0,06		0,06
Aminokislina metionin			0,055	0,055
Pšenični škrob	70,64	70,64	70,64	70,64
Olje	1,5	1,5	1,5	1,5
Apnenec ₃	1,25	1,25	1,25	1,25
KCl	0,1	0,1	0,1	0,1
Fe-sulfat monohidrit	0,005	0,005	0,005	0,005
Celuloza	5,00	5,00	5,00	5,00
Premiks	0,5	0,5	0,5	0,5

3.2 METODE

3.2.1 Kemijske analize

Kemijske analize krmnih mešanic so bile opravljene v kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano Oddelka za zootehniko. Weendska analiza krmnih mešanic ter vsebnosti mineralnih elementov so podani v poglavju rezultati (preglednica 6).

3.2.1.1 Weendska analiza (Orešnik in Kermauner, 2009)

- Suho snov smo določili s sušenjem vzorca pri temperaturi 103-105°C in s tehtanjem pred sušenjem in po njem. Vsebnost suhe snovi je razlika med maso svežega vzorca in maso vode.
- Vsebnost surovega pepela smo izračunali iz razlike v masi vzorca pred in po sežigu v žarilni peči pri temperaturi 550°C. Pri taki temperaturi zgore celotna organska snov, ostane pa anorganski del vzorca, to so mineralne snovi predvsem v obliki oksidov in karbonatov zraven netopnih silikatov (pesek).
- Vsebnost surove vlaknine smo določili z metodo po Van Soestu. Surova vlaknina je trdni organski del krme, ki ostane po hidrolizi vzorca v razredčeni žveplovi (VI) kislini in razredčenem kalijevem hidroksidu. Organski ostanek po raztapljanju vzorca sestoji pretežno iz celuloze, hemiceluloze in lignina.
- Vsebnost surovih maščob v vzorcu smo določili s tehtanjem suhega preostanka po ekstrakciji s petroletrom. Poleg maščob se v manjši meri ekstrahirajo barvila (klorofil, karotenoidi), eterična olja, voski, fosfatidi, lecitin, alkaloidi, organske kisline, vitamini A, D, E, K.
- Vsebnost surovih beljakovin smo izračunali iz vsebnosti dušika v krmi. Za določevanje dušika v krmi smo uporabili Kjeldahlovo metodo, ki jo sestavljajo trije osnovni koraki:

1. Razklop: Vzorec razkrojimo s koncentrirano žveplovo (VI) kislino, ob prisotnosti katalizatorja. Pri tem se organsko vezan dušik pretvori v amoniak.
2. Destilacija: razklopljen vzorec naalkalimo z raztopino natrijevega hidroksida in ga z vodno paro destiliramo. Destilat ujamemo v predložko z vodno raztopino H_3BO_3 .
3. Titracija: Raztopino destilata titriramo s standardizirano žveplovo (VI) kislino, dokler raztopina ne doseže vrednosti pH 4,65.

Kjeldahlova metoda temelji na posrednem določanju beljakovin preko dušika. Pri tem moramo predpostavljati, da je ves dušik, prisoten v živilu, beljakovinski. Vsebnost beljakovin v vzorcu izračunamo tako, da izmerjeno vsebnost dušika v vzorcu pomnožimo z ustreznim faktorjem. Vsebnost dušika v beljakovinah je 150 g/kg – 200 g/kg, povprečno 160 g /kg. Iz tega dobimo faktor 6,25.

3.2.1.2 Analiza mineralnih snovi

Mineralne snovi v vzorcih določamo v surovem pepelu, ki ga pripravimo tako, da 4 g vzorca sežgemo v žarilni peči. Temperaturo peči nastavimo na $550^{\circ}C$, vrata pa pustimo odprta, da omogočimo dostop kisika. Ko vzorec zogleni, vrata peči zapremo. Ko je sežig končan, ostane v žarilnem lončku bel do sivkast prah, ki ne vsebuje organskih snovi. Iz surovega pepela naredimo solno-kislinski izvleček, ki je potreben za določanje fosforja, kalcija, magnezija, kalija, natrija, cinka, mangana, železa in bakra v vzorcu.

- Spektrofotometrično določanje fosforja:
Količino fosforja v vzorcu določamo v solno-kislinskem izvlečku. Za določitev fosforja smo uporabili spektrofotometrično metodo, ki temelji na merjenju absorbance obarvane spojine, ki nastane pri reakciji med fosforjem in reagentom. Absorbanco nastale spojine merimo pri valovni dolžini 430 nm.
- Določanje vsebnosti mineralnih snovi z metodo plamenske atomske absorpcijske spektroskopije:

V solno-kislinskem izvlečku določimo vsebnost kalcija, magnezija, kalija, natrija, cinka, mangana, železa in bakra z merjenjem absorpcije monokromatske svetlobe pri razprševanju vzorca v plamen acetilen-zrak.

