

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tea LIŠNIČ

**VPLIV VITAMINA E, OSTANKOV PREDELAVE
OLJK IN NJIHOVIH EKSTRAKTOV NA
OKSIDATIVNO STABILNOST IN PREHRANSKO
VREDNOST Z N-3 MAŠČOBNIMI KISLINAMI
OBOGATENIH JAJC**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja Prehrana

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Tea LIŠNÍČ

**VPLIV VITAMINA E, OSTANKOV PREDELAVE OLJK IN
NJIHOVIH EKSTRAKTOV NA OKSIDATIVNO STABILNOST IN
PREHRANSKO VREDNOST Z N-3 MAŠČOBNIMI KISLINAMI
OBOGATENIH JAJC**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij - 2. stopnja Prehrana

**THE INFLUENCE OF VITAMIN E, OLIVE BYPRODUCTS AND
THEIR EXTRACTS ON OXIDATIVE STABILITY AND
NUTRITIONAL VALUE OF EGGS ENRICHED WITH N-3 FATTY
ACIDS**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes: Field Nutrition

Ljubljana, 2014

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa 2. stopnje Prehrana. Delo je bilo opravljeno na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje je za mentorja magistrskega dela imenovala prof. dr. Janeza Salobirja, za somentorico asist. dr. Alenko Levart in za recenzentko prof. dr. Heleno Abramovič.

Mentor: prof. dr. Janez Salobir

Somentorica: asist. dr. Alenka Levart

Recenzentka: prof. dr. Helena Abramovič

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

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

Tea Lišnić

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du2
DK	UDK 637.4: 641.1: 613.286: 577.1 (043) = 163.6
KG	živila/jajca/prehranska vrednost/obogatena jajca/n-3 maščobne kisline/maščobnokislinska sestava/antioksidanti/vitamin E/oksidativna stabilnost/rastlinski ekstrakti/oljka
AV	LIŠNIČ, Tea, dipl. inž. živ. in preh. (UN)
SA	SALOBIR, Janez (mentor)/LEVART, Alenka (somentorica)/ABRAMOVIČ, Helena (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2014
IN	VPLIV VITAMINA E, OSTANKOV PREDELAVE OLJK IN NJIHOVIH EKSTRAKTOV NA OKSIDATIVNO STABILNOST IN PREHRANSKO VREDNOST Z N-3 MAŠČOBNIMI KISLINAMI OBOGATENIH JAJC
TD	Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja Prehrana)
OP	XII, 93 str., 20 pregl., 5 sl., 7 pril., 93 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V prehrani prebivalstva v razvitem svetu zaradi današnjega načina prehranjevanja primanjkuje esencialnih n-3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin (n-3 VNMK). Možnost v izboljšanju oskrbe z n-3 VNMK predstavljajo z njimi obogatena jajca. Ta so funkcionalno živilo, pridobljeno s spreminjanjem prehrane kokoši nesnic, in sicer z dodatkom vira n-3 VNMK v krmo. Ker so n-3 VNMK občutljive na oksidacijo, jih je potrebno zaščititi z dodatkom antioksidantov. V naši raziskavi smo ugotavljali, ali imajo dodatki vitamina E (150 IU α -tokoferil acetata), oljčnih listov (1 % posušeni, zmleti), oljčne pulpe (1 % posušena, zmleta), ekstrakta oljčnih listov (ekstrakt ekvivalenten dodatku 1 % oljčnih listov) in ekstrakta oljčne pulpe (ekstrakt ekvivalenten dodatku 1 % oljčne pulpe) vpliv na oksidativno stabilnost in prehransko vrednost z n-3 VNMK obogatenih jajc. Potrdili smo dosedanje raziskave, da je z dodatkom lanenega olja možno povečati vsebnost n-3 VNMK v jajcih kokoši nesnic. Prav tako smo potrdili, da je možno z dodatkom α -tokoferil acetata povečati vsebnost vitamina E v jajcih kokoši nesnic. Dodatki vitamina E, oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih niso imeli vpliva na vsebnost sekundarnih produktov oksidacije VNMK (malondialdehid) in maščobnokislinsko sestavo. Prav tako, razen dodatka α -tokoferil acetata, niso imeli vpliva na vsebnost vitamina E. Vsi dodatki so povečali antioksidativno kapaciteto jajc, in sicer vitamin E v večji meri kot ostali dodatki.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2

DC UDC 637.4: 641.1: 613.286: 577.1 (043) = 163.6

CX foods/eggs/nutritional value/enriched eggs/n-3 fatty acids/fatty acid composition/antioxidants/vitamin E/oxidative stability/plant extracts/olive

AU LIŠNIČ, Tea

AA SALOBIR, Janez (supervisor)/LEVART, Alenka (co-advisor)/ABRAMOVIČ, Helena (reviewer)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology

PY 2014

TY THE INFLUENCE OF VITAMIN E, OLIVE BYPRODUCTS AND THEIR EXTRACTS ON OXIDATIVE STABILITY AND NUTRITIONAL VALUE OF EGGS ENRICHED WITH N-3 FATTY ACIDS

DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes: Field Nutrition)

NO XII, 93 p., 20 tab., 5 fig., 7 ann., 93 ref.

LA sl

Al sl/en

AB The intake of essential n-3 polyunsaturated fatty (n-3 PUFA) acids in developed world is under dietary recommendations. One of the way to increase the intakes of these FAs are n-3 PUFA enriched eggs. The latter represent a functional food obtained by changing the diet of laying hens by adding a source of n-3 PUFA to the feed. The n-3 PUFA are sensitive to oxidation and are to be protected by the adding antioxidants. In our study, we analyzed effect of supplementation of vitamin E (150 IU α -tocopheryl acetate), olive leaf (1 % dried, powdered), olive pulp (1 % dried, ground), olive leaf extract (extract equivalent to addition of 1 % olive leaf) and olive pulp extract (extract equivalent to addition of 1 % olive pulp) on the oxidative stability and nutritional value of n-3 PUFA enriched eggs. We confirmed previous research that with the addition of linseed oil is possible to increase the content of n-3 PUFA in eggs of laying hens. Also, we have confirmed that it is possible by the addition of α -tocopheryl acetate to increase the content of vitamin E in eggs of laying hens. Addition of supplements did not have influence on the content of secondary products of PUFA oxidation (malondialdehyde) and the fatty acid composition. Except for α -tocopheryl acetate supplements had no influence on the content of vitamin E. All supplements have increased the antioxidant capacity of eggs, namely vitamin E to a greater extent than other supplements.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VII
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO PRILOG	X
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 ESENCIALNOST VEČKRAT NENASIČENIH MAŠČOBNIH KISLIN	3
2.1.1 Vpliv n-3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin na vnetne procese in imunski sistem	4
2.1.2 Regulacija vnetja maščobnega tkiva z n-3 večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami	10
2.1.3 Prehranska priporočila za vnos n-3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin	12
2.2 ANTIOKSIDANTI IN OKSIDACIJSKI STRES	15
2.2.2 Oksidativna stabilnost z n-3 VNMK obogatenih jajc	16
2.2.1 Vitamin E ter oljke kot potencialni antioksidanti za preprečevanje lipidne oksidacije VNMK jajc	17
2.3 PREHRANSKA VREDNOST JAJC	20
2.3.1 Zauživanje maščob in jajc v Evropskih državah.....	24
2.3.2 Zauživanje jajc ter tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni	28
2.4 FUNKCIONALNA ŽIVILA	30
2.4.1 Razvoj n-3 jajc kot funkcionalnega živila z moduliranjem prehrane nesnic.....	32
3 MATERIALI IN METODE	37
3.1 MATERIALI	37
3.2 METODE	38
3.2.1 Analitska metoda za določanje malondialdehida	38

3.2.2 Analitska metoda za določanje antioksidativne kapacitete v maščobah topnih antioksidantov (ACL).....	39
3.2.3 Analitska metoda za določanje maščobnokislinske sestave.....	39
3.2.4 Analitska metoda za določanje vsebnosti vitamina E	40
3.2.5 Statistična obdelava podatkov	41
4 REZULTATI Z RAZPRAVO	41
4.1 VSEBNOST MALONDIALDEHIDA V JAJČNIH RUMENJAKIH	41
4.2 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V MAŠČOBACH TOPNIH ANTIOKSIDANTOV V JAJČNIH RUMENJAKIH.....	45
4.3 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA V JAJČNIH RUMENJAKIH.....	46
4.4 VSEBNOST α - IN γ -TOKOFEROLA	56
4.5 PREHRANSKA VREDNOST JAJC, OBOGATENIH Z N-3 VNMK	57
ZAHVALA	
PRILOGE	

KAZALO SLIK

Slika 1: Metabolične poti sinteze n-3 VNМК v jetrih s serijo reakcij desaturacij ter elongacij (Flock in sod., 2013: 694).....	4
Slika 2: Biosinteza eikozanoidov (Fredman in Serhan, 2012: 42)	5
Slika 3: Specializirani proresolucijski mediatorji v fazi resolucije akutnega vnetja (Fredman in Serhan, 2012: 43).....	8
Slika 4: Vplivi n-3 VNМК na delovanje maščobnega tkiva (Siriwardhana in sod., 2013: 614).....	12
Slika 5: Strukturne formule glavnih fenolnih spojin v oljčnih listih (Hayes in sod., 2011: 953).....	19

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Referenčne vrednosti za vnos maščob za moške in ženske starosti 25-51 let z dnevnim vnosom energije 2000 kcal (Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008).....	13
Preglednica 2: Priporočene vrednosti za dnevni vnos maščob (WHO, 2008: 3-4)	14
Preglednica 3: Referenčne vrednosti posameznih mednarodnih strokovnih inštitucij za vnos maščobnih kislin za odrasle (NHMRC, 2005: 37; FAO/WHO, 2008: 3; ISSFAL, 2004:4; Kris-Etherton, 2007: 1607; EFSA, 2009: 6).....	15
Preglednica 5: Vsebnost hranil jedilnega dela svežega kokošjega jajca (Ren in sod., 2010: 545-555).	22
Preglednica 6: Pokritje potreb po hranilih iz enega jajca povprečne teže 60 g (Seuss-Baum, 2007).....	24
Preglednica 7: Ocena pokritja potreb po energiji, vitaminu E in maščobah z uživanjem kokošjih jajc za različne starostne skupine (a=USDA, 2014, b= Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).....	27
Preglednica 8: Vsebnost n-3 VNMK v različnih živilih pogosto uporabljenih kot dodatki v krmo nesnic * (Cherian, 2008: 171).	34
Preglednica 9: Vsebnost n-3 VNMK v jajcih nesnic pitanih z lanenim semenom ali ribjim oljem (Cherian, 2008: 173).....	35
Preglednica 10: Sestava osnovne krmne mešanice (Lupšina, 2013; 14).....	37
Preglednica 11: Koncentracija malondialdehida (MDA, (nmol/g rumenjaka) v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki 42	42
Preglednica 12: Antioksidativna kapaciteta v maščobah topnih antioksidantov (nmol troloksa/g rumenjaka) v svežih, 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki.....	45
Preglednica 14: Absolutne razlike v maščobnokislinski sestavi (ut %) med svežimi, staranimi 28 ali 40 dni in kuhanimi jajčni rumenjaki.....	49
Preglednica 15: Relativne razlike v maščobnokislinski sestavi med svežimi, staranimi 28 ali 40 dni in kuhanimi jajčnimi rumenjaki.....	51
Preglednica 16: Maščobnokislinska sestava v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki - vsote posameznih skupin maščobnih kislin	53

Preglednica 17: Primerjava maščobnokislinske sestave običajnega jajca z maščobnokislinsko sestavo, z n-3 maščobnimi kislinami obogatenih jajc proizvajalca Jata-Emona ter z jajci iz našega poskusa.	55
Preglednica 18: Vsebnost α -tokoferola in γ -tokoferola (mg/100 g) v jajcih obogatenih z n-3 VNМК.....	57
Preglednica 19: Ocena pokritja potreb z obogatenimi jajci iz našega poskusa glede na referenčnih vrednosti nemškega, avstrijskega prehranskega društva ter švicarskega društva za raziskovanje prehrane in združenja za prehrano (Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008).....	58
Preglednica 20: Ocena pokritja potreb otrok, mladostnikov in odraslih po maščobah pri dnevnem zaužitju 20 g jajca iz našega poskusa, obogatenega z n-3 VNМК (*Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008).....	60

KAZALO PRILOG

PRILOGA A: Rezultati določanja vsebnosti malondialdehida v jajčnih rumenjaki

PRILOGA B: Osnovni rezultati določanja v maščobah topnih antioksidantov v jajčnih rumenjaki

PRILOGA C: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v svežih jajčnih rumenjaki*

PRILOGA D: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v 28 dni staranih jajčnih rumenjaki*

PRILOGA E: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v 40 dni staranih jajčnih rumenjaki*

PRILOGA F: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v kuhanih jajčnih rumenjaki*

PRILOGA G: Rezultati določanja α - in γ tokoferola v svežih jajčnih rumenjaki

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AA	- arahidonska maščobna kislina
ACL	- antioksidativna kapaciteta v maščobah topnih antioksidantov
AHA	- American Heart Association
AI	- zadosten dnevni vnos
ALA	- alfa linolenska maščobna kislina (C18:3 n-3)
AMDR	- sprejemljiv vnos makrohranil (acceptable macronutrient distribution range)
BHT	- butilirani hidroksitoluen
DHA	- dokozaheksaenojska maščobna kislina (C22:6 n-3)
DPA	- dokozapentaenojska maščobna kislina (C22:5 n-3)
DV	- dolgoverižne maščobne kisline
EFSA	- Evropska agencija za varno hrano
ENMK	- enkrat nenasičene maščobne kisline
EPA	- eikozapentaenojska maščobna kislina (C20:5 n-3)
FAO	- Food and Agriculture Organisation
FDA	- ameriški urad za prehrano in zdravila
FNB	- Food and Nutrition Board
GP120	- G protein 120
GRAS	- splošno znano kot varno
HDL	- lipoproteini z visoko gostoto
IL-6	- interleukin 6
IL-1	- interleukin 1
IL-12	- interleukin 12
ISSFAL	- International society for the study of fatty acids and lipids
IU	- international unit
K	- skupina s kontrolno krmo
LA	- linolna maščobna kislina
LDL	- lipoproteini z nizko gostoto
LTA	- levkotrieni skupine A
LTB	- levkotrieni skupine B

LTC	- levkotrieni skupine C
LTD	- levkotrieni skupine D
LTE	- levkotrieni skupine E
DV VNMK	- dolgoverižne večkrat nenasičene maščobne kisline
LX	- lipoksini
MCP-1	- monocitni kemotaktični protein 1
MDA	- malondialdehid
NMK	- nasičene maščobne kisline
NNR	- Nordic nutrition recommendations
OL	- skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov
OLE	- skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov
OMD	- optimized mixed diet
PGD	- prostaglandini skupine D
PGE	- prostaglandini skupine E
PGF	- prostaglandini skupine F
PU	- skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe
PUE	- skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe
RDI	- priporočeni dnevni vnos
SACN	- Scientific Advisory Committee on Nutrition
SB	- surove beljakovine
TCA	- trikloroetena kislina
TLR	- Tollu podobni receptorji
TNF- α	- tumor nekrotizirajoči faktor alfa
USDA	- United States Department of Agriculture
UT %	- utežni odstotki
VE	- skupina s krmo, obogateno s 150 IU alfa tokoferil acetata
VNMK	- večkrat nenasičene maščobne kisline
WHO	- svetovna zdravstvena organizacija