3.2.2 Potek biološkega testa

Živali smo glede na telesno maso razdelili v štiri izenačene skupine: skupina K (131,0 g ± 4,2 g telesne mase), skupina L (131,2 g ± 4,3 g telesne mase), skupina M (131,2 g ± 7,2 g telesne mase) in skupina L + M (131,2 g ± 2,6 g telesne mase). V vsaki skupini so bile po štiri živali.

Živali so bile individualno nameščene v metabolnih kletkah. Vsak dan smo tehtali krmilnike z ostankom krme, dodano krmo in njen raztros. Tako smo spremljali količino zaužite krme za vsako žival posebej. Vodo v napajalnih stekleničkah smo menjali vsak drugi dan.

Predposkus je trajal devet dni. Živali so se v tem času privadile na okolje in na testno krmno mešanico. V prebavilih živali se je predhodno zaužita krma v celoti zamenjala s testno krmno.

V poskusu smo dnevno spremljali količino zaužite krme ter ločeno zbirali blato in seča. V stekleničke seča smo dodali po 10 ml 18 % HCl, da smo preprečili izhlapevanje amoniaka. V času poskusa smo spremljali prirast živali. Tehtali smo jih prvi, tretji in zadnji dan.

Po petih dneh smo končali z metabolnim poskusom in ločenim zbiranjem blata in seča. Iz zbranih podatkov v času poskusa smo izračunali skupno količino zaužite krme, prirast, zbrali in stehtali smo vso količino izločenega blata in seča. Blato smo homogenizirali v keramični posodi. Urin smo homogenizirali s stresanjem stekleničk. Vsebnost dušika v blatu in urinu smo določili z metodo po Kjeldahlu. Iz dobljenih podatkov smo izračunali navidezno in pravo prebavljivost beljakovin, biološko vrednost, neto izkoristljivost beljakovin in razmerje izkoriščenja beljakovin (PER).

3.2.3 Izračuni

3.2.3.1 Količina zaužite krme in prirast

Količino zaužite krme smo izračunali iz podatkov, ki smo jih dobili s vsakodnevnim tehtanjem krmilnika z ostanki in z dodano krmo. Upoštevali smo tudi raztros krme.

Izračun prirasta živali temelji na tehtanju živali in spremljanju njihove telesne mase v obdobju poskusa.

3.2.3.2 Količina zaužitega, izločenega in endogenega dušika ter bilanca dušika

Količino zaužitega in izločenega dušika smo izračunali iz ugotovljenih količin zaužite krme, izločenega blata in seča ter analizirane koncentracije dušika v vzorcih krme in v vzorcih blata in seča, za vsako žival posebej. Endogene izgube iz blata in endogene izgube iz seča smo izračunali po formulah 4 in 5.

$$ENB = (0,081 \times PTM) + 3,01 \quad \dots(4)$$

Legenda: ENB – endogene izgube dušika iz blata, PTM – povprečna telesna masa živali (g)

$$ENS = \left(\frac{15,2 \times PTM}{0,75} \right) \times 10^{-3} \quad \dots(5)$$

Legenda: ENS – endogene izgube dušika iz seča, PTM – povprečna telesna masa živali (g)

Bilanco dušika smo izračunali s podatki o zaužitem dušiku in izločenem dušiku z blatom in sečem.

$$BN = NK - NB - NS \quad \dots(6)$$

Legenda: BN – bilanca dušika, NK – zaužiti dušik, NB – dušik v blatu, NS – dušik v seču

3.2.3.3 Prebavljivost, biološka vrednost, neto izkoristljivost beljakovin in razmerje izkoriščanja beljakovin

Navidezno prebavljivost smo izračunali po enačbi:

$$NP = \frac{(NK - NB) \times 100}{NK} \quad \dots(7)$$

Legenda: NP – navidezna prebavljivost, NK – zaužiti dušik, NB – dušik v blatu

Pravo prebavljivost smo izračunali po enačbi:

$$PP = \frac{(NK - (NB - ENB)) \times 100}{NK} \quad \dots(8)$$

Legenda: PP – prava prebavljivost, NK – zaužiti dušik, NB – dušik v blatu, ENB – endogene izgube dušika iz blata

Biološko vrednost beljakovin smo izračunali po enačbi 1 (str. 16), neto izkoristljivost beljakovin po enačbi 2 (str. 16) in razmerje učinkovitosti beljakovin po enačbi 3 (str. 17).

3.2.4 Statistična analiza

Podatke smo statistično obdelali s programskim paketom SAS/STAT (2000), pri čemer smo uporabili proceduro GLM (General linear models) po statističnem modelu, v katerega smo vključili vpliv skupine. Rezultati so podani kot ocenjene srednje vrednosti (LSM) ± standardna deviacija (SD).

Statistični model:

$$y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij}$$

$Y_{ij} \dots$ opazovana lastnost

$\mu \dots$ srednja vrednost

$S_i \dots$ vpliv skupine

$e_{ij} \dots$ ostanek

4 REZULTATI

4.1 KRMNE MEŠANICE

V preglednici 5 so predstavljeni rezultati Weendske analize in vsebnosti mineralnih elementov testnih krmnih mešanic. Med mešanicami ni bilo bistvenih razlik v vsebnosti hranljivih snovi, saj so razlike le v dodatku aminokislin. Vsebnost surovih beljakovin je bila med 119,45 g in 121,25 g v kg suhe snov.

Preglednica 5: Kemijska analiza krmnih mešanic

SKUPINA sestavina	K	L	M	L+M
Suha snov (g/kg)	910,54	902,31	903,79	900,46
Surove beljakovine (g/kg SS)	119,45	120,77	121,25	121,05
Surove maščobe (g/kg SS)	76,56	62,41	64,22	69,69
Surova vlaknina	51,71	53,82	53,42	52,82
Surovi pepel (g/kg SS)	31,56	31,71	31,44	31,94
Brezdušični izvleček (g/kg SS)	717,12	728,26	726,57	721,19
Fosfor (g/kg SS)	3,96	4,02	4,05	3,89
Kalcij (g/kg SS)	6,12	6,18	6,16	6,23
Magnezij (g/kg SS)	1,63	1,70	1,58	1,53
Kalij (g/kg SS)	4,10	4,09	4,04	4,11
Natrij (g/kg SS)	0,38	0,39	0,39	0,37
Cink (mg/kg SS)	127,33	115,33	110,65	125,98
Mangan (mg/kg SS)	59,45	59,41	59,79	59,61
Železo (mg/kg SS)	110,02	95,80	83,87	84,25
Baker (mg/kg SS)	29,33	23,99	24,80	22,99

4.2 TELESNA MASA IN PRIRAST ŽIVALI TER KONZUMACIJA KRME

Povprečna začetna telesna masa živali je bila v vseh štirih skupinah enaka (Preglednica 6). Na koncu smo živali ponovno stehali in opazili večjo telesno maso živali iz skupine L ($P = 0,0997$) in L+M ($P = 0,1104$). Razlika med skupinama je bila posledica dodatka aminokislin, vendar pa zaradi variabilnosti telesne mase med živalmi znotraj skupine ni bila statistično značilna. Največja variabilnost v začetni in končni masi med posameznimi živalmi znotraj skupine je bila v skupini M. Skupina L+M je najbolje priraščala (4,69 g na dan) in prirast se je statistično razlikoval ($P < 0,05$) od skupin K in M. Prirast je bil najnižji v skupini K (3,41 g na dan).

V poskusnem obdobju so živali v vseh skupinah zaužile podobno količino krme. Zaradi največjega prirasta je bila učinkovitost zauživanja krme največja v skupini L+M (23,13 %) in se je statistično značilno razlikovala od skupine M ($P = 0,0476$) in K ($P = 0,0070$). Najnižja učinkovitost zauživanja krme je bila v skupini K (16,63 %).

Preglednica 6: Telesna masa, količina zaužite krme, prirast (povprečje \pm standardna deviacija)

lastnost \ SKUPINA	K	L	M	L+M
Masa ob začetku poskusa (g)	163,55 \pm 5,80 ^a	167,93 \pm 7,64 ^a	162,37 \pm 10,43 ^a	168,85 \pm 7,85 ^a
Masa ob koncu poskusa (g)	178,98 \pm 8,73 ^a	186,38 \pm 10,56 ^a	179,43 \pm 14,69 ^a	192,30 \pm 6,54 ^a
Dnevni prirast (g/dan)	3,09 \pm 0,63 ^a	3,69 \pm 0,94 ^{ab}	3,41 \pm 0,91 ^a	4,69 \pm 0,61 ^b
Prirast (g/5dni)	15,43 \pm 3,14 ^a	18,45 \pm 4,69 ^{ab}	17,05 \pm 4,57 ^a	23,45 \pm 3,03 ^b
Povprečna konzumacija krme (g/dan)	18,45 \pm 1,25 ^a	19,16 \pm 1,68 ^a	18,07 \pm 2,86 ^a	20,26 \pm 0,98 ^a
Učinkovitost zauživanja krme (%)	16,63 \pm 2,32 ^a	19,09 \pm 3,56 ^{ab}	18,71 \pm 2,77 ^a	23,13 \pm 2,50 ^b

a, b vrednosti, ki so označene z različnimi črkami, se statistično razlikujejo ($P < 0,05$)

4.3 KOLIČINA ZAUŽITEGA IN IZLOČENEGA DUŠIKA TER BILANCA

Količine zaužitega in izločenega dušika so predstavljene v preglednici 7. Živali iz skupine L+M so s krmo zaužile največ, živali v skupini K pa najmanj dušika. Med skupinami ni bilo statističnih razlik v količini zaužitega dušika. Največja variabilnost v količini zaužitega dušika je bila znotraj skupine M in je posledica variabilnosti v količini zaužite krme.