1 UVOD

V prehrani prebivalstva so se v zadnjih dveh stoletjih dogajale hitre in obsežne spremembe. Začele so se z razvojem poljedelstva in živinoreje, ki sta spremenila lovski način prehranjevanja v način pridobivanja hrane s samooskrbo. V tem obdobju, še bolj pa v industrijski dobi, se je spremenila tako hranilna sestava živil kot prehranjevalne navade prebivalstva. Procesirana maščobna živila so zaradi postopkov industrijske obdelave vsebovala višje količine nasičenih in trans maščobnih kislin. Na ta način je živilska industrija kvantitativno in kvalitativno vplivala na vnos maščob v prehrano prebivalstva. Napredki v industrijski proizvodnji živil so oblikovali tudi današnjo moderno prehrano. Ta ima visoko vsebnost nasičenih maščob in n-6 večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK) ter je precej revna z n-3 VNMK. Razširjeno razmerje med n-6 in n-3 VNMK, kot posledica industrijske proizvodnje živil, se odraža tudi pri kokošjih jajcih. Iz sicer se je razmerje iz 1,3:1 razširilo na do okrog 19:1. Neravnovesje med n-6 in n-3 VNMK ima negativne učinke na zdravje in je vzrok številnih civilizacijskih bolezni (Ren in sod., 2010). Eden od načinov, kako lahko izboljšamo prehranski status prebivalstva in vplivamo na problem neuravnoteženega vnosa n-6 in n-3 VNMK, je razvoj funkcionalnih živil. Ta so oblikovana z namenom pokritja potreb po hranilih, ki jih v prehrani prebivalstva primanjkuje ali pa so ta odstranjena oz. je njihova količina zmanjšana, v primeru ko so v prehrani prisotna v presežku. Funkcionalno živilo, ki bi pokrilo potrebe prebivalstva po n-3 VNMK in zožilo razmerje med n-6 in n-3 VNMK, bi tako moralo vsebovati visoko koncentracijo n-3 ter malo ali nič n-6 VNMK. N-3 VNMK, predvsem dolgoveržne, kot sta EPA in DHA, regulirajo metabolne procese, imunski odziv, pomembne so za razvoj možganov in normalno delovanje kognitivnih funkcij. Sodelujejo pri preprečevanju nastanka srčno-žilnih bolezni, astme, diabetesa tipa 2, revmatoidnega artritisa, kroničnih črevesnih bolezni, Alzheimerjeve bolezni itd. (Simopoulos, 2011). Jajca, obogatena z n-3 VNMK so funkcionalno živilo, s katerim bi lahko vplivali na vnos n-3 VNMK na globalni ravni, saj predstavljajo živilo, ki ga ljudje pogosto uživamo (Yannakopoulos, 2007).

Jajca imajo visoko prehransko vrednost zaradi bogate in raznolike sestave hranil. So vir visoko kakovostnih proteinov, lipidov in esencialnih hranil, kot so n-3 VNMK, aminokisline, vitamin A, D, B₁, B₁₂, E ter minerala selen in železo (Shahryar in sod., 2010). Obenem so jajca, v primerjavi z drugimi živali, zaradi visoke vsebnosti maščob še posebej primerna za spreminjanje maščobnokislinske sestave. S spreminjanjem sestave krme lahko vplivamo na maščobnokislinsko sestavo živalskih izdelkov, tudi jajc. Prirejo n-3 jajc je mogoče doseči z obogatitvijo krme kokoši nesnic z virom n-3 VNMK (Yannakopoulos, 2007). Za obogatitev jajc se najpogosteje uporabljajo lanena semena. Ta vsebujejo veliko n-3 VNMK, predvsem α -linolensko kislino (ALA). Spremembe lipidne sestave krme vplivajo na sintezo trigliceridov in fosfolipidov v jetrih kokoši in sodelujejo pri formiranju jajčnega rumenjaka ter tako določajo njegovo kakovost (Mine in Yang, 2010). Ker so n-3 VNMK zaradi svoje nenasičenosti zelo podložne oksidaciji, je pri jajcih, obogatenih s temi maščobnimi kislinami, povečano tveganje za pojav lipidne oksidacije. Produkti, ki nastanejo pri teh reakcijah, so toksični in škodljivi za zdravje, zato je v primeru obogatitve krme z n-3 VNMK potrebna

dodatna zaščita pred oksidacijo. To lahko dosežemo z dodatkom različnih antioksidantov, kot so karotenoidi, polifenoli, tokoferoli v krmno mešanico (Frankič in Salobir, 2007). Antioksidanti preprečujejo lipidno oksidacijo, nastanek tujih vonjev in okusov ter so dober vir tudi za potrošnike. Najbolj učinkovit antioksidant za obogatitev jajčnih rumenjakov je vitamin E, predvsem zaradi topnosti v maščobah (Mine in Yang, 2010). V zadnjih časih se raziskujejo in iščejo novi viri naravnih antioksidantov. Pri tem veljajo oljke kot bogat vir učinkovitih antioksidativnih spojin. S proizvodnjo oliv in oljčnega olja nastanejo precejšnje količine odpadnih stranskih produktov, kot so oljčni listi in oljčna pulpa. Oljčni listi so bogat vir biološko aktivnih komponent, med katere spadajo fenolne spojine z antioksidativnimi učinki. Vsebujejo veliko različnih polifenolov, med katerimi prevladuje olevuropein (Christaki in sod., 2011).

Z raziskavo smo želeli:

- ugotoviti, ali ima dodatek vitamina E, oljčne pulpe, oljčnih listov in ekstraktov iz njih vpliv na oksidativno stabilnost z n-3 VNМК obogatenih svežih, termično obdelanih ter staranih kokošjih jajc;
- ugotoviti, ali ima dodatek vitamina E, oljčne pulpe, oljčnih listov in ekstraktov iz njih vpliv na prehransko vrednost z n-3 VNМК obogatenih svežih, termično obdelanih ter staranih kokošjih jajc;
- določiti prehransko vrednost kokošjih jajc in pokritje potreb glede na referenčne vrednosti;
- določiti, s katerimi prehranskimi in zdravstvenimi trditvami bi lahko opremili z n-3 VNМК obogatena jajca.

2 PREGLED OBJAV

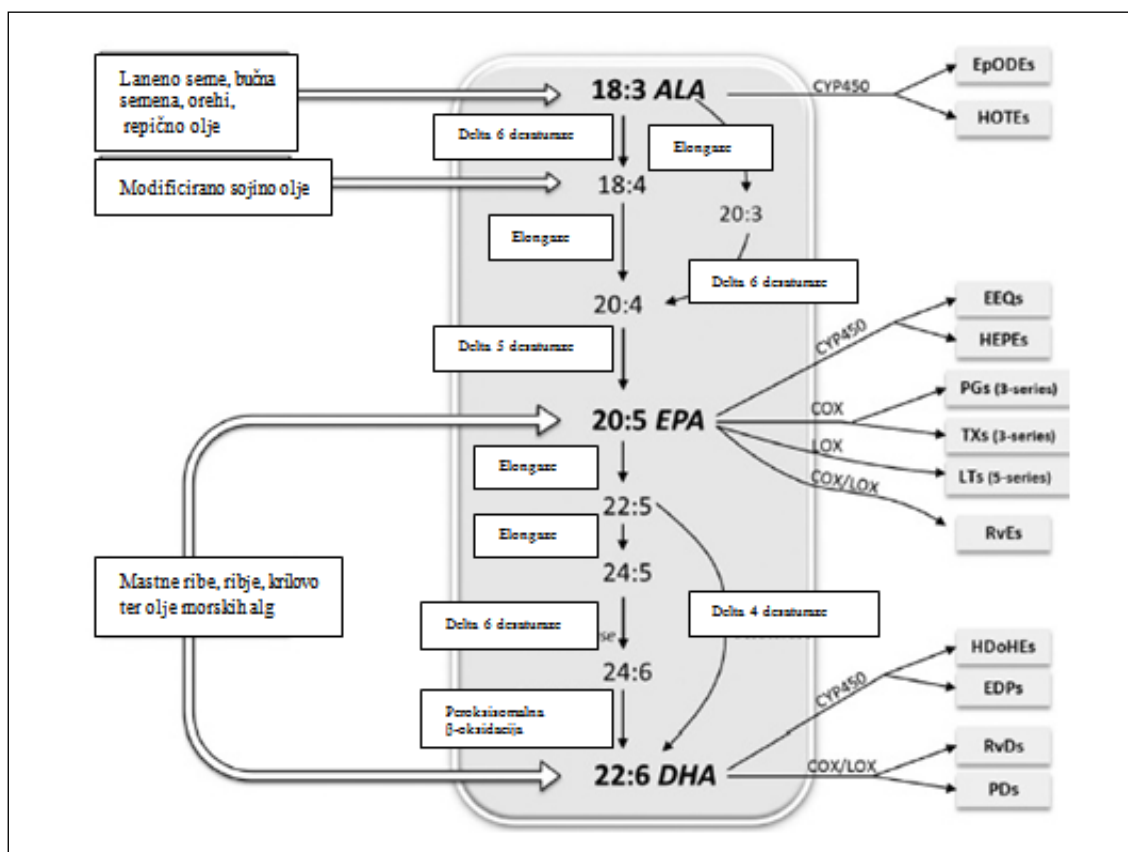
2.1 ESENCIALNOST VEČKRAT NENASIČENIH MAŠČOBNIH KISLIN

VNMK so skupina maščobnih kislin, ki v kemijski strukturi vsebujejo dve ali več dvojnih vezi. Na splošno jih glede na njihov položaj delimo na n-3 in n-6 VNMK. Ogljikov atom metilnega konca ogljikove verige se označuje kot □-ogljik. Maščobne kisline, pri katerih se prva dvojna vez nahaja na tretjem ogljikovem atomu od □-ogljika, se uvrščajo v skupino n-3 VNMK. Kadar se prva dvojna vez nahaja na šestem ogljikovem atomu od □-ogljika, uvrščamo maščobne kisline v skupino n-6 VNMK (Calder, 2012). Med n-6 VNMK je najpomembnejša linolna (C18:2 n-6, LA), med n-3 pa α-linolenska VNMK (C18:3 n-3, ALA). Obe sta v organizmu prekursorji za tvorbo dolgoverižnih VNMK. In sicer: iz LA se sintetizira arahidonska (C20:4 n-6, AA), iz ALA pa eikozapentaenojska (C20:5 n-3, EPA) in dokozaheksaenojska (C22:6 n-3, DHA) maščobna kislina. AA sodi v skupino n-6, EPA in DHA pa sodita v skupino n-3 VNMK (Fraeye in sod., 2012). Za sintezo dolgoverižnih VNMK iz njihovih prekursorjev, LA in ALA je potreben niz kemijskih sprememb, kot so reakcije desaturacije in elongacije. Te reakcije katalizira encimski sistem sestavljen iz acetil koencim-A sintaz, in sicer iz delta-6 in delta-5 desaturaz ter ustreznih elongaz. Tako pri nastanku AA iz n-6 VNMK kot EPA in DHA iz n-3 VNMK sodelujejo enaki encimi, ki katalizirajo kemijske reakcije sinteze (Barceló-Coblijn in Murphy, 2009).

ALA je za organizem esencialna maščobna kislina, saj ne vsebuje encima desaturaze, ki bi omogočil reakcije desaturacije, potrebne za nastanek n-3 VNMK. Endogeno se iz ALA lahko sintetizirajo dolgoverižne VNMK. Tako nastaneta EPA in DHA (Slika 1) (Flock in sod., 2013). S kemijskimi reakcijami desaturacije oz. nastankom dvojnih vezi z delovanjem delta-5 in delta-6 desaturazami ter z reakcijami elongacije oz. s podaljšanjem ogljikove verige z elongazami (Wall in sod., 2010). EPA in DHA se v telesu lahko sintetizirata le v manjših količinah, ki ne zadostujejo potrebam za normalno delovanje organizma. Za njihov nastanek v precej majhnih količinah je več razlogov. In sicer, kemijska pretvorba ALA v dolgoverižne VNMK ne poteka v celoti. 60-85 % ALA vstopa v reakcije β-oksidacije in se uporabi kot vir energije. Preostanek ALA vstopa v reakcije sinteze EPA in DHA (Barceló-Coblijn in Murphy, 2009). Od tega se le do 8 % ALA uporabi za sintezo EPA, DHA pa nastane v še manjših količinah (Flock in sod., 2013). Poleg tega je med LA in ALA prisotna kompeticija za encime. Za sintezo tako n-6 kot n-3 VNMK so potrebni enaki encimi, ki sicer imajo večjo afiniteto za ALA. Učinkovitost sinteze EPA in DHA iz ALA se zmanjšuje s povečevanjem razmerja med LA in ALA pri vnosu teh s hrano in obratno. Pri današnjem načinu prehranjevanja je vnos n-6 VNMK precej visok, v primerjavi z n-3 VNMK, ki zatre pretvorbo ALA v EPA in DHA (Fraeye in sod., 2012). Glede na to, da imata EPA in DHA pomembne fiziološke funkcije v organizmu in je sinteza EPA in DHA iz ALA omejena, je njihov vnos s prehrano izjemno pomemben. Glavni vir LA so rastlinska olja (sončnično, koruzno), kosmiči in živalske maščobe. ALA se v večjih količinah nahaja v zelenolistni zelenjavi, lanenem olju

in olju oljne ogrščice (Wall in sod., 2010). EPA in DHA vsebujejo predvsem mastne ribe (losos, slanik, skuša) in alge ter olja iz njih (Ratnayake in Galli, 2009).

N-3 VNMK so pomembne komponente celičnih membran, vplivajo na njihovo fluidnost in delovanje membranskih encimov ter receptorjev (Wall in sod., 2010). Vgrajujejo se v membranske fosfolipide različnih celic, večinoma v celice s posebnimi fiziološkimi funkcijami, kot so srčne, mišične, živčne in imunske celice. N-3 VNMK so pomembne za optimalen razvoj in delovanje možganov, eritrocitov in levkocitov ter kože. DHA se v večjih količinah nahaja v specializiranih membranah sinaps, celicah retine in miocitih, kjer imajo različne vloge. Delujejo kot strukturni fosfolipidi, nevrottransmiterji in receptorji. DHA in EPA sta prekurzorja za sintezo hormonov eikozanoidov, kot so prostaglandini, tromboksani, eikozanoidi, lipoksini. Imata pomembno vlogo pri regulaciji številnih fizioloških funkcij, in sicer pri regulaciji krvnega pritiska, zlepljanju trombocitov, strjevanju krvi, strukturi krvnih lipidov, imunskih in vnetnih odzivih (Ratnayake in Galli, 2009).

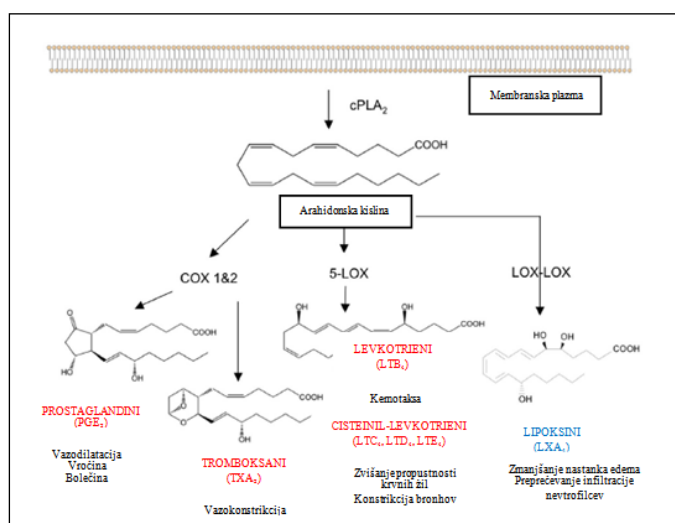


Slika 1: Metabolne poti sinteze n-3 VNMK v jetrih s serijo reakcij desaturacij in elongacij (Flock in sod., 2013: 694).

2.1.1 Vpliv n-3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin na vnetne procese in imunski sistem

Vnetni odziv telesa je skup telesnih sprememb, katerih namen je eliminacija oz. nevtralizacija tujih teles ali patogenov in zaščita organizma pred poškodbami ter infekcijami. Fiziološki znaki vnetja so razširjanje krvnih žil, povečana prepustnost krvnih kapilar, povečan pretok

krvi in nastanek vnetnih izločkov. Sproščajo se tudi številni kemični mediatorji (slika 2), ki s svojim delovanjem povzročajo oteklino, rdečino, vročino in bolečino vnetega tkiva (Calder, 2012). Med kemične mediatorje sodijo lipidni mediatorji, kot so prostaglandini, levkotrieni, tromboksani in proteinski mediatorji, kot so kemokini in citokini. Eksogeni kemični mediatorji imajo vlogo kemoatraktantov, ki privlačijo gibanje levkocitov (nevtrofilci, monociti) s krvjo do vnetnega tkiva. Levkociti se kopičijo v vnetnem tkivu in sodelujejo pri nastanku endogenih kemičnih mediatorjev, ki regulirajo vnetne procese. V zaključnih fazah vnetnih procesov delujejo kot fagociti, in sicer fagocitirajo odmrle tkivne celice, celice mikroorganizmov in ostanke vnetnih izločkov. Ti procesi omogočajo prenehanje vnetnega odziva in povrnitev v stanje homeostaze (Serhan in sod., 2008). V zgodnjih fazah vnetnega odziva levkociti v vnetnem tkivu spodbujajo nastanek lipidnih mediatorjev eikozanoidov (prostaglandini, levkotrieni) s provnetnim delovanjem. Po določenem času trajanja vnetja, ko je vnetje že napredovalo, levkociti spremenijo profil nastanka lipidnih mediatorjev. Z interakcijo z drugimi levkociti, trombociti, sluzničnimi epitelnimi celicami aktivirajo njihovo sposobnost sinteze lipidnih mediatorjev s protivnetnim delovanjem. Tako se preneha sinteza prostaglandinov in levkotrienov ter se začne sinteza protivnetnih lipoksinov (resolvini, protektini). Ti spodbujajo zaključitev vnetja, in sicer uničenje patogenov in sanacijo poškodbo tkiva ter tako zaključijo vnetne procese (Fredman in Serhan, 2012).



lika 2: Biosinteza eikozanoidov (Fredman in Serhan, 2012: 42)

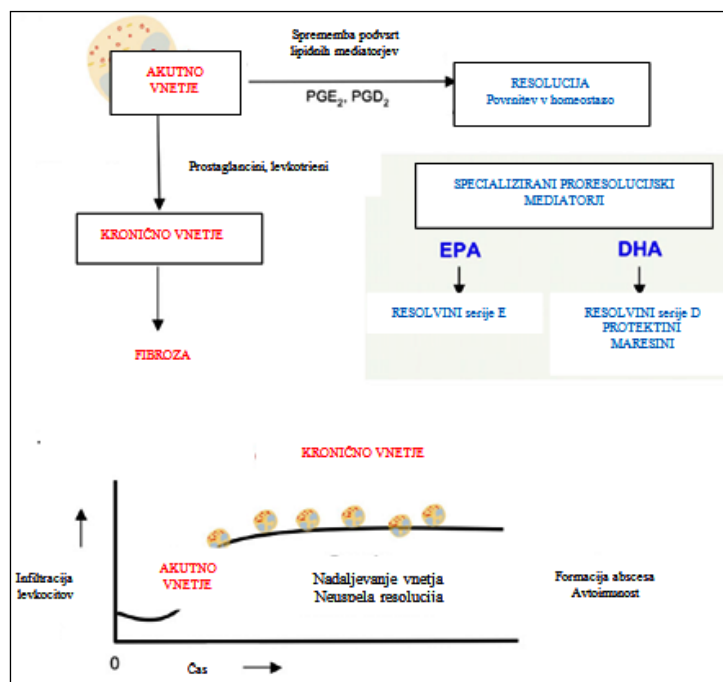
Ena od pomembnih karakteristik vnetnih procesov je, da prenehajo takrat, ko v organizmu niso več prisotni provnetni dražljaji in je ponovno doseženo stanje homeostaze. Poleg tega je za prenehanje vnetnih procesov pomembna faza resolucije, med katero se sproščajo številni lipidni mediatorji (Weylandt in sod., 2012). Faza resolucije vnetja ni pasiven proces, ampak je aktiven biokemični in metabolni proces, med katerim poteka biosinteza specializiranih protivnetnih in proresolucijskih mediatorjev (Serhan in sod., 2008). Ti na provnetne mediatorje delujejo antagonistično, poleg tega spodbujajo in pospešujejo procese, pomembne za resolucijo vnetja (Weylandt in sod., 2012). Protivnetni mediatorji delno nastajajo iz dolgoveržnih VNMK, med katere sodijo resolvini, protektini, maresini, lipoksini. Regulirajo fazo resolucije in tako ublažijo intenzivnost ter trajanje vnetnega odziva (Calder, 2012).

Omenjeni protivnetni mediatorji ne delujejo imunosupresivno (preprečevanje vnetnega odziva), ampak v fazi resolucije vnetja delujejo protivnetno. Na lokalnem nivoju stimulirajo in pospešujejo resolucijo z različnimi mehanizmi, in sicer preprečujejo infiltracijo nevtrofilcev in eozinofilcev, aktivirajo fagocitozo makrofagov, stimulirajo protimikrobno delovanje sluznice epitelnih celic, spodbujajo prehod makrofagov z mesta vnetja nazaj v limfni sistem (Fredman in Serhan, 2012). Lipidni mediatorji, tako provnetni kot protivnetni, se sintetizirajo iz n-6 in n-3 dolgoverižnih VNMK. AA je prekursor za nastanek podskupin prostaglandinov, levkotrienov in tromboksanov z visoko biološko aktivnostjo oz. z močnimi provnetnimi učinki. EPA in DHA sta prekursorja za nastanek podskupin s precej nižjo biološko aktivnostjo, zato lahko rečemo, da imajo protivnetno delovanje (Weylandt in sod., 2012). Lipoksini so edini lipidni mediatorji sintetizirani iz AA, ki delujejo protivnetno (Mas in sod., 2012). Številne študije so dokazale protivnetne učinke n-3 VNMK tako na živalih kot na ljudeh. Te regulirajo različne procese vnetnega odziva (kemotaksa, ekspresija adhezijskih molekul, adhezijske interakcije med celicami, nastanek eikozanoidov ter citokinov) pri različnih zvrsteh celic (nevtrofilci, monociti, makrofagi, dendritične celice, endotelijske celice). N-3 VNMK s spremembo maščobnokislinske sestave fosfolipidov celičnih membran vplivajo na celično signalizacijo, pri čemer prihaja tudi do sprememb pri ekspresiji genov in profila nastanka lipidnih mediatorjev. N-3 VNMK delujejo na vnetne procese tudi preko celične površine, in sicer z vezavo na receptorje G proteinov 120 (GP 120) in znotrajcelično z vezavo na receptorje PPAR. Na ta način kontrolirajo celično signalizacijo in ekspresijo genov, ki sodelujejo pri vnetnih procesih (Calder, 2012). Glavni mehanizem protivnetnega delovanja n-3 VNMK je preprečevanje nastanka provnetnih mediatorjev. Delujejo kot antagonisti AA in preprečujejo sintezo provnetnih podskupin prostaglandinov (PG), evkotrienov (LT) ter tromboksanov (TX) (Weylandt in sod., 2012).

VNMK so strukturne in funkcionalne komponente fosfolipidov celičnih membran. Fosfolipidi celic vključenih v vnetni odziv (nevtrofilci, monociti, makrofagi) vsebujejo več AA in precej manj EPA in DHA. Z uživanjem n-3 VNMK se poveča njihova vsebnost v celičnih membranah, saj se vgradijo v fosfolipide in spremenijo njihovo maščobnokislinsko sestavo. Tako zmanjšajo vsebnost AA v celičnih membranah, posledično pa preprečijo nastanek provnetnih mediatorjev iz AA (Calder, 2012). Poleg tega lahko inhibirajo ekspresijo encimov ciklooksigenaz in lipooksigenaz, potrebnih za njihov nastanek iz AA (Weylandt in sod., 2012). N-3 in n-6 VNMK so substrati za enake encime, in sicer ciklooksigenaze in lipooksigenaze, ki sodelujejo pri sintezi eikozanoidov (prostaglandinov, tromboksanov, levkotrienov). Katere zvrsti eikozanoidov se bodo sintetizirale, je odvisno od razmerja med prehranskim vnosom n-6 in n-3 VNMK. Eikozanoidi uravnavajo krvni pritisk, zlepljanje trombocitov, vazodilatacijo krvnih žil, vnetni odziv, alergijske reakcije itd. Razlika v delovanju eikozanoidov, nastalih iz n-6 in n-3 VNMK je v intenzivnosti njihovega delovanja. Eikozanoidi sintetizirani iz n-3 VNMK ublažijo prej omenjene fiziološke procese, eikozanoidi, nastali iz n-6 VNMK jih spodbujajo oz. ojačijo (Riediger in sod., 2009). Eikozanoidi so le ena od številnih zvrsti lipidnih mediatorjev, ki nastajajo iz dolgoverižnih VNMK. Ko celične membrane vsebujejo večje količine AA, nastaja tudi več eikozanoidov iz le-te. AA se iz fosfolipidov celične membrane sprosti z delovanjem encimov fosfolipaz.

Naprej se metabolizira z lipooksigenazami in ciklooksigenazami. Pri metabolizmu AA s ciklooksigenazami nastajajo PGE, PGD, PDF ter LX serije 2. Pri metabolizmu z lipooksigenazami nastajajo LTA, LTB, LTC, LTD, LTE serije 4. Eikozanoidi nastajajo v celicah, vključenih v vnetni odziv, kot so nevtrofilci, monociti, makrofagi, mastociti. Eikozanoidi, nastali iz AA imajo provnetne učinke, in sicer PGE₂ inducira nastanek provnetnega citokina interleukina 6 (IL-6) v makrofagih ter povzroči bolečino in vazodilatacijo krvnih žil. LTB₄ je kemotaktični agens za levkocite in aktivator nevtrofilcev, prav tako povzroča nastanek drugih provnetnih citokinov, kot so TNF- α , IL-1, IL-6. Čeprav imajo eikozanoidi iz AA provnetne učinke, so pomembni za sprožanje vnetnega odziva z namenom obrambe organizma. V prekomernih količinah so škodljivi za zdravje zaradi nenehnega spodbujanja vnetnih procesov, ki povzročijo večje poškodbe tkiv, nastanek trombov in razvoj kroničnih bolezni, kot so astma, revmatoidni artritis, vnetne črevesne bolezni. EPA in DHA sta substrata za enake encime kot AA, zato tudi iz njih nastajajo eikozanoidi, in sicer PG in TX serije 3 ter LT serije 5. Ti so manj provnetni oz. imajo protivnetno delovanje. LTB₄ iz EPA imajo desetkrat manjše kemotaktično delovanje na nevtrofilce kot LTB₅ iz AA. Prav tako PGE₃ v veliko manjši meri inducira nastanek IL-6 kot PGE₂ (Galli in Calder, 2009).

N-3 VNMK kvalitativno in kvantitativno modulirajo eikozanoidne poti. Nastanek eikozanoidov iz AA se zmanjša v primeru povečanega uživanja EPA in DHA, ki imajo protivnetne učinke in tako zmanjšujejo vnetne procese (Galli in Calder, 2009). Povečano uživanje EPA in DHA poveča tudi njuno koncentracijo v fosfolipidih membran celic, ki so del imunskega odziva. Vgrajevanje v membrane je odvisno od prehranskega vnosa in se s povečanjem vnosa prav tako povečuje. Njuna vsebnost v membranah je delno odvisna tudi od zmanjšanja količine AA v membranah oz. od zmanjšane vnosa s prehrano (Wall in sod., 2010). Poleg vpliva na metabolizem AA in sintezo provnetnih mediatorjev se lahko iz n-3 VNMK sintetizirajo mediatorji resolvini in protektini, ki direktno učinkujejo protivnetno (slika 3) (Weylandt in sod., 2012). Resolvini skupine D in E so endogeni lipidni mediatorji, ki nastanejo v fazi resolucije pri vnetnih procesih iz n-3 VNMK (Scrafford in sod., 2010). Resolvini serije E in protektin D₁ nastanejo iz EPA, resolvini serije D iz DHA (Weylandt in sod., 2012). Imajo protivnetno in proresolucijsko delovanje ter regulirajo intenzivnost in trajanje vnetnih procesov (Ji in sod., 2011). Resolvin E₁ inhibira kopičenje nevtrofilcev, regulira sintezo kemokinov in citokinov, spodbuja povrnitev fagocitov iz vnetnega tkiva nazaj v limfni sistem, zmanjšuje ekspresijo genov, ki sprožajo vnetne procese, preprečuje izgubo kostne mase in vezivnega tkiva, spodbuja celjenje poškodovanega vnetnega tkiva. Resolvin D₁ inhibira kopičenje nevtrofilcev, zmanjšuje spremljevalno bolečino (Im, 2012).