Preglednica 7: Količina zaužitega in izločenega dušika ter bilanca dušika (povprečje ± standardna deviacija)

lastnost \ SKUPINA	K	L	M	L+M
Zaužiti dušik (mg/dan)	320,97 ± 21,79 ^a	334,06 ± 29,27 ^a	316,73 ± 50,22 ^a	353,33 ± 17,15 ^a
Dušik izločen z blatom (mg/dan)	37,09 ± 5,31 ^a	36,16 ± 1,55 ^a	37,45 ± 7,79 ^a	42,30 ± 2,48 ^a
Dušik izločen s sečem (mg/dan)	165,31 ± 15,64 ^a	162,92 ± 13,67 ^a	157,13 ± 23,11 ^a	162,58 ± 8,46 ^a
Bilanca dušika (mg/dan)	118,58 ± 10,96 ^a	134,98 ± 15,80 ^{ab}	122,15 ± 25,19 ^a	148,45 ± 9,15 ^b

a, b vrednosti, ki so označene z različnimi črkami, se statistično razlikujejo ($P < 0,05$)

Skupina L+M je z blatom izločila največ dušika, najmanj pa skupina L. Tudi variabilnost med živalmi je bila v tej skupini najmanjša. Razlika med skupinama L in L+M ni bila statistično značilna ($P = 0,1065$). Največja variabilnost med posameznimi živalmi v količini dušika izločenega z blatom je bila znotraj skupine M (od 33,01 do 49,01 miligramov na dan).

Največ dušika je s sečem izločila skupina K, najmanj pa skupina M. Razlike med skupinami niso bile statistično značilne. Variabilnost v količini s sečem izločenega dušika je bila največja med živalmi v skupini M.

Bilanca dušika je bila največja pri skupini L+M in se je statistično razlikovala od skupin K ($P = 0,249$) in M ($P = 0,0436$). Najslabšo bilanco je imela skupina K. Med živalmi znotraj skupine je bila največja variabilnost v bilanci dušika v skupini M.

4.4 PREBAVLJIVOST BELJAKOVIN

Navidezna prebavljivost beljakovin je bila med posameznimi skupinami skoraj enaka (preglednica 8). Med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik. Tudi prava prebavljivost se ni statistično razlikovala med skupinami. Največje variabilnosti med posameznimi živalmi so bile v skupini K. Najvišja vrednost navidezne (89,14 %) in prave prebavljivosti (94,35) je bila v skupini z dodatkom aminokislina lizin.

Preglednica 8: Navidezna in prava prebavljivost surovih beljakovin (SB) (povprečje ± standardna deviacija)

SKUPINA	K	L	M	L+M
lastnost				
Navidezna prebavljivost (%)	88,47 ± 1,19 ^a	89,14 ± 0,74 ^a	88,22 ± 0,86 ^a	88,03 ± 0,44 ^a
Prava prebavljivost (%)	93,74 ± 1,26 ^a	94,35 ± 0,53 ^a	93,60 ± 1,08 ^a	93,03 ± 0,56 ^a

a, b vrednosti, ki so označene z različnimi črkami, se statistično razlikujejo ($P < 0,05$)

4.5 KAKOVOST BELJAKOVIN

Biološka vrednost, neto izkoristljivost beljakovin in razmerje izkoriščanja beljakovin so predstavljeni v preglednici 9.

Preglednica 9: Biološka vrednost beljakovin, neto izkoristljivost beljakovin (NIB) in razmerje izkoriščanja beljakovin (PER) (povprečje ± standardna deviacija)

SKUPINA	K	L	M	L+M
lastnost				
Biološka vrednost beljakovin(%)	56,62 ± 3,29 ^a	59,71 ± 1,12 ^{ab}	58,67 ± 4,07 ^{ab}	61,68 ± 1,32 ^b
Neto izkoristljivost beljakovin (%)	53,10 ± 3,69 ^a	56,33 ± 1,28 ^{ab}	54,90 ± 3,52 ^{ab}	57,38 ± 1,51 ^b
PER (g prirasta/g SB)	1,53 ± 0,21 ^a	1,75 ± 0,33 ^{ab}	1,71 ± 0,25 ^a	2,12 ± 0,23 ^b

a, b vrednosti, ki so označene z različnimi črkami, se statistično razlikujejo ($P < 0,05$)

Najmanjšo biološko vrednost beljakovin je imela skupina K (56,62 %), največjo pa skupina L+M (61,68 %). Razlika med njima je bila statistično značilna ($P = 0,0235$). Največja variabilnost med posameznimi živalmi je bila v skupini M, najmanjša pa v skupini L.

Neto izkoristljivost beljakovin je bila prav tako najvišja v skupini L+M (57,38 %) in najnižja v skupini K (56,62 %). Razlika je bila statistično značilna ($P = 0,0235$). Variabilnost med živalmi znotraj skupine je bila najvišja v skupini K in najnižja v skupini L.