Slika 3: Specializirani proresolucijski mediatorji v fazi resolucije akutnega vnetja (Fredman in Serhan, 2012: 43)

Poleg vpliva na nastanek provnetnih mediatorjev iz AA in sinteze protivnetnih mediatorjev, imajo n-3 VNMK sposobnost inhibicije številnih drugih aspektov vnetja, kot so kemotaksa levkocitov in adhezijske interakcije med levkociti. Kemotaksa je prenos levkocitov po krvnem obtoku do vnetnega tkiva. Ta prenos spodbujajo kemoatraktanti, ki se izločajo v vnetnem tkivu. N-3 VNMK zmanjšajo kemotakso nevtrofilcev in monocitov. Prav tako vplivajo na ekspresijo adhezijskih molekul in reakcije med levkociti ter endotelijskimi celicami. Adhezijske molekule so proteini na površini endotelijskih celin in levkocitov, ki omogočajo njihovo medsebojno interakcijo. Preko teh interakcij levkociti komunicirajo s celicami sten krvnih žil in se po krvnem obtoku prenašajo do mesta vnetja, skozi endotelij krvnih žil pa v vneto tkivo. N-3 VNMK pri monocitih in nevtrofilcih zmanjšajo ekspresijo adhezijskih molekul. Tako preprečijo prenos levkocitov do mesta vnetja in zmanjšajo njihovo delovanje na vnetne procese (Calder, 2012). N-3 VNMK delujejo protivnetno tudi preko vpliva na ekspresijo genov, in sicer z regulacijo njihovih transkripcijskih faktorjev, kot sta NF- κ B in PPAR. NF- κ B sodeluje pri številnih signalnih poteh vnetnega odziva, in sicer regulira nastanek in delovanje citokinov (IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, TNF- α), kemokinov (IL-8, MCP-1) ter adhezijskih molekul (Wall in sod., 2010). NF- κ B je eden od glavnih transkripcijskih faktorjev vključenih v vnetni odziv, saj direktno vpliva na ekspresijo genov (jih aktivira), ki kodirajo provnetne citokine. NF- κ B se aktivira z ekstracelularnimi provnetnimi dražljaji. N-3 VNMK preprečujejo njegovo aktivacijo, s tem preprečujejo tudi ekspresijo genov vnetnih procesov, ki jih NF- κ B aktivira (Calder, 2012). Poleg tega n-3 VNMK tekmujejo z lipopolisaharidi in nasičenimi maščobnimi kislinami za vezavo in aktivacijo Tollu podobnih receptorjev (TLR), kot je TLR4 kar prav tako inaktivira NF- κ B. V nasprotnem primeru, če se vežejo na TLR, se NF- κ B aktivira (Im, 2012). PPAR α , β in γ so jedrni ligand aktivirajoči transkripcijski faktorji, ki imajo pomembno vlogo pri celični diferenciaciji, vnetnem odzivu, inzulinski občutljivosti ipd. Delujejo protivnetno, saj

regulirajo vnetni odziv in ekspresijo genov vnetnih procesov. Njihovi ligandi so VNMK, predvsem n-3 VNMK in njihovi derivati. N-3 VNMK aktivirajo PPAR in s tem tudi ekspresijo genov, ki aktivirajo PPAR. Posledično se zmanjša nastanek provnetnih citokinov $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 (Wall in sod., 2010). N-3 VNMK delujejo tudi na celične membranske G proteine, kot je GP120. Ti proteini se nahajajo v makrofagih, dendritičnih celicah, adipocitih, epitelnih celicah bronhija, enteroendokrinih celicah debelega črevesja (Im, 2012). Pri vnetnem odzivu makrofagi na svoji površini ekspresirajo GP120 v večjih količinah. N-3 VNMK se vežejo na njih, jih aktivirajo in s tem preprečijo aktivacijo NF-kB (Calder, 2012).

Vnetni odziv se pri zdravih ljudeh uravnava z mehanizmi negativne regulacije, ki preprečujejo nadaljnje vnetne procese na različne načine (izločanje protivnetnih citokinov, izločanje resolucijskih lipidnih mediatorjev, inhibicija provnetnih mediatorjev). V primeru poškodb regulatornih mehanizmov je vnetni odziv konstantno aktiven. Tako akutno vnetje preide v kronično, ki povzroči različne kronične bolezni, kot so: artritis, astma, bolezni obzobnih tkiv, diabetes, srčno-žilne bolezni ipd. (Calder, 2012). Pojav vnetnih kroničnih bolezni je v korelaciji s prekomernim uživanjem n-6 in nezadostnim uživanjem n-3 VNMK (Wall in sod., 2010). Pri boleznih, ki jih povzročajo kronična vnetja, je vsebnost protivnetnih in proresolucijskih mediatorjev zmanjšana v primerjavi z zdravimi ljudmi (Fredman in Serhan, 2012). N-3 VNMK uravnavajo imunske procese in tako preprečujejo bolezni, ki so posledica kroničnega vnetja, kot so: srčno-žilne bolezni, revmatoidni artritis, vnetne črevesne bolezni, astma (Weylandt in sod., 2012). Revmatoidni artritis je kronična avtoimunska bolezen, ki jo spremlja kronično vnetje, otekline, bolečine, slabša gibljivost, osteoporoza, propadanje mišic. Spremlja jo tudi povečana koncentracija provnetnih eikozanoidov v krvi kolnikov. Študije so pokazale, da ribje olje zmanjša nastanek vnetnih mediatorjev, kot je TB_4 . Poleg tega pride do izboljšanja kliničnih simptomov: zmanjšanje jutranje togosti, zmanjšanje bolečine v sklepih, zmanjšanje otekanja sklepov. Pri astmi je dokazana povezava med visokim vnosom n-6 in nizkim vnosom n-3 VNMK. Eikozanoide, ki se sintetizirajo iz AA (PG_2 , LTC_4 , LTD_4 , LTE_4), proizvajajo celice, ki regulirajo vnetne procese v pljučih in so glavni vzrok astmatičnih krčev bronhijev. N-3 VNMK imajo protivnetne učinke tudi pri astmi, saj med ostalim zmanjšujejo nastanek LTE_4 . Crohnova bolezen in ulcerozni kolitis sta bolezni prebavnega trakta, ki običajno nastaneta zaradi kroničnega vnetja. Pri Crohnovi bolezni je vnetje prisotno vzdolž celotnega prebavnega trakta, dočim ulcerozni kolitis prizadene samo debelo črevo. Pri teh boleznih je prisotna povečana količina eikozanoidov vrste LTB_4 , ki so produkti AA. Študije so pokazale povezanost med vnosom n-6 in n-3 VNMK v širokem razmerju in povečanim pojavom Crohnove bolezni. Ribje olje je imelo pozitivne učinke na kronične vnetne bolezni črevesja (ulcerozni kolitis, Crohnova bolezen), in sicer: zmanjšalo je nastanek eikozanoidov in izboljšalo klinične znake bolezni (Galli in Calder, 2009).

2.1.2 Regulacija vnetja maščobnega tkiva z n-3 večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami

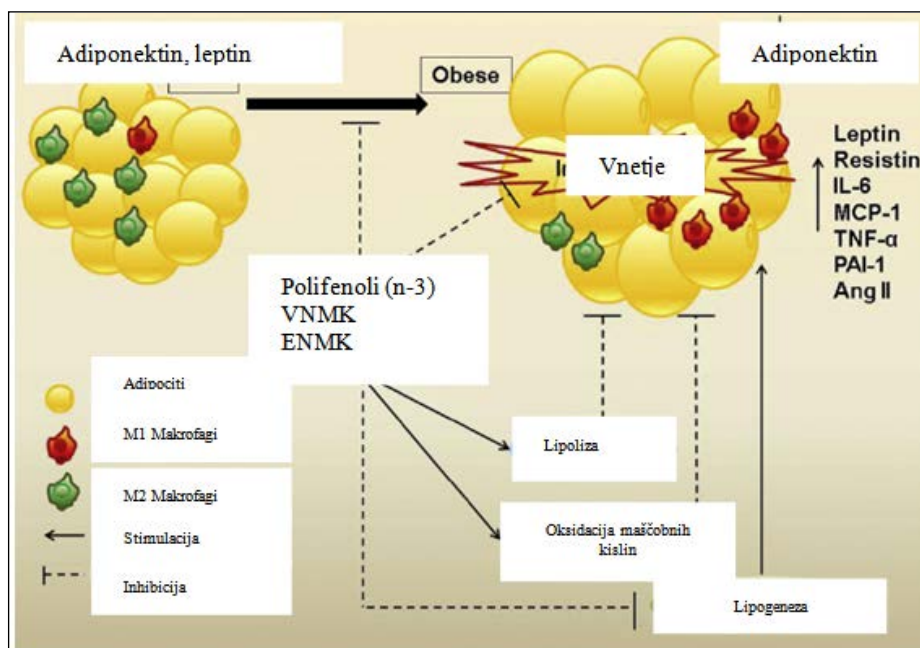
Debelost je danes prisotna po celemu svetu, in sicer v takšni meri, da je že dosegla epidemiološke razmere. Vzroki za pojav debelosti so multifaktorialni, prehrana je eden od glavnih (Golub in sod., 2011). Težave se pojavljajo predvsem zaradi neravnovesja med vnosom in porabo kalorij. Glavni vzrok je previsok vnos kalorij, predvsem v obliki maščob in previsok vnos n-6 VNMK kar posledično razširi razmerje med n-6 in n-3 VNMK (Kim in sod., 2013). Debelost je stanje, ki je zelo kompleksno, saj škodljivo vpliva na različne organske sisteme (endokrini, prebavni, srčno-žilni, centralni živčni sistem) in okvari njihovo normalno delovanje. Iz tega razloga se pojavljajo tudi številne komplikacije kot posledice debelosti. Ta je eden od glavnih vzrokov za nastanek diabetesa tipa 2, povišanega krvnega tlaka, srčno-žilnih bolezni, rakavih obolenj in predčasne smrti (Golub in sod., 2011).

Maščobno tkivo ima v telesu številne pomembne vloge, in sicer deluje kot zaloga energije, sodeluje pri regulaciji toplote, oblaga in tako ščiti pomembne notranje organe. Poleg tega je metabolno aktiven organ z endokrino funkcijo, saj izloča številne biološko aktivne mediatorje, imenovane adipokini. Tako pomembno prispeva k regulaciji energijske homeostaze in sistemski inzulinski občutljivosti. Poleg adipocitov in preadipocitov maščobno tkivo vsebuje tudi imunske celice makrofage in limfocite, ki sodelujejo pri ohranjanju pravilnega delovanja metabolnih funkcij. Vsaka sprememba v strukturi imunskih celic (hipertrofija, poškodbe maščobnih celic itd.) negativno vpliva in moti normalno delovanje endokrinih funkcij maščobnega tkiva. Prav te so v primeru debelosti okvarjene. Debelost nastaja s povečanjem velikosti (hipertrofija) in/ali števila (hiperplazija) maščobnih celic. Hiperplazija nastane s proliferacijo in diferenciacijo začetnih maščobnih celic, hipertrofija pa s povečanim skladiščenjem maščob v maščobnih celicah. Pri debelosti večinoma prevladuje hipertrofija. Zaradi nje prihaja do remodeliranja maščobnega tkiva in vnetja, ki povzročata okvarjeno delovanje tako metabolnih funkcij lokalnega maščobnega tkiva kot sistemskih metabolnih funkcij (Siriwardhana in sod., 2013). Vnetje prisotno pri debelosti je nizkointenzivno in sistemsko. Rezultat je nastanek provnetnih mediatorjev adipokinov, kot so tumor nekrotizirajoči faktor α (TNF- α), interleukin 6 (IL-6), monocitni kemoatraktivni protein-1 (MCP-1), rezistin, angiotenzinogen (Agt), C-reaktivni protein in leptin (Munro in Garg, 2013; Siriwardhana in sod., 2012). Maščobno tkivo proizvaja tudi druge hormone vnetja, kot so angiotenzin II, steroidni hormoni, kemokini, ki prav tako povzročajo metabolne in kronične bolezni (Siriwardhana in sod., 2012). Adipozno tkivo lahko izloča tudi nekatere protivnetne citokine, kot sta adiponektin in interleukin-10 (Siriwardhana in sod., 2013). Sekrecija oz. nastanek provnetnih adipokinov se pri debelosti povečuje v odvisnosti od stopnje debelosti. Z zmanjšanjem količine maščobnega tkiva z znižanjem telesne teže nastaja manj provnetnih adipokinov in se istočasno izboljšajo tudi metabolne funkcije (Munro in Garg, 2013).

Profil nastanka adipokinov je odvisen od količine in strukture maščobnega tkiva. Zaradi povečanih maščobnih celic pri debelosti se izločajo provnetni adipokini, med katerimi imata TNF- α in IL-6 največji vpliv na motnje delovanja organizma. TNF- α povzroča inzulinsko

rezistenco, pospešuje aterosklerozo, inducira močno aktivacijo NF- κ B. Ta je glavni transkripcijski faktor, ki regulira gene, odgovorne za vnetne procese. IL-6 prav tako okvari mehanizme izločanja inzulina in spodbuja nastanek C reaktivnega proteina, ki je marker tveganja za pojav srčno-žilnih bolezni. IL-6 v jetrih stimulira nastanek VLDL in tako povzroča povišano vsebnost trigliceridov v krvi. Oba adipokina regulirata sintezo drugih adipokinov, in sicer zmanjšujeta nastanek adiponektina ter povečujeta nastanek leptina. Adiponektin sodeluje pri ekspresiji adhezijskih molekul in transformaciji makrofagov v penaste celice, ki so dejavniki tveganja za pojav srčno-žilnih bolezni. Adiponektin prav tako zmanjša vnetje s preprečevanjem aktivacije NF- κ B ter posledično z inhibicijo TNF- α . Leptin sodeluje pri regulaciji nastanka maščobnih celic. Izloča se iz maščobnega tkiva in deluje na živčni sistem, kjer z regulacijo apetita sodeluje pri signalizaciji nastanka maščobnih celic. Poleg tega leptin sodeluje pri regulaciji genov vključenih v β -oksidacijo maščobnih kislin. Pri debelosti je izločanje leptina precej povečano, zaradi česar prihaja do rezistence celic na leptin in preprečevanje njegovega delovanja (Leal in Mafra, 2013).

N-3 VNMK imajo protivnetne učinke na vnetne procese maščobnega tkiva (slika 4). Preko različnih mehanizmov regulirajo nastanek provnetnih adipokinov: angiotenzinogen (Agt), interleukin 6 (IL-6), monocitni kemotaktični protein (MCP-1) ipd. In sicer: aktivirajo AMPK, PPAR, G proteine 120, preprečujejo aktivacijo Tollu podobnih receptorjev (TRL) in NF- κ B. AMPK je z adenzin monofosfatom aktivirana protein kinaza, ki spodbuja β -oksidacijo maščob v jetrih in tankemu črevesju in tako zmanjša vsebnost adipocitov oz. povzroča njihovo atrofijo. Zmanjšana aktivnost AMPK je povezana s pojavom vnetja (Siriwardhana in sod., 2013). PPAR so signalne molekule z vlogo transkripcijskih faktorjev. Regulirajo ekspresijo genov, ki modulirajo metabolizem lipidov. So močni induktorji genov za oksidacijo maščob in reducirajo vnetje maščobnega tkiva. N-3 VNMK DHA in EPA so PPAR ligandi in z vezavo omogočajo njihovo aktivacijo (Kim in sod., 2013). N-3 VNMK so ligandi tudi za G protein 120. Aktivacija teh proteinov inhibira signalizacijo TNF- α . Ker je TNF- α aktivator NF- κ B, ki deluje kot provnetni transkripcijski faktor in regulira izločanje provnetnih adipokinov, je njegova aktivnost prav tako inhibirana ter je zmanjšano izločanje provnetnih adipokinov. Raziskave so pokazale, da se je pri različnih razmerjih vnosa AA/EPA s povečanjem koncentracije AA povečalo izločanje vseh provnetnih adipokinov. Ob povečanju koncentracije EPA in znižanjem AA se je znižalo izločanje adipokinov. Dodatek EPA znižal tudi vsebnost NF- κ B (Siriwardhana in sod., 2012).



Slika 4: Vplivi n-3 VNMK na delovanje maščobnega tkiva (Siriwardhana in sod., 2013: 614).

Poleg že omenjenih mehanizmov delovanja n-3 VNMK na nastanek provnetnih adipokinov EPA lahko prepreči njihov nastanek tudi z interakcijami z AA. Tekmuje z AA za vgradnjo v celične membrane in ob povečanem vnosu lahko zmanjša nastanek eikozanoidov iz AA. Vpliva na profil nastanka adipokinov, in sicer poveča nastanek protivnetnih adipokinov, kot je adiponektin in zmanjša nastanek provnetnih adipokinov, kot so TNF- α , MCP-1, IL-6 (Kim in sod., 2013).

2.1.3 Prehranska priporočila za vnos n-3 večkrat nenasičenih maščobnih kislin

Referenčne vrednosti za vnos hranil predstavljajo osnovo za ocenjevanje kakovosti živil in prehrane ter so pomembne pri sestavljanju prehranskih priporočil. Namen prehranskih referenčnih vrednosti je vsekakor ohranjanje in izboljšanje zdravja na način, da pri večini prebivalstva omogočijo normalno delovanje psihičnih, fizičnih in metabolnih funkcij. Referenčne vrednosti za vnos hranil (preglednica 1) so sestavljene na osnovi potreb po vnosu hranil za prebivalstvo centralnega evropskega prostora. Slovenija jih je prevzela kot standarde za načrtovanje prehrane in pripravo standardnih referenčnih vrednosti za posamezne skupine prebivalstva (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Odrasli naj bi pri dnevnem zauživanju 2000 kcal energije zaužili 25-30 % energije v obliki maščob. Manj kot 10 % E naj bi bilo nasičenih maščobnih kislin (NMK), 7-10 % energije naj bi izhajalo iz VNMK. Višji vnos VNMK kot določajo priporočila, je škodljiv za zdravje zaradi možnosti povečanja obsega lipidne peroksidacije in nastanka toksičnih prostih radikalov. Poleg tega ima lahko uživanje previsokih količin dolgoveržnih n-3 VNMK negativne učinke na delovanje imunskega sistema in nastanka citokinov. Iz tega razloga so priporočila za VNMK do največ 10 % E, od tega do 3 % E v obliki n-3 VNMK. Razmerje med LA (n-6) in ALA (n-3) VNMK naj bi bilo vsaj 5:1 oz. čim ožje. Ozko razmerje med LA

in ALA je pomembno zaradi prej omenjene kompeticije encimov, potrebnih za pretvorbo v dolgoverižne VNMK. Visoki vnosi linolenske VNMK ovirajo pretvorbo α -linolenske v EPA in DHA (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004; Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008).

Preglednica 1: Referenčne vrednosti za vnos maščob za moške in ženske starosti 25-51 let z dnevnim vnosom energije 2000 kcal (Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008)

	% skupne energije	g/dan
Skupne maščobe	25-30	56-66
Nasičene maščobne kisline (NMK)	< 10	< 22
Večkrat nenasičene maščobne kisline (VNMK)	7-10	16-22
n-6 VNMK	5,8	12,9
n-3 VNMK	1,2	2,7

Preglednica 2 prikazuje referenčne vrednosti Svetovne zdravstvene organizacije (WHO, 2008) za vnos maščob za različne starostne skupine. Za zadostitev potreb po energiji, esencialnih maščobnih kislinah in v maščobah topnih vitaminih naj bi bil minimalen vnos maščob za odrasle 15 % E, za ženske v rodni dobi 20 % E. Priporočen maksimalen vnos skupnih maščob je 30-35 % E. NMK kot so lavrinska, miristinska in palmitinska, zvišujejo raven LDL (lipoproteini nizke gostote) holesterola v krvi, zato njihov vnos naj ne bi presegal 10 % E. WHO priporoča nadomestitev NMK z VNMK, saj dokazano zmanjšujejo tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni, vplivajo na zmanjšanje LDL in povečanje koncentracije HDL (lipoproteini visoke gostote) holesterola v krvi, prav tako zožijo razmerje med skupnim in HDL holesterolom. V manjši meri, s podobnim učinkom, ima nadomestitev NMK z enkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami (ENMK). Vnos VNMK naj bi bil do največ 10 % E. Uživanje VNMK v količinah višjih od priporočenih vrednosti lahko povzroči lipidno peroksidacijo, pri čemer nastajajo prosti radikali, ki so škodljivi za zdravje. Za preprečevanje bolezni srca in ožilja oz. za zmanjšanje ravni LDL ter povečanje ravni HDL holesterola v krvi je potreben vnos VNMK najmanj 6 % E. Od tega naj bi bil minimalen dnevni vnos LA 2,5 % E in ALA 0,5-0,6 %. Priporočen vnos EPA in DHA za odrasle je 0,250–2,0 g/dan, za nosečnice in doječe matere pa 0,3 g/dan, od tega vsaj 0,2 g/dan DHA. Priporočila Nove Zelandije in Avstralije za uživanje DV VNMK dovoljujejo maksimalen vnos EPA in DHA 0,3 g/d. To vrednost je potrdil ameriški vladni urad za prehrano in zdravila (FDA) in je označena s statusom GRAS oz. kot snov splošno priznana kot varna. Nekatere raziskave so pokazale, da vnos 0,3 g/dan dolgoverižnih VNMK povečuje tveganje za lipidno oksidacijo, iz tega razloga je WHO obdržala priporočeno vrednost 0,2 g/dan (WHO, 2008).

Preglednica 2: Priporočene vrednosti za dnevni vnos maščob (WHO, 2008: 3-4)

	Dojenčki	Otroci	Odrasli
Skupne maščobe	0,6 m = 40 – 60 (% E, AMDR) 6 - 24 m = < 35 (% E, AMDR)	2 - 18 l = 25 – 35 (% E, AMDR)	20 – 35 (% E, AMDR)
NMK		8 (% E, U-AMDR)	10 (% E, U-AMDR)
ENMK		Skupni vnos maščob-NMK-VNMK (% E)	
n-6 VNMK	6-24 m = manj kot 15 (% E, U-AMDR)	Največ 11 (% E, U-AMDR)	6 – 11 (% E, U-AMDR)
LA	6-12 m = 3 - 4,5 (% E, AI) 12-24 m = 3 - 4,5 (% E, AI)		2,5 – 9 (% E, AMDR)
ALA	0-6 m = 0,2 - 0,3 (% E, AI) 6-12 m = 0,4 - 0,6 (% E, AI) 12-24 m = 0,4 - 0,6 (% E, AI)		0,5 - 2 (% E, AMDR)
DHA	0-6 m = 0,1 - 0,18 (% E, AI) 6-12 m = 10 - 12 (mg/kg, AI) 12-24 m = 10 - 12 (mg/kg, AI)		
EPA+DHA		2 - 4 l = 100 – 150 mg (AI) 4 - 6 l = 150 - 200 mg (AI) 6 - 10 l = 200 - 250 mg (AI)	250 - 2000 mg/d

m= mesec

l=leto

d=dan

AI= zadosten dnevni vnos

AMDR= sprejemljiv vnos makrohranil (acceptable macronutrient distribution range)

U-AMDR= zgornja meja sprejemljivega vnosa makrohranil (upper level of acceptable macronutrient distribution range)

Strokovno mnenje evropske agencije za varno hrano (EFSA) podaja prehranske smernice o vnosu n-6 in n-3 VNMK, in sicer dnevni priporočen vnos za odrasle (preglednica 3). Referenčne vrednosti so določene za povprečno populacijo na podlagi podatkov mednarodnih strokovnih inštitucij o vnosu VNMK. Referenčne vrednosti se določajo kot minimalen dnevni vnos za preprečevanje simptomov pomanjkanja, večinoma pa se določajo na podlagi primerjave vnosa VNMK in učinkih na nevrološke ter srčno-žilne fiziološke funkcije (EFSA, 2009).

Preglednica 3: Referenčne vrednosti mednarodnih strokovnih inštitucij za vnos maščobnih kislin za odrasle (NHMRC, 2005: 37; FAO/WHO, 2008: 3; ISSFAL, 2004:4; ADA/DC, 2007: 1607; EFSA, 2009: 6)

Država/ inštitucija	LA		ALA		EPA+DHA		n-3VNMK	
	% E	g/dan	% E	g/dan	% E	g/dan	% E	g/dan
NHMRC (2005)								
Moški		13 (AI)		1,3 (AI)				0,160 (AI)
Ženske		8 (AI)		0,8 (AI)				0,09 (AI)
FAO/WHO (2008)	2,5-9 (AMDR)		≥ 0,5 (L-AMDR)		0,250-2 (AMDR)			
ISSFAL (2004)	2		0,7		0,5			
ADA/DC (2007)			0,6-1,2					0,5
Združene države Amerike*	5-10		0,6-1,2					
Združeno kraljevstvo*								0,45
Skandinavske države*	≥4		1		0,45		1	
Nemčija, Avstrija, Švica*	2,5						0,5	
Nizozemska*	2		1		0,45			
EFSA (2009)	10		2		0,25			

AI= zadosten dnevni vnos

AMDR= sprejemljiv vnos makrohranil (acceptable macronutrient distribution range)

L-AMDR= spodnja meja sprejemljivega vnosa makrohranil (lower level of acceptable macronutrient distribution range)

* Vir: EFSA, 2009

2.2 ANTIOKSIDANTI IN OKSIDACIJSKI STRES

Prosti radikali so molekule ali molekulski fragmenti, ki vsebujejo enega ali več neparnih elektronov v atomski ali molekulski strukturi. Takšen elektron jim daje pomembno lastnost zelo reaktivnih spojin (Valko in sod., 2007). Pri običajnem delovanju organizma v majhnih količinah prosti radikali nenehno nastajajo. V telesu imajo pomembno vlogo, saj delujejo protimikrobno na patogene mikroorganizme, preprečujejo prekomerno aktivnost imunskega sistema, sodelujejo v celični signalizaciji (Halliwell, 2011). Med proste radikale sodijo hidroksilni, superoksidni anionski, lipidni peroksidni radikali. Hidrogen peroksid, ozon, lipidni peroksid, peroksnitrit so oksidi z oksidativno sposobnostjo. Nastajajo z encimskimi reakcijami pri celičnem dihanju, fagocitozi, sintezi prostaglandinov; z neencimskimi reakcijami prav tako pri celičnem dihanju, njihov nastanek povzroča tudi ionizirajoče sevanje. Med proste radikale vključujemo tudi neradikalne reaktivne spojine, ki po svoji kemijski strukturi niso enaki prostim radikalom, ampak prav tako lahko povzročijo kemijske radikalne reakcije (Pham-Huy in sod., 2008). Prosti radikali so produkti predvsem celičnega metabolizma. Večinoma nastajajo pri celičnem dihanju v mitohondrijih. Prenos elektronov na molekularni kisik poteka v membranah mitohondrijev. Istočasno se v organizmu sintetizirajo tudi endogeni antioksidanti, in sicer po encimskih poteh nastane superoksid dismutaza, glutation peroksidaza in glutation reduktaza. Na ta način organizem regulira delovanje prostih radikalov in vzdržuje redoks homeostazo (Reuter in sod., 2010). Prosti radikali lahko

nastanejo tudi z vplivom zunanjih dejavnikov, in sicer z onesnaženo vodo in zrakom, radiacijo, kajenjem, različnimi zdravili, težkimi kovinami, kuhanjem (prekajeno meso, večkrat uporabljeno olje) (Pham-Huyi in sod., 2008).

Prosti radikali so zaradi prisotnosti neparnega elektrona zelo reaktivne spojine. V primeru neravnovesja med prostimi radikali in antioksidanti v korist reaktivnih kisikovih spojin pride do oksidativnih poškodb in oksidativnega stresa (Halliwell, 2011). Oksidativni stres je stanje neravnotežja med nastankom prostih radikalov in reaktivnih metabolitov t. i. oksidantov ter njihovo eliminacijo z zaščitnimi mehanizmi oz. z antioksidanti (Reuter in sod., 2010). Oksidativni stres je glavni vzrok številnih kroničnih in degenerativnih bolezni, kot so rakava obolenja, avtoimune bolezni, srčno-žilne bolezni, staranje, nevrodegenerativne bolezni. Prosti radikali so zelo nestabilne in reaktivne spojine in reagirajo s številnimi molekulami, kot so lipidi, proteini, nukleinske kisline. Poškodujejo celične membrane in druge celične strukture, kot so proteini, lipoproteini, lipidi in nukleinske kisline. Lipide uničijo na način, da sprožijo lipidno peroksidacijo, ki vodi do nastanka produktov, kot je malondialdehid in konjugirani dieni. Ti so za organizem toksični in mutageni (slika 5) (Pham-Huyi in sod., 2008).

Telo se lahko obrani pred oksidacijskim stresom z delovanjem antioksidantov, ki jih delno sintetizira, delno pa uporabi tiste vnesene s hrano ali prehranskimi dodatki. Antioksidanti delujejo kot lovilci prostih radikalov ter preprečujejo in popravljajo poškodbe tkiv, nastale z njihovim delovanjem. Med endogene antioksidante sodijo superoksida dismutaza, katalaza, glutathion peroksidaza, glutathion reduktaza. Endogeni neencimski antioksidanti so glutathion, L-arginin, lipoična kislina, koencim Q10, melatonin itd. Eksogenih neencimskih antioksidantov telo ne more sintetizirati, zato jih je potrebno vnesti s hrano. Med njih štejemo vitamin C in E, karotenoide, flavonoide, elemente v sledovih, kot so selen, cink, mangan, ter n-3 VNMK (Pham-Huyi in sod., 2008).

2.2.2 Oksidativna stabilnost z n-3 VNMK obogatenih jajc

N-3 so večkrat nenasičene maščobne kisline, ki so prav zaradi visoke stopnje nenasičenosti zelo nestabilne oz. občutljive za oksidacijo. V stanju oksidativnega stresa prosti radikali reagirajo s številnimi makromolekulami, med katerimi so najbolj občutljive VNMK v fosfolipidih celičnih membran (Fraeye in sod., 2012). Primarni produkti lipidne peroksidacije, ki nastajajo v začetni fazah oksidacije, so peroksidi. Z nadaljnjo peroksidacijo nastajajo sekundarni produkti aldehidi in druge dikarbolnile spojine (Kassis in sod., 2010). Peroksilni radikal, ki nastane zaradi oksidacije n-3 VNMK, z nadaljnjo peroksidacijo preide v aldehyd, in sicer malondialdehyd (MDA). MDA je dokazano mutagen za bakterijske in celice sesalcev ter kancerogen pri podganah (Valko in sod., 2007).

Običajna jajca vsebujejo naravne antioksidante, in sicer tokoferole, karotenoide in kelatorje kovinskih ionov. Ti lahko preprečijo oksidacijo lipidov in holesterola v rumenjaku. Poleg tega so lipidi v rumenjaku, pred vplivom toplote in svetlobe iz okolja, zaščiteni z beljakom in jajčno lupino. Takšna naravna zaščita pred lipidno oksidacijo v primeru jajc, obogatenih z n-3

VNMK ne zadošča, zato je povečano tveganje za lipidno oksidacijo (Ren in sod., 2013). Maščobni profil živila določa njegovo občutljivost za lipidno peroksidacijo, saj večja vsebnost n-3 VNMK povzroči tudi večjo občutljivost na oksidacijo. Intenzivnost lipidne oksidacije je odvisna tudi od stopnje nenasičenosti n-3 VNMK. ALA je manj nasičena kot dolgoverižni n-3 VNMK EPA in DHA, zato so jajca obogatena z njo manj dovzetna za lipidno oksidacijo (Kassis in sod., 2010). Do lipidne oksidacije z n-3 VNMK obogatenih jajc prihaja predvsem v času kuhanja in skladiščenja. Pri tem ne nastajajo le genotoksični produkti, pač pa lipidna peroksidacija pospešuje nastanek oksidativnih produktov holesterola, ki so odgovorni za proaterogene učinke. Oksidacijski produkti holesterola nastajajo predvsem v stenah glavnih arterij in so del lezij, značilnih za aterosklerozo (Ren in sod., 2013). Na lipidno oksidacijo z n-3 VNMK obogatenih jajc lahko vplivamo z dodajanjem antioksidantov v samo krmo. Ti preprečijo oz. zmanjšajo oksidacijo n-3 VNMK, tako ohranijo hranilno vrednost in izboljšajo stabilnost jajc. Poleg tega so tako obogatena jajca tudi vir antioksidantov za potrošnike (Frankič in Salobir, 2007).