Razmerje izkoriščanja beljakovin (PER) je bilo najvišje v skupini L+M (2,12 g prirasta na g zaužitih SB) in se je statistično razlikovala s skupinama M ($P = 0,0434$) in K ($P = 0,0072$). Med skupinami K, L in M ni bilo statistično značilnih razlik. Najnižjo PER vrednost (1,53 g prirasta na g zaužitih SB) smo izračunali pri skupini K in je posledica slabšega prirasta živali.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Namen diplomske naloge je bil oceniti kakovost beljakovin bučnih pogač ob dodatku ene ali več limitirajočih aminokislin. Z metabolnim poskusom na laboratorijskih podganah smo določili biološko vrednost, neto izkoristljivost beljakovin in PER vrednost v krmnih mešanicah, kjer so bile kot vir beljakovin bučne pogače. V tri krmne mešanice pa smo dodali eno oz. dve limitirajoči aminokislini.

Sinteza beljakovin v telesu ni odvisna samo od količine beljakovin v obroku temveč tudi od njihove uravnoteženosti in ne poteka, če niso prisotne vse potrebne aminokislino. Esencialne aminokislino, ki jih telo ne more tvoriti samo, morajo živali in tudi ljudje dobiti s krmo oz. hrano (McDonald in sod., 2002).

Bučne pogače so z beljakovinami bogat ostanek bučnih semen po praženju in iztiskanju olja. Rezultati predhodnih raziskav o vsebnosti aminokislin v beljakovinah buč (Pirman in sod, 2004b) in podatki iz literature (Zdunczyk in sod., 1999; El-Adawy in Taha, 2001) so pokazali, da je lizin prva in metionin druga limitirajoča aminokislino v beljakovinah bučnih pogač. Limitirajoča aminokislino je tista, ki je največ primanjkuje. Za izboljšanje kakovosti beljakovin bučnih pogač smo jim dodali limitirajoči aminokislino lizin in metionin.

Krmne mešanice smo sestavili tako, da so bile pokrite prehranske potrebe rastočih podgan. Kontrolno skupino K smo krmili z osnovno krmno mešanico, v kateri so bile kot vir beljakovin le bučne pogače, krmni mešanici skupine L smo dodali lizin, kot prvo limitirajočo aminokislino, krmni mešanici skupine M smo dodali metionin, krmni mešanici skupine L+M pa obe aminokislino skupaj v enakih količinah kot prejšnjima dvema skupinama.

V vzorcih krme smo naredili Weendsko analizo in med njimi ni bilo razlik v vsebnosti hranljivih snovi (preglednica 5). Konzumacija krme je bila pri vseh skupinah podobna in med njimi ni bilo statistično značilnih razlik (preglednica 6). Na začetku poskusnega

obdobja ni bilo razlik v telesni masi živali. Tudi na koncu poskusa večjih razlik v telesni masi živali ni bilo. Opazna je bila nekoliko večja telesna masa živali v skupini L in L+M v primerjavi s kontrolno skupino K, vendar, zaradi večje variabilnosti med posameznimi živalmi v skupini, razlika ni bila statistično značilna. Živali iz skupin L, M, L+M, so imele večji dnevni prirast od živali v skupini K. Razlika v dnevnem prirastu je bila največja in statistično značilna pri skupinah M in K, v primerjavi s skupino L+M. Zaradi večjega dnevnega prirasta in podobne količine zaužite krme je bila učinkovitost zauživanja krme (izkoristek) največja pri skupini L+M. Razlika je bila ponovno statistično značilna v primerjavi s skupinama K in M.

Živali v vseh skupinah so s krmo zaužile podobno količino dušika (preglednica 7). Količina dušika izločenega z blatom je bila podobna pri vseh štirih skupinah. Največ dušika so s sečem izločile živali iz kontrolne skupine. Bilanca dušika je razlika med količino zaužitega dušika in izločenega dušika z blatom in sečem. Največja je bila je pri skupini L+M in se je statistično razlikovala od bilance dušika pri skupinah K in M.

Navidezna prebavljivost beljakovin je razlika med zaužitim dušikom in izločenim dušikom v blatu izražena v odstotkih. Pri izračunu prave prebavljivosti od blata odštejemo še endogeni dušik, zato je prava prebavljivost višja od navidezne. Med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik pri navidezni in pravi prebavljivosti. Numerično najvišji navidezna in prava prebavljivost sta bili v skupini L. Izračunane vrednosti prave prebavljivost beljakovin so v primerjavi z rezultati prejšnje raziskave (Pirman in sod., 2004b), kjer je bila prava prebavljivost beljakovin bučnih pogač med 87,52 % in 90,10 %, višje. V tej raziskavi krmnim mešanicom niso dodali aminokislin. Mansour in sod. (1993) navajajo pravo prebavljivost različnih produktov iz bučnih semen med 87,78 % in 96,83 %, ki se povečuje glede na vsebnost beljakovin v vzorcu. V našem poskusu smo uporabili bučne pogače z razmeroma majhno vsebnostjo surovih beljakovin (520,20 g/kg suhe snovi) in veliko vsebnostjo surovih maščob (283,36 g/kg suhe snovi). Babnik in Verbič (2001) sta pri analiziranju 14 vzorcev bučnih pogač dobila vrednosti za surove beljakovine med 546 g/kg SS in 658 g/kg SS, za surove maščobe pa 87 g/kg SS in 201 g/kg SS. Tudi Pirman in sod. (2004a) navajajo večjo minimalno vsebnost surovih beljakovin (573,25 g/kg SS) in manjšo maksimalno vsebnost surovih maščob (197,10 g/kg SS), kot so jo imele bučne pogače uporabljene v naši raziskavi. V primerjavi z rezultati raziskave