2.2.1 Vitamin E ter oljke kot potencialni antioksidanti za preprečevanje lipidne oksidacije VNMK jajc

Vitamin E je v maščobah topen antioksidant esencialen za zdravje organizma. V telo ga vnašamo s hrano, in sicer z uživanjem živil, bogatih z maščobami, kot so rastlinska olja, oreščki, jajčni rumenjaki, pšenični kalčki, avokado, olive, zeleno listna zelenjava (Colombo, 2010). Tokoli vključujejo osem naravnih molekul, ki jih delimo v dve skupini (tokoferoli ter tokotrienoli) in imajo različne biološke funkcije (Arab-Tehrany in sod., 2012). Med te sodijo α , β , γ in δ tokoferol ter α , β , γ in δ tokotrienol (Jiang, 2014). Vse oblike so topne v maščobah in so koncentrirane v notranjem hidrofobnem sloju celične membrane (Birben in sod., 2012). V celičnih membranah tkiv prevladuje oblika α -tokoferol (vitamin E), ki je najučinkovitejši in glavni membranski antioksidant v celicah. Deluje antioksidativno na lipide v celičnih membranah, je lovilec prostih radikalov in preprečuje njihovo nadaljnjo oksidativno delovanje (Jiang, 2014). α -tokoferol ščiti celične membrane pred vplivom lipidne oksidacije s popravljanjem oksidativnih poškodb in z nadomeščanjem poškodovanih lipidov z novimi (Colombo, 2010). Lipidi jajc, obogatenih z n-3 VNMK zaradi visoke nenasičenosti n-3 VNMK hitreje oksidirajo. Iz tega razloga se za preprečevanje lipidne peroksidacije, kot dodatki krmi, uporabljajo naravni antioksidanti (vitamin E, karotenoidi, antocianini, fenolne spojine) (Arab-Tehrany in sod., 2012). Vključevanje vitamina E v krmo nesnic ima vsekakor pozitivne učinke, saj ščiti n-3 VNMK pred lipidno oksidacijo in izboljša stabilnost jajc v času shranjevanja in toplotne obdelave (kuhanje, pečenje) (Ren in sod., 2013). Pri analizah jajc obogatenih z n-3 VNMK, brez dodatka antioksidantov, so ta v času shranjevanja imela višjo vsebnost sekundarnih produktov oksidacije lipidov, malondialdehida (MDA). Zaradi lipidne oksidacije je na ta račun prišlo do zmanjšanja oz. izgube n-3 VNMK. V primeru dodatka α -tokoferil acetata v krmo nesnic so bile vrednosti MDA nižje in ohranila se je vsebnost n-3 VNMK (Shahryar in sod., 2010). Potrebe po vitaminu E so odvisne od stopnje in vsebnosti nenasičenih maščob (preglednica 4) (Arab-Tehrany in sod., 2012). Ocenjuje se, da se

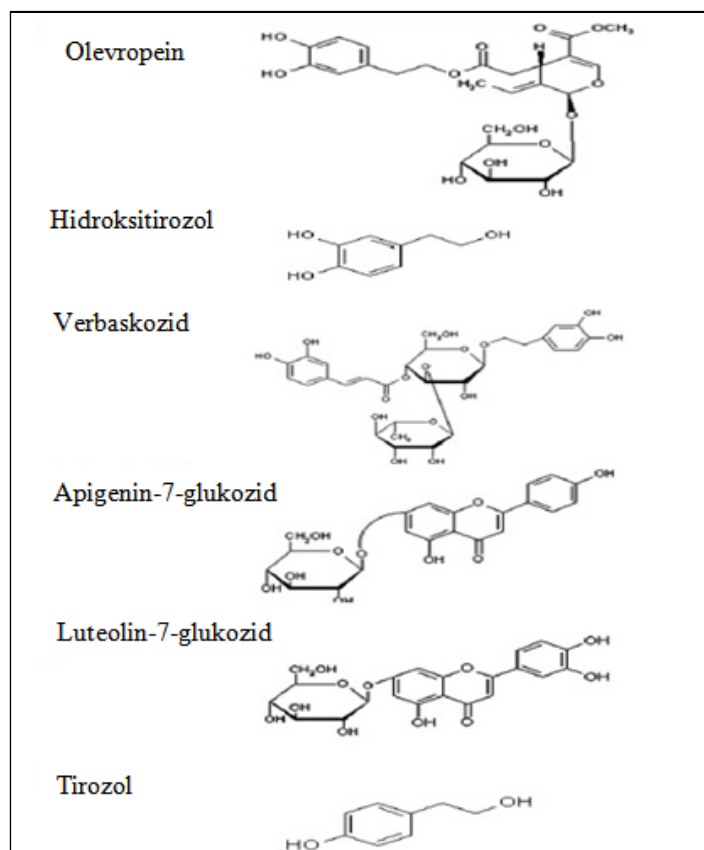
potrebne količine za doseganje oksidativne stabilnosti pri n-3 jajcih gibljejo med 60–200 mg vitamina E/kg krme (Zduńczyk in sod., 2013).

Preglednica 4: Povečanje potreb po vitaminu E zaradi povečanega uživanja VNМК (Frankič in Salobir, 2007: 31)

Število dvojnih vezi	Maščobna kislina	Oznaka	Potrebe po vitaminu E (mg)*
1	Oleinska	C18:1 n-9	0,13
2	Linolna	C18:2 n-6	0,89
3	γ-linolenska	C18:3 n-6	1,34
3	α-linolenska	C18:3 n-3	1,34
4	Arahidonska	C20:4 n-6	1.79
5	Eikozapentaenojska (EPA)	C20:5 n-3	2.24
6	Dokozaheksaenojska (DHA)	C22:6 n-3	2,68

*mg dl-α-tokoferil acetata/g nenasičene maščobne kisline

Fenolne spojine predstavljajo poleg vitamina E še eno skupino naravnih antioksidantov. To so biološko aktivne spojine z močnimi antioksidativnimi učinki (Arab-Tehrany in sod., 2012). V mediteranskem območju so oljčni listi eden od stranskih produktov gojenja oliv. Nastajajo v precejšnjih količinah pri industrijski proizvodnji tako oljčnega olja kot oliv (Jemai in sod., 2008). Oljčni listi so pomemben vir bioaktivnih fenolnih spojin in so v tem pogledu primerljivi z oljčnim oljem in sadjem (Lee in Lee, 2010). Vsebnost izmerjenih skupnih polifenolov in skupnih flavonoidov kaže na podobne vrednosti kot v kožici rdečega grozdja, znani po visoki vsebnosti fenolnih spojin (El in Karakaya, 2009). Glavne fenolne komponente, ki jih vsebujejo oljčni listi, so olevropein, verbaskozid, luteolin-7-O-glukozid, apigenin-7-O-glukozid, tirozol ter hidroksitirozol (Hayes in sod., 2011). Med njimi prevladuje olevropein z močnim antioksidativnim delovanjem proti prostim radikalom. Med vsemi največ prispeva k antioksidativni učinkovitosti oljčnih listov (Lee in Lee, 2010). Omenjene fenolne spojine v oljčnih listih imajo sinergistično delovanje, saj je antioksidativna učinkovitost ekstrakta oljčnih listov večja kot pri posameznih fenolnih spojinah. K temu največ prispeva olevropein, saj ga oljčni listi vsebujejo največ.



Slika 5: Strukturne formule glavnih fenolnih spojin v oljčnih listih (Hayes in sod., 2011: 953).

Olevropein deluje antioksidativno na več načinov. Ima sposobnost kelacije, zato lahko veže kovinske ione bakra in železa, ki katalizirajo reakcije nastanka prostih radikalov. Poleg tega inhibira encime vnetnih procesov, kot so lipooksigenaze, in preprečuje verižne reakcije oksidacije ter nastanek novih prostih radikalov (El in Karakaya, 2009). Oljčni listi in njihovi ekstrakti imajo dokazano visoko antioksidativno učinkovitost. Vsebnost skupnih fenolov v oljčnih listih lahko sega od 20-40 mg ekvivalentov galne kisline/g suhih listov. Iz tega razloga lahko rečemo, da so oljčni listi bogat vir fenolnih spojin. Antioksidativno učinkovitost so potrdile številne raziskave na dodatkih oljčnih listov k rastlinskim oljem, namiznim olivam ter živalskim maščobam, z namenom stabilizacije oz preprečevanja lipidne oksidacije. Opravljene so tudi raziskave o vplivu dodatkov oljčnih listov v krmo nesnic na lipidno oksidacijo z n-3 VNMK obogatenih jajc. V raziskavah so analizirali tudi vpliv vitamina E na lipidno oksidacijo. Botsoglou in sod. (2012c) so kot vir vitamina E uporabili α -tokoferil acetat (200 mg/ kg krme), kot vir fenolnih spojin oljčne liste (10 g listov/kg krme). Rezultati so pokazali, da niti oljčni listi niti α -tokoferol niso vplivali na vsebnost MDA v z n-3 VNMK obogatenih jajcih. Dodatki so vplivali na primarne produkte oksidacije, in sicer na lipidne hidroperokside, saj so zmanjšali njihovo vsebnost. Pri tem so večje učinke opazili pri dodatku α -tokoferil acetata. Do enakih ugotovitev so pri svojih raziskavah prišli tudi Botsoglou in sod. (2012a) ter Botsoglou in sod. (2012b). Nekatere študije so pokazale, da imajo ekstrakti oljčnih listov večjo antioksidativno aktivnost kot vitamin E (Botsoglou in sod., 2012a). Dodatek α -tokoferola v krmo poveča vsebnost n-3 VNMK v jajcih, kar kaže na zaščitno delovanje pred lipidno oksidacijo in ohranjanje njihove vsebnosti. Poleg tega α -tokoferol lahko pospešuje

sintezo n-3 VNMK z vplivom na aktivnost encimov delta-6 desaturaz. Dodatek α -tokoferola v krmo ne samo da preprečuje lipidno oksidacijo, ampak prispeva tudi k skupni vsebnosti vitamina E v jajcih (Botsoglou in sod., 2012a).

Oljčni listi prav tako vsebujejo α -tokoferol. Njihovo vključevanje v krmo nesnic poveča vsebnost α -tokoferola v jajcih zaradi same vsebnosti α -tokoferola in tudi zaradi antioksidativnega delovanja drugih fenolnih spojin, ki na ta način ohranijo vsebnost α -tokoferola (Botsoglou in sod., 2012c).

V nekaterih študijah so opaženi tudi škodljivi učinki vitamina E. Pri dodatku α -tokoferil acetata (200 mg/ kg krme) je prišlo do zmanjšanja vsebnosti EPA in DHA. α -tokoferol acetat lahko moti mehanizme transporta in absorpcije VNMK (Botsoglou in sod., 2012c). Prav tako lahko vitamin E deluje prooksidativno. Raziskave so pokazale prooksidativno delovanje ob dodatku večjih količin v primeru visokega vnosa VNMK (Frankič in Salobir, 2007).

2.3 PREHRANSKA VREDNOST JAJC

Zaradi prepričanja potrošnikov o visoki vsebnosti holesterola in škodljivem vplivu na zdravje, je uživanje jajc v zadnjih treh desetletjih precej upadlo (Mine in Yang, 2010 in Yang, 2010). Novejše raziskave so pokazale, da prehranski oz. holesterol jajčnega rumenjaka nima negativnih učinkov na raven holesterola v krvi. Zaradi visoke prehranske vrednosti in možnosti obogatitve z različnimi hranili jajce postaja pomembno živilo kot del zdrave in uravnotežene prehrane (Seuss-Baum, 2007). Danes trend uživanja jajc raste zaradi vse večjega poudarka na številnih pozitivnih učinkov na zdravje, saj imajo visoko prehransko vrednost (Ren in sod. 2010). Prav tako se povečujeta zanimanje in ozaveščanje potrošnikov o funkcionalnih živilih, ki lahko zmanjšajo tveganje za pojav ali izboljšajo že obstoječe stanje kroničnih bolezni. Na trgu že obstajajo t. i. "dizajnirana" jajca, kot so jajca, obogatena z: n-3 VNMK, ki zmanjšajo tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni; esencialnimi antioksidanti, kot je lutein, ki ima vlogo pri ohranjanju zdravja očes; vitamini, kot so folati, ki preprečujejo okvare nevralne cevi pri dojenčkih (Mine in Yang, 2010).

Jajca so sestavljena iz približno 60 % beljaka, 30 % rumenjaka in 10 % jajčne lupine. Imajo bogato sestavo hranil, ki so dober vir za potrošnike, in so lahko dostopna ter prebavljiva. Vsebujejo 74 % vode, 11,8 % maščob in 12,8 % proteinov ter zelo malo ogljikovih hidratov. Beljak vsebuje večinoma proteine, 88 % je vode. Rumenjak vsebuje tako proteine kot lipide, in sicer v razmerju 2:1. Čeprav ima jajčni rumenjak 30 % maščob, ima ugodno razmerje (2:1) med nenasičenimi in nasičenimi maščobnimi kislinami, saj vsebuje malo nasičenih maščobnih kislin in je bogat z enkrat in večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami (Milinsk in sod., 2003). 10-12 % jajca sestavljajo maščobe, ki se nahajajo v rumenjaku. Ta vsebuje okrog 33 % maščob, od tega je 66 % v obliki trigliceridov, 28 % fosfolipidov in 5 % holesterola. Lipidi so sestavljeni iz 30-35 % NMK, 40-45 % ENMK in 20-25 % VNMK. Glavne maščobne kisline v jajčnem rumenjaku so oleinska (C18:1 n-9, 40-45 %), palmitinska (C16:0, 20-25 %) in linolna (C18:2 n-6, 15-20 %). 20 % skupnih maščob jajca predstavljajo esencialne maščobne

kislina, od tega je 90 % n-6 VNMK in 10 % n-3 VNMK. Razmerje med n-6 in n-3 VNMK je 9:1. Prebavljivost jajčnih lipidov je zelo visoka, in sicer znaša 95-97 % (Seuss-Baum, 2007). Lipidi jajčnega rumenjaka vsebujejo 33 % fosfolipidov, predvsem v obliki fosfatidilholina 80 %; 11,7 % je fosfatidiletanolamina; 2 % sfingomielina in lizofosfatidilholina. Holin in njegovi derivati so esencialni za normalno delovanje celic, razvoj možganov, sintezo fosfolipidov v celičnih membranah, nevrotransmitiranje, celično signaliziranje, transport in metabolizem lipidov ter holesterola (Ren in sod., 2010). Jajčni fosfolipidi so bogat vir holina. Fosfatidilholin ima pomembno vlogo pri absorpciji lipidov v tankem črevesju, saj povečuje topnost lipidnih micel in formacijo hilomikronov. Nekatere raziskave so pokazale, da fosfatidilholin iz jajc zmanjšuje absorpcijo holesterola v limfni sistem, prav tako lahko zmanjša absorpcijo holesterola v tankem črevesju. Uživanje fosfatidilholina z jajci poviša raven holina v krvni plazmi in možganih ter pospešuje sintezo acetilholina v možganih (Seuss-Baum, 2007).