Mansourja in sod. (1993) je bila prava prebavljivost beljakovin v skupini K (kjer nismo dodali aminokislin) večja. Ti rezultati nakazujejo, da vsebnost surovih beljakovin v bučnih pogačah inverzno vpliva na prebavljivost beljakovin.

Biološka vrednost beljakovin opisuje delež absorbiranega dušika, ki se naloži v telesu. Bolj ko je aminokislinska sestava krme podobna telesnim beljakovinom, večja je biološka vrednost. V primeru presežkov ali pomanjkanja določene aminokislinske se biološka vrednost zmanjša (McDonald in sod., 2002). V našem poskusu je bila biološka vrednost največja pri skupini L+M in se je statistično razlikovala od skupine K. Tudi pri skupinah L in M je bila večja kot pri skupini K, vendar razlike niso bile statistično značilne. V primerjavi z drugimi raziskavami (Pirman in sod., 2004b; Mansour in sod., 1993), kjer vzorcem beljakovin bučnih pogač niso bile dodane aminokislinske, je bila biološka vrednost beljakovin skupine K manjša. Vsebnost surovih beljakovin v bučnih pogačah sorazmerno vpliva na delež absorbiranega dušika, ki se naloži v telesu.

Neto izkoristljivost beljakovin (NIB) predstavlja delež zaužitega dušika, ki se naloži v telesu. V našem poskusu se je, ob dodatku aminokislin bučnim pogačam, NIB zvišala. Največji delež naloženega dušika smo tako izračunali pri skupini L+M in se je statistično razlikoval od deleža dušika izračunanega pri skupini K, kjer je bila neto izkoristljivost beljakovin najnižja. NIB je bila višja v skupini L v primerjavi s skupino M.

Kakovost beljakovin pri hitro rastočih živalih lahko ocenimo iz razmerja med prirastom in zaužitimi beljakovinami (Stekar, 1983). PER vrednosti so bile višje v skupinah, kjer smo bučnim pogačam dodali aminokislinske (L, M, L+M). Najvišjo PER vrednost smo izračunali pri skupini L+M in se je statistično razlikovala od PER vrednosti pri skupinah K in M. PER vrednost kontrolne skupine je bila višja, kot jo za bučne pogače navajajo Zdunczyk in sod. (1999). Isti avtorji so vzorcem bučnih pogač dodali lizin in izračunali PER 1,43, kar je manjše kot pri naši skupini, ki smo ji dodali lizin.

V naši nalogi, v kateri smo preučevali biološko vrednost bučnih pogač ob dodatku limitirajočih aminokislin na laboratorijskih podganah, smo dokazali, da se je kakovost beljakovin v bučnih pogačah ob dodatku lizina in metionina izboljšala. Biološka vrednost, neto izkoristljivost beljakovin in razmerje izkoriščanja beljakovin so bile v skupinah z

dodatkom lizina in metionina višje od kontrolne skupine. Najboljšo kakovost beljakovin smo ugotovili v skupini z dodanima obema limitirajočima aminokislinama in se je statistično razlikovala od kakovosti beljakovin v kontrolni skupini. Če bi želeli sestaviti boljši obrok za podgane, bi bučnim pogačam morali dodati še nekatere druge aminokislino, ki jih glede na potrebe rastočih podgan (NRC, 1995) primanjkuje. Ugodna bi bila kombinacija bučnih pogač s kakšnim drugim krmilom z višjo vsebnostjo tistih aminokislin, ki jih beljakovine bučnih pogač vsebujejo premalo za pokritje potreb pri rastočih laboratorijskih podganah. Zdunczyk in sod. (1999) priporočajo mešanico bučnih pogač in sojinih tropin v razmerju 1:1. Takšna mešanica bi zvišala PER vrednost zaužitih beljakovin.

5.2 SKLEPI

- Dodatek limitirajočih aminokislin bučnim pogačam ne povzroči statistično značilnih razlik v vsebnosti hranljivih snovi krme in zauživanju krme. Končna telesna masa pri živalih, katerim smo v krmo dodali aminokislino je bila večja od telesne mase živali v kontrolni skupini, vendar razlika ni bila statistično značilna. Podobne razlike so bile v prirastu. Najbolje je priraščala skupina z dodanim lizinom in metioninom in se je statistično razlikovala od skupine z dodanim metioninom in kontrolne skupine.
- Med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik v količini zaužitega dušika, prav tako ne v dušiku izločenem z blatom. V skupinah, ki so zauživale bučne pogače z dodanimi limitirajočimi aminokislinami lizin in metionin, smo ugotovili manjše izločanje dušika v seču, kot pri kontrolni skupini. Bilanca dušika je bila največja pri skupini z dodatkom obeh aminokislin in statistično značilno različna od kontrolne skupine in skupine, kjer smo dodali samo metionin.
- Navidezna in prava prebavljivost sta bili med skupinami skoraj enaki. Povprečna prava prebavljivost je bila med 93,03 % (skupina z dodanim lizinom in metioninom) in 94,74 % (skupina z dodanim lizinom).
- Biološka vrednost, neto izkoristljivost beljakovin in razmerje izkoriščanja beljakovin so bile, v primerjavi s kontrolno skupino, večje v vseh skupinah z dodanimi aminokislinami. Pri vseh izračunih so bile statistično značilne razlike med kontrolno skupino in skupino z dodanimi obema limitirajočima aminokislinama lizinom in metioninom.

6 POVZETEK

Bučne pogače, ostanek po iztiskanju olja iz semen buč, so bogato beljakovinsko in energetsko krmilo. Proizvodnja bučnega olja je v severovzhodni Sloveniji razširjena dejavnost in bučne pogače predstavljajo ustrezno rešitev za zamenjavo beljakovinskih krmil rastlinskega izvora, ki jih moramo uvažati. Za njihovo učinkovito uporabo v prehrani živali jih je potrebno podrobneje preučiti. V poskusu, ki smo ga izvedli na Katedri za prehrano Oddelka za Zootehniko Biotehniške fakultete, smo določili prebavljivost, biološko vrednost in PER vrednost beljakovin bučnih pogač ob dodatku limitirajočih aminokislin.

V raziskavo smo vključili 16 laboratorijskih podgan, ki smo jih namestili v individualne metabolne kletke s prostim dostopom do vode in krme. Živali smo glede na telesno maso razdelili v štiri homogene skupine. Kot vir beljakovin v obroku smo uporabili bučne pogače in jim dodali prvi dve limitirajoči aminokislini, lizin in metionin. Prvi skupini smo dodali lizin (L), drugi metionin (M), tretji pa obe aminokislini skupaj (L+M), v isti količini kot pri prvih dveh skupinah. Za primerjavo smo kontrolno skupino (K) krmili z bučnimi pogačami brez dodanih aminokislin.

Poskus je trajal 14 dni in smo ga razdelili na dva dela: devet dni prilagoditvenega obdobja in pet dni poskusa. V času poskusa smo spremljali telesno maso podgan in zauživanje krme, ter ločeno zbirali seč in blato. Iz zbranih podatkov smo izračunali skupno količino zaužite krme in prirast. Zbrali in tehtali smo vso količino izločenega blata in seča. Po končanem poskusu smo v laboratoriju analizirali krmne mešanice ter zbrano blato in seč. Iz rezultatov analiz smo izračunali še bilanco dušika, navidezno in pravo prebavljivost beljakovin, biološko vrednost, neto izkoristljivost in razmerje izkoriščanja beljakovin.

Na začetku poskusnega obdobja med skupinami ni bilo razlik v telesni masi živali. Krmne mešanice so se med sabo razlikovale le po vsebnosti aminokislin, po analiziranih hranljivih snoveh (weendska analiza in minerali) pa so si bile podobne. Prav tako je bila pri vseh živalih podobno zauživanje krme. Končna telesna masa je bila nekoliko večja pri skupinah, kjer smo v krmo dodali aminokislino. Skupina z dodatkom obeh aminokislin v krmi je imela največji prirast, ki je bil statistično značilno večji od kontrolne skupine in

tiste z dodatkom metionina v krmi. Zaradi večjega prirasta in podobne količine zaužite krme je bila tudi učinkovitost zauživanja krme najboljša v skupini L+M in se je statistično značilno razlikovala od kontrolne skupine in skupine z dodatkom aminokislina metionin.

Pri količini s krmo zaužitim in z blatom izločenim dušikom med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik. Kontrolna skupina je s sečem izločila največ dušika, vendar se količina ni statistično razlikovala od drugih skupin. Bilanca dušika je bila pri vseh skupinah pozitivna ter največja pri skupini, kjer smo v krmo dodali lizin in metionin skupaj in se je statistično značilno razlikovala od bilance kontrolne skupine in skupine, kjer smo v krmo dodali metionin.

Pri navidezni in pravi prebavljivosti med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik. Numerično je imela največjo pravo in navidezno prebavljivost skupina kjer smo krmi dodali lizin.

V skupini L+M smo izračunali največjo biološko vrednost (BV) in neto izkoristljivost beljakovin (NIB) ter najvišje razmerje izkoriščanja beljakovin (PER). Vrednosti so se statistično razlikovale od tistih ki smo jih izračunali za kontrolno skupino. Statistično značilna je tudi razlika za PER med skupino z dodanima obema aminokislinama in skupino, kateri smo dodali le metioninom.