Jajce je bogato s proteini z visoko biorazpoložljivostjo. Zaradi visoke kakovosti proteinov se jajce uporablja za primerjavo kakovosti proteinov drugih živil. Visoka kakovost je rezultat visoke vsebnosti esencialnih aminokislin. Med proteini so najbolj pomembni lizocimi in imunoglobulini, ki delujejo antibakterijsko proti črevesnim patogenom pri živalih in ljudeh (Seuss-Baum, 2007). Jajca imajo od vseh prehranskih virov najvišjo kakovost proteinov. Zagotavljajo vse esencialne aminokisliline v koncentracijah, ki so podobne potrebam organizma, zato se uporabljajo kot standard za primerjavo kakovosti proteinov (Ren in sod., 2010).

Jajce je hranilno zelo bogato živilo, energetsko pa je nizkokalorično, in sicer prispeva 3 % prehranske energije pri ženskah ter 4 % pri moških. Jajce vsebuje skoraj vse potrebne vitamine in minerale ter v majhnih količinah elemente v sledovih (preglednica 5).

Preglednica 5: Vsebnost hranil jedilnega dela svežega kokošjega jajca (Ren in sod., 2010: 545-555).

Hranilo	Celo jajce	Beljak	Rumenjak
Voda	37,66	29,33	8,1
Energija (kcal)	75	17	59
Proteini (g)	6,25	3,52	2,78
Skupne maščobe (g)	5,01		5,12
Skupni ogljikovi hidrati (g)	0,61	0,34	0,3
Pepel (g)	0,47	0,21	0,29
Lipidi			
Maščobne kisline v obliki trigliceridov (g)	4,327		4,428
Skupne nasičene	1,55		1,586
8:0 Kaprolna	0,002		0,002
10:0 Kaprinska	0,002		0,002
12:0 Lavrinska	10,002		0,002
14:0 Miristinska	0,017		0,017
16:0 Palmitinska	1,113		1,139
18:0 Stearinska	0,392		0,401
20:0 Arahidinska	0,02		0,02
Skupne enkrat nenasičene	1,905		1,949
14:1 Miristoleinska	0,005		0,005
16:1Palmitoleinska	0,149		0,152
18:1 Oleinska	1,736		1,776
20:1 Gadoleinska	0,014		0,014
22:1 Eruka	0,002		0,002
Skupne večkrat nenasičene	0,682		0,698
18:2 Linolna	0,574		0,587
18:3 Linolenska	0,017		0,017
20:4Arahidonska	0,071		0,071
20:5 Eikozapentaenojska	0,002		0,002
20:6 Dokozaheksaenojska	0,018		0,019
Holesterol (mg)	213		213
Lecitin (g)	1,15		1.11
Vitamini			
A (IU)	317		323
D (IU)	24,5		24,5
E (mg)	0,7		0,7
B ₁₂ (µg)	0,5	0,07	0,52
Biotin (µg)	9,98	2,34	7,58
Holin (mg)	215,06	0,42	216
Folna kislina (µg)	23	1	24
Niacin (mg)	0,037	0,031	0,002
Pantotenska kislina (mg)	0,627	0,04	0,632
Piridoksin (mg)	0,07	0,001	0,065
Riboflavin (mg)	0,254	0,151	0,106
Tiamin (mg)	0,031	0,002	0,028

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 5: Vsebnost hranil jedilnega dela svežega kokošjega jajca (Ren in sod., 2010: 545-555).

Hranilo	Celo jajce	Beljak	Rumenjak
Minerali (mg)			
Kalcij	25	2	3
Klor	87,1	60	27,1
Baker	0,007	0,002	0,004
Jod	0,0024	0,001	0,022
Železo	0,72	0,01	0,59
Magnezij	5	4	1
Mangan	0,012	0,001	0,012
Fosfor	89	4	81
Kalij	60	48	16
Natrij	63	55	7
Žveplo	82	56	25
Cink	0,55		0,52
Aminokisline (g)			
Alanin	0,348	0,203	0,143
Arginin	0,375	0,191	0,199
Asparaginska kislina	0,628	0,358	0,272
Cistin	0,145	0,091	0,05
Glutaminska kislina	0,816	0,467	0,353
Glicin	0,21	0,123	0,086
Histidin	0,148	0,079	0,072
Izolevcin	0,341	0,199	0,141
Levcin	0,534	0,296	0,244
Lizin	0,449	0,239	0,221
Metionin	0,195	0,121	0,069
Fenilalanin	0,332	0,121	0,119
Prolin	0,249	0,137	0,116
Serin	0,465	0,242	0,238
Treonin	0,3	0,16	0,148
Triptofan	0,255	0,043	0,124
Tirozin	0,255	0,137	0,124
Valin	0,381	0,224	0,155

* vrednosti temeljijo na jajcu z lupino večje velikosti s 50 g tekočega dela, 33,4 g beljaka ter 16,6 g rumenjaka.

Kot je razvidno iz preglednice 6, jajca pokrijejo največ potreb po vitaminu K (38,5 % RDI), vitaminu B₁₂ (35,3 % RDI) in biotinu (29,4 % RDI). V manjši meri, ampak še vedno v pomembnih količinah, prispevajo več kot 10 % k pokritju potreb po proteinih (12,4 % RDI), esencialnih maščobnih kislinah (10,8 % RDI), n-3 VNMK (12,5 % RDI), prav tako po vitaminih A, D, E, K, B₂, B₁₂, biotinu ter pantotenski kislini. Jajca so bogat vir pomembnih mineralov, kot so fosfor (16 % RDI), selen (29 % RDI), železo (9 % RDI), cink (9 % RDI). Bogata so s karotenoidi zeaksantinom in luteinom. Karotenoidi so naravni pigmenti rumenjaka in prispevajo k rumeno oranžni barvi. Z uživanjem jajc se poveča njihova koncentracija v krvi. Ti ščitijo pred degeneracijo makule in nastankom sive mrežnice na očeh (Seuss-Baum, 2007). Vsebujejo zelo veliko holesterola in pokrijejo 70 % zgornje meje za uživanje holesterola. Pri tem je pomembno omeniti, da le referenčne vrednosti (Referenzwerte

für die Nährstoffzufuhr, 2008) in WHO/FAO (WHO/FAO, 2004) priporočila določajo mejo za maksimalen vnos holesterola in sicer 300 mg/dan za odrasle.

Preglednica 6: Pokritje potreb po hranilih iz enega jajca povprečne teže 60 g (Seuss-Baum, 2007)

Hranilo	% pokritja potreb (RDI)	Hranilo	% pokritja potreb (RDI)
Proteini	12,4	Jod	3,0
Ogljikovi hidrati	0,2	Selen	28,89
Maščobe	6,9	Vitameni	
Esencialne maščobne kisline	10,8	Vitamin A	15,0
n-3 VNMK	12,5	Vitamin D	30,8
Holesterol	70	Vitamin E	8,5
Minerali		Vitamin K	38,5
Natrij	14,5	Vitamin B ₁	4,2
Kalij	2,6	Vitamin B ₂	11,4
Kalcij	3,3	Vitamin B ₆	4,6
Fosfor	16,4	Vitamin B ₁₂	35,3
Magnezij	1,8	Folna kislina	8,5
Železo	8,8	Niacin	11,0
Cink	8,7	Biotin	29,4
Flor	2,0	Pantotenska kislina	14,2

2.3.1 Zauživanje maščob in jajc v Evropskih državah

Leta 2009 je izšlo Evropsko prehransko in zdravstveno poročilo, v katerem je med ostalim opisano stanje prehranjenosti prebivalcev Evrope. Navedbe poročila razkrivajo nezdrav način prehranjevanja. Predvsem prekomeren vnos prehranske energije iz maščob, pri otrocih v vseh evropskih državah, v primerjavi s priporočili WHO (30 % E). Tudi vnos nasičenih maščob je višji od priporočil (maksimalno 10 % E). Vnos VNMK je pod priporočenimi vrednostmi (6-11 % E), potrebnimi za normalno delovanje fizioloških funkcij in ohranjanje zdravja. Poročilo navaja višji vnos maščob v zahodnem delu Evrope v primerjavi z ostalimi regijami. Najnižji vnos nasičenih maščob je v južni regiji Evrope (9,4–14,5 % E), in sicer pri vseh starostnih skupinah otrok za razliko od drugih evropskih regij. Vnos holesterola je nad priporočeno količino (300 mg/dan) v Nemčiji, Španiji na Poljskem ter Portugalskem. Nizek vnos holesterola je zabeležen na Finskem, Norveškem, Švedskem in Nizozemskem. Prehransko stanje pri mladostnikih je podobno kot pri otrocih. Vnos maščob je višji od priporočil pri vseh starostih in obeh spolih v vseh evropskih državah (28-40 % E pri fantih in 25,5-41,9 % E pri dekletih). Neprimerna je tudi sestava maščob zaradi previsokega vnosa nasičenih maščob. V večini držav, razen pri fantih v Belgiji, na Poljskem, Nizozemskem in pri deklicah v Belgiji, Španiji in Sloveniji, je vnos VNMK nezadosten. Tudi pri odraslih je v večini evropskih držav opazen prekomeren vnos maščob (28,4-45 % E pri moških in 29,9-47,2 % E pri ženskah). Sestava kakovosti maščob ni ustrezala priporočilom zaradi previsokega vnosa NMK in prenizkega vnosa VNMK. Vnos holesterola je 211-800 mg/dan pri moških in 176-680 mg/dan pri ženskah, le pri moških v Grčiji, na Finskem, Nizozemskem in pri ženskah na Madžarskem, Poljskem, Portugalskem, v Italiji in Romuniji je v skladu s priporočenimi vrednostmi (Elmadfa, 2009). Za Slovenijo navaja poročilo prekomeren vnos maščob pri odraslih (39 % E), pri mladostnikih je vnos v mejah oz. nekoliko nad priporočeno vrednostjo (29 % E fantje, 28 % E

dekleta). Vnos nasičenih maščob (13 % E) je previsok, vnos ENMK in VNMK je minimalen oz. nezadosten (Simčič in Podgrajšek, 2009).

Leta 2005 je bila v Sloveniji objavljena Resolucija o nacionalnem programu prehranske politike za obdobje 2005–2010. Ta je vsebovala analizo prehranskega stanja slovenskega prebivalstva. Rezultati so pokazali precej nezdravo prehranjevanje, ki je posledica nepravilnih prehranjevalnih navad. Opažena sta bila prekomerni energijski vnos in previsok vnos skupnih in nasičenih maščob. Z resolucijo sta bila postavljena cilja glede uživanja maščob, in sicer cilj zmanjšanja povprečnega deleža zaužitih skupnih maščob za 20 % ter cilj zmanjšanja povprečnega deleža zaužitih nasičenih maščob za 30 % do leta 2010 (ReNPP, 2005). Kljub temu v naslednjih letih ni prišlo do znatnega izboljšanja stanja prehranjevanja pri mladostnikih. Študija, narejena v Sloveniji leta 2010 o vnosu hranil pri mladostnikih, je potrdila rezultate vnosa maščob pri mladostnikih, objavljene v evropskem prehranskem in zdravstvenem poročilu leta 2009. V raziskavi so primerjali vnos posameznih makro in mikrohranil glede na referenčne vrednosti. Za primerjavo je uporabljen koncept optimizirane mešane prehrane (OMD) (Fidler Mis in sod., 2012). OMD je koncept prehranskih smernic, razvit posebej za otroke in mladostnike v starosti 1-18 let, ker se njihove potrebe razlikujejo od potreb odraslih, čemur so prehranske smernice OMD koncepta prilagojene. Čeprav je le-ta razvit za nemške otroke in mladostnike, temelji na referenčnih vrednosti za vnos hranil, ki se kot uradni standardi uporabljajo za vrednotenje in načrtovanje prehrane tudi v Sloveniji. OMD koncept omogoča ovrednotenje prehranskih navad in načrtovanje pravilne prehrane, z namenom zagotavljanja tako normalne rasti in razvoja kot preprečevanja kroničnih bolezni (Kobe in sod., 2011). Rezultati raziskave so pokazali, da se prehranjevalne navade slovenskih mladostnikov zelo razlikujejo od priporočil za vnos hranil. Vnos maščob je bil manj kot 30 % E, kar je v skladu s priporočili, vendar sta bila kakovost in razmerje posameznih skupin maščob nepravilna. Vnos NMK je bil visok (13 % E, priporočena količina < 10 % E) predvsem iz mesa, mleka in mlečnih izdelkov. Poleg tega je opazen nezadosten vnos ENMK (10 % E, priporočena količina ≥ 10 % E) in prenizek vnos VNMK (5-6 % E, priporočena količina 6-10 % E) predvsem zaradi nizkega vnosa rastlinskih olj in rib. Vnos holesterola ni presegal vrednosti prehranskih priporočil. Takšne prehranske navade, glede vnosa maščob pri mladostnikih, so vzorec s potencialnim tveganjem za srčno-žilne bolezni predvsem zaradi visokega vnosa nasičenih maščobnih kislin, ki dvigujejo raven LDL holesterola v krvi (Fidler Mis in sod., 2012).

V Srednji Evropi, v katero sodi tudi Slovenija, je bilo uživanje jajc, glede na raziskave v letu 2009, ocenjeno na 25 g/dan na prebivalca. Sledi ji južni (18 g/dan), zahodni (18 g/dan) in severni del Evrope (17 g/dan) (Elmadfa, 2009). Podatki Statističnega urada Slovenije kažejo, da je bil v letu 2009 dnevni vnos 28 g/dan. V letih 2009-2012 je opazen padec uživanja jajc, in sicer na 25 g/dan. Za leto 2013 še ni podatkov (SURS, 2014). Rezultati študije analize prehranjevalnih navad slovenskih mladostnikov so pokazali, da je bil vnos jajc pri fantih 5 g/dan pri dekletih 8 g/dan. OMD določa optimalen vnos jajc za dekleta in fante 20 g/dan (Fidler Mis in sod., 2012). Na osnovi teh podatkov ne moremo določiti, ali so mladostniki

zaužili zadostno količino jajc glede na OMD priporočila iz razloga, ker pri analizi ni upoštevan vnos jajc, ki so del drugih živil oz. jedi (jajčne testenine, peciva itd.).