Pri naši raziskavi smo ugotovili, da dodatek limitirajočih aminokislin zviša biološko vrednost beljakovin, NIB in PER vrednost bučnih pogač. Rezultati so pokazali, da so bile vse vrednosti, izračunane pri skupinah z dodatkom metionina in lizina, višje od vrednosti, ki smo jih izračunali za kontrolno skupino. Najboljšo kakovost beljakovin smo dosegli pri skupini, kjer smo bučnim pogačam dodali obe limitirajoči aminokislini hkrati.

7 VIRI

- Babnik D., Verbič J. 2001. Protein value of pumpkin seed cakes in ruminant nutrition. V: Krmiva 2001, International conference, proceedings, Opatija, 6-8 jun. 2001. Opatija: 189-197
- Černe M. 2000. Manj znane in gojene bučnice. *Sodobno kmetijstvo*, 33, 4: 189-193
- El-Adawy T.A., Taha K.M. 2001. Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chemistry*, 74: 47-54
- Hellmiß M. 1999. Bučno olje za naravno zdravljenje. Celje, Mavrica: 125 str.
- Kocjan Ačko D. 1999. Pozabljene poljščine. Ljubljana, Kmečki glas: 190 str.
- Mansour E.H., Dworschak E., Lugasi A., Barna E., Gergely A. 1993. Nutritive value of pumpkin (*Cucurbita pepo* kakai 35) seed product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61: 73-78
- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A. 2002. *Animal nutrition*. 6th edition. Essex, Pearson: 693 str.
- Murkovic M., Piironen V., Lampi M.A., Kraushofer T., Sontag G. 2004. Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (Part 1: non-volatile compounds). *Food Chemistry*, 84: 359-365
- NRC. 1995. Nutrient requirements of the laboratory rat. Protein and amino acids. V: Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition, NRC. Nutrient requirements of laboratory animals. Washington D.C., National Academy Press: 22-27
- Orešnik A., Kermauner A. 2009. *Osnove prehrane živali*. Učbenik. Slovenj Gradec, Kmetijska založba: 179 str.

- Pirman T., Levart A., Orešnik A. 2004a. Hranilna vrednost bučnih pogač. V: Zbornik predavanj 13. posvetovanja o prehrani domačih živali »Zadravčevi-Erjavčevi dnevi«, Radenci, 4.-5. nov. 2004. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod Murska Sobota: 195-203
- Pirman T., Levart A., Svenšek S., Orešnik A. 2004b. Chemical composition and nutritional value of pumpkin seed cake. V: Krmiva 2004, zbornik radova, 11th International conference, Opatija, 1-4 jun 2004. Opatija: 173
- SAS/STAT. 2000. SAS (Statistical Analysis Systems Institute). User`s Guide: Statistic release 8. Cary, SAS Institute Inc.: 577 str.
- Stekar J. 1983. Ocena hranilne vrednosti beljakovin v krmilih. Sodobno kmetijstvo, 16, 3: 115-117
- Stekar J. 1985. Oljne pogače in tropine. V: Kmetijski priročnik 1986. Rejc T. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 89-104
- Stekar J. 1987. Splošna prehrana živali. Ljubljana, Kmečki glas: 95 str.
- Svenšek S. 2001. Kemijska sestava in hranilna vrednost bučnih pogač. Diplomsko delo. Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 58 str.
- Štruklec M., Salobir J. 1991. Prehrana in krmljenje domačih živali z dopolnilnimi koncentratii. Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živinorejo, Inštitut za prehrano: 42 str.
- Topolovec A. 1987. Pridelovanje buč. V: Kmetijski priročnik 1988. Rejc T. (ur.). Ljubljana, Kmečki glas: 119-137
- Zdunczyk Z., Minakowsk D., Frejnagel S., Flis M. 1999. Comparative study of the chemical composition and nutritive value of pumpkin seed cake, soybean meal and casein. Nahrung, 43, 6: 392-395
- Žgajnar J. 1990. Prehrana in krmljenje goved. Ljubljana, Kmečki glas: 571 str.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorici doc. dr. Tatjani Pirman za strokovno pomoč in vodenje pri izdelavi diplomskega dela. Brez Vaše potrpežljivosti in moralne podpore mi ne bi uspelo.

Zahvaljujem se tudi recenzentu prof. dr. Andreju Orešniku in predsedniku komisije prof. dr. Ivanu Štuhcu za strokovni pregled diplomske naloge.

Zahvaljujem se dr. Nataši Siard za pregled in pomoč pri oblikovanju naloge, ter gospe Malinger za lektoriranje angleškega izvlečka.

Največja zahvala gre mami in atiju za vso podporo med študijem, predvsem pa zato, ker nista obupala nad mano.

Miha in Ema hvala za neizmerno ljubezen in potrpežljivost.