V preglednici 7 je predstavljena ocena pokritja potreb po energiji, vitaminu E in maščobah z uživanjem kokošjih jajc za različne starostne skupine. Pri izračunu je upoštevan dnevni vnos jajc 20 g, ki je s strani OMD koncepta določen kot optimalen dnevni vnos za mladostnike, kljub temu smo enak vnos upoštevali tudi pri otrocih in odraslih. Uživanje 20 g jajca na dan pokrije 1-2 % potreb po energiji; 2,7-4,7 % potreb po vitaminu E; 2-4,5 % potreb po skupnih maščobah: 1,9-4,3 % po NMK; 1,3-3,4 % po ENMK; 1,6-3,3 % po VNMK. Največ potreb pokrije po n-6 VNMK, in sicer 3,7-7,4 %, v manjši meri po n-3 VNMK 1,2-2,3 %.

Preglednica 7: Ocena pokritja potreb po energiji, vitaminu E in maščobah z uživanjem kokošjih jajc za različne starostne skupine (a=USDA, 2014, b= Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004)

Kemijaska sestava jajca (a)															
		Energija (kcal)		Maščobe (g)	Vitamin E (mg)		NMK (g)		ENMK (g)		VNMK (g)		n-6 VNMK (g)		n-3 VNMK (g)
	na 100 g	155		11,4	2		3,126		3,658		1,911		1,583		0,101
	na 60 g	93		6,84	1,2		1,876		2,195		1,147		0,950		0,061
	na 20 g	31		2,28	0,4		0,625		0,732		0,382		0,317		0,020
Dnevne potrebe (b)															
		Energija (kcal)	Maščobe (% E)	(g)	Vitamin E (mg)	NMK (% E)	(g)	ENMK (% E)	(g)	VNMK (% E)	(g)	n-6 VNMK (% E)	(g)	n-3 VNMK (% E)	(g)
Otroci, 4-10 let	Ž	1500	30-35	56	8	< 10	< 17,5	>13	> 21,6	7	11,7	2,5	4,3	0,5	0,9
	M	1700	30-35	61	9	< 10	< 19	>13	> 24,6	7	13,2	2,5	4,7	0,5	0,9
Otroci, 10-15 let	Ž	2100	30-35	75	12	< 10	< 23	>13	> 30,3	7	16,3	2,5	5,8	0,5	1,2
	M	2500	30-35	75	14	< 10	< 28	>13	> 36,1	7	19,4	2,5	6,7	0,5	1,2
Mladostniki, 15-19 let	Ž	2500	30	83	12	< 10	< 28	>13	> 36,1	7	19,4	2,5	6,9	0,5	1,4
	M	3100	30	103	15	< 10	< 34	>13	> 44,8	7	24,1	2,5	8,6	0,5	1,7
Odrasli, 19-51 let	Ž	2400	30	80	12	< 10	< 27	>13	> 34,7	7	18,7	2,5	6,7	0,5	1,3
	M	3000	30	80	14	< 10	< 33	>13	> 43,3	7	23,3	2,5	8,3	0,5	1,7
Pokritje dnevnih potreb z uživanjem 20 g jajc na dan															
		Energija (kcal)		Maščobe (g)	Vitamin E (mg)		NMK (g)		ENMK (g)		VNMK (g)		n-6 VNMK (g)		n-3 VNMK (g)
Otroci, 4-10 let	Ž	2,0		3,5	4,7		3,6		3,4		3,3		7,4		2,3
	M	1,8		4,5	4,5		4,3		2,9		2,9		6,8		2,1
Otroci, 10-13 let	Ž	1,4		3,0	3,3		2,7		2,4		2,3		5,7		1,7
	M	1,2		2,5	3,0		2,3		2,0		2,0		4,6		1,5
Mladostniki, 15-19 let	Ž	1,2		3,0			2,2		2,0		2,0		4,6		1,5
	M	1,0		2,0	3,3		1,8		1,6		1,6		3,7		1,2
Odrasli, 19-51 let	Ž	1,3		3,0	3,3		2,3		2,1		2,0		4,7		1,5
	M	1,0		2,0	2,9		1,9		1,7		1,6		3,8		1,2

2.3.2 Zauživanje jajc ter tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni

Bolezni srca in ožilja so razširjene po celem svetu, njihov pojav je že na ravni epidemije. V nerazvitih državah se konstantno povečuje, v razvitih pa postaja glavni povzročitelj smrti. Eden od glavnih vzrokov pojava srčno-žilnih bolezni je povišana vsebnost lipidov v krvi. Raven lipidov v krvi je pomemben dejavnik, ki kaže na tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni. Izražamo ga kot raven skupnega holesterola, trigliceridov, HDL in LDL holesterola. Na osnovi teh vrednosti lahko sklepamo na tveganje za pojav ateroskleroze in srčno-žilnih bolezni. K njihovem pojavu največ prispeva povišana vrednost LDL holesterola v krvi (Rong in sod., 2013). Raziskave so pokazale, da je prav tako povišan skupni holesterol neposredno povezan s povečanim pojavom srčno-žilnih bolezni. Z zmanjšanjem njihovih koncentracij v krvi lahko preprečimo oz. zmanjšamo tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni (Brownawell in Falk, 2010).

Holesterol je esencialen za organizem. Potreben je za izgradnjo celičnih membran, sintezo žolčnih kislin, vitamina D v koži in steroidnih hormonov v številnih endokrinih žlezah. Organizem ima lastne homeostatske mehanizme, ki regulirajo raven holesterola v krvi z uravnavanjem vpliva prehranskega in z zmanjšanjem sinteze endogenega holesterola na raven holesterola v krvi, da se pokrijejo potrebe organizma. Vnos večjih količin holesterola s prehrano nima velikega vpliva na raven holesterola v krvi, saj se v tem primeru zmanjša absorpcija in inhibira njegova endogena sinteza. Na ta način telo prepreči oz. zmanjša učinke prehranskega holesterola na raven holesterola v krvi in minimalizira tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni, ki bi sicer nastale zaradi povišanega holesterola v krvi (Stanley, 2010). Leta 1990 je v svetu zabeležen visok padec uživanja jajc v razvitih državah. Razlog za to je bila negativna kampanja proti uživanju jajc zaradi visoke vsebnosti holesterola, saj je njegova povišana vrednost v krvi eden od dejavnikov tveganja za nastanek srčno-žilnih bolezni. Vendar pri tem prehrana prispeva le 25 %. Večji vpliv imajo drugi dejavniki tveganja, in sicer kajenje, debelost, nezadostna fizična aktivnost, povišan krvni tlak ipd. (Farrell, 2013). S prehrano zaužiti holesterol ima zelo majhen vpliv na raven holesterola v krvi, več prispeva visok vnos NMK in trans maščobnih kislin ter nizek vnos VNMK predvsem n-3 VNMK (Brownawell in Falk, 2010).

Dosedanje raziskave o vplivu vnosa jajc na pojav srčno-žilnih bolezni so pokazale nasprotujoče rezultate. Raziskava Rong in sod. (2013) je pokazala, da vnos jajc ne povečuje tveganja za nastanek srčno-žilnih bolezni tudi pri povečanem uživanju, morda celo zmanjšuje tveganje. Rezultati drugih raziskav, med katerimi je tudi raziskava Fernandez (2010), so dokazali povezavo med uživanjem jajc in povečanim tveganjem za pojav srčno-žilnih bolezni, saj je vnos jajc zvišal raven holesterola v krvi. Pri posameznikih, ki so bolj odzivni na prehranski vnos holesterola, je opaženo povečanje LDL in HDL holesterola v krvi, pri čemer je razmerje med njimi ostalo nespremenjeno. Ozko razmerje je pomemben dejavnik tveganja za pojav srčno-žilnih bolezni. Pri posameznikih, ki so manj odzivni na prehranski holesterol, ni bilo značilnih sprememb v ravni holesterola v krvi (Fernandez, 2010). Poleg tega so

opaženi številni pozitivni učinki uživanja jajc. Jajca imajo antiaterogene učinke, saj spodbujajo nastanek večjih delcev LDL holesterola. Tako zmanjšajo njihovo aterogenost in preprečujejo nastanek ateroskleroze (Zampelas, 2012). Preprečujejo shranjevanje holesterola v organizmu v obliki estrov, spodbujajo nastanek HDL in odstranitev holesterola iz perifernih tkiv ter zmanjšujejo skupni in LDL holesterol. Vsebujejo fosfatidilholin in sfingomielin, ki zmanjšujeta absorpcijo holesterola ter lipidov (Yang in sod., 2012). Vsebujejo antioksidanta lutein in zeaksantin, ki preprečujeta oksidacijo LDL holesterola (Zampelas, 2012). Poleg tega imajo jajca zelo kakovostno sestavo proteinov. Nekatere študije so pokazale, da povečan vnos proteinov oz. nadomestitev ogljikovih hidratov z jajčnimi proteini pozitivno učinkuje na uravnavanje telesne teže, znižanje krvnega pritiska ter uravnavanje ravni lipidov v krvi, kar posledično vpliva na manjše tveganje za srčno-žilne bolezni. Proteini prav tako vplivajo na zmanjšanje skupnega holesterola in trigliceridov v krvi. V splošnem fosfolipidi, proteini, maščobne kisline in druga hranila, ki jih jajca vsebujejo, pozitivno vplivajo na absorpcijo, transport, metabolizem, ekskrecijo holesterola ter tako zmanjšajo raven holesterola v krvi. Z jajci obogatena prehrana lahko zmanjša absorpcijo holesterola, pospešuje sintezo endogenega holesterola, aktivira sintezo žolčnih kislin ter njihovo ekskrecijo ter izločitev v blato (Yang in sod., 2012).

Sladkorna bolezen sodi med glavne dejavnike tveganja za nastanek srčno-žilnih bolezni. Za razliko od zdravih ljudi, diabetiki na prehranski holesterol reagirajo drugače. Pri slednjih zaradi hormonskih motenj, vnos prehranskega holesterola zviša raven holesterola v krvi. Iz tega razloga je pri njih povečano tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni. Hormoni imajo pomembno vlogo pri metabolnih homeostatskih mehanizmih. Insulin poleg regulacije glukoze homeostaze regulira tudi homeostazo holesterola. Pri diabetesu je metabolizem inzulina okvarjen, posledično sta porušeni tako homeostaza glukoze kot homeostaza holesterola. Prihaja do nihanja v ravni holesterola v krvi. Vnos prehranskega holesterola ima v tem primeru močne učinke na raven holesterola v krvi (Stanley, 2010).

Nekatere študije so pokazale povezavo med uživanjem jajc in povečanim tveganjem za pojav srčno-žilnih bolezni. Pri teh je opažena povečana raven skupnega holesterola v krvi kot rezultat povečanega vnosa prehranskega holesterola (Scrafford in sod., 2010). Prehranski holesterol lahko poveča občutljivost za oksidacijo LDL holesterola, poveča intenzivnost hiperlipidemije po obroku ter okrepi škodljive učinke NMK (Zampelas, 2012). Pomembno je omeniti, da pri tistih študijah večinoma ni upoštevan vpliv drugih dejavnikov (kajenje, nezadostna fizična aktivnost, debelost itd.), ki vplivajo na povečano tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni. Poleg tega je dokazano, da je povečan vnos jajc v korelaciji s povečanim vnosom rdečega mesa, nezadostno fizično aktivnostjo, kajenjem, skratka z nezdravim načinom prehranjevanja in življenja. Iz tega razloga se lahko povečano tveganje za srčno-žilne bolezni lahko napačno pripisuje uživanju jajc in ne ostalim dejavnikom (Rong in sod., 2013).

Jajca imajo visoko vsebnost holesterola, ki se giblje med 200-300 mg na eno jajce. Priporočila glede vnosa holesterola se med državami zelo razlikujejo. Priporočila združenih držav

Amerike, konkretno AHA, svetujejo vnos holesterola < 300 mg/dan pri zdravih ljudeh in < 200 mg/dan pri ljudeh s povišanim LDL holesterolom oz. povečanim tveganjem za nastanek srčno-žilnih bolezni. Prav tako priporočajo omejen vnos jajc kot glavnega živila z visoko vsebnostjo holesterola, razen v primeru, ko ostala prehrana ne vsebuje drugih živil, bogatih s holesterolom. Ameriška priporočila so v nasprotju z drugimi (Kanada, Velika Britanija, Avstralija), ki nimajo določene meje priporočenega dnevnega vnosa holesterola. Veljajo pa bolj splošna priporočila, in sicer v smeri zmanjšanja dnevnega vnosa skupnih in nasičenih maščob ter povečanja vnosa nenasičenih maščob (Brownawell in Falk, 2010). Številne strokovne institucije priporočajo vnos jajc kot del zdrave in uravnotežene prehrane. Pri ljudeh s povečanim tveganjem za srčno-žilne bolezni priporočajo omejitev vnosa.

Čeprav so jajca bogata s holesterolom, so nizkokalorična in so bogat vir številnih hranil, kot so minerali, vitamini, kakovostni proteini, nenasičene maščobne kisline. Tako lahko NMK zmanjšajo tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni in prevladajo negativne učinke jajc zaradi visoke vsebnosti holesterola. Iz tega razloga omejevanje vnosa jajc pri zdravih ljudeh ni potrebno, saj ima njihovo uživanje več pozitivnih učinkov na zdravje kot pravzaprav vnos holesterola škoduje zdravju. Poleg tega na raven holesterola v krvi ne vpliva samo prehranski holesterol, ampak imajo večji vpliv prehranjevalne navade in življenjski slog. Omejitev vnosa prehranskega holesterola, s tem tudi vnosa jajc, ni edini dejavnik, ki bi prispeval k zmanjšanju pojavnosti srčno-žilnih bolezni (Rong in sod., 2013).

2.4 FUNKCIONALNA ŽIVILA

Termin "funkcionalna živila" je bil prvič uporabljen leta 1984 na Japonskem pri raziskovanju povezave med prehrano, hranilno in senzorično vrednostjo živil ter fiziološkimi procesi organizma. Namen je bil ugotoviti, katera živila, obogatena s posebnimi sestavinami so imela poleg zagotavljanja hranilnih snovi dodatne pozitivne učinke na zdravje (Bigliardi in Galati, 2013). Danes je trg funkcionalnih živil eden od najhitreje razvijajočih na področju živilske industrije, kar je rezultat čedalje večje ozaveščenosti ljudi o pomenu zdravega prehranjevanja in zdravega načina življenja (Day in sod., 2009). Japonska in ZDA sta vodilni tržišči funkcionalnih živil. Evropski trg je sicer še v razvoju, najbolj je razširjen v Veliki Britaniji, Nemčiji, Franciji ter na Nizozemskem. Povpraševanje po funkcionalnih živilih se med državami zelo razlikuje, saj je odvisno predvsem od tradicije, kulture in prehranjevalnih navad. V splošnem je več zanimanja s strani potrošnikov v severnem delu Evrope za razliko od Mediterana (Annunziata in Vecchio, 2011). Funkcionalna živila so prisotna pri skoraj vseh kategorijah živil. Prevladujejo pri mlečnih izdelkih, sladkarijah, brezalkoholnih pijačah, pekovskih izdelkih in otroški hrani. Razvoj funkcionalnih živil je rezultat čedalje večjega pojavnosti kroničnih civilizacijskih bolezni kot posledice modernega načina življenja in prehranjevanja. Poleg tega tudi zaradi pričakovanih potrošnikov po daljši življenjski dobi in izboljšanju kakovosti življenja (Bigliardi in Galati, 2013).

Vsa živila so na določeni stopnji funkcionalna, saj prispevajo energijo in hranila, potrebna za normalno delovanje organizma, vendar so raziskave pokazale, da določene komponente živil,

kot so vitamini, antioksidanti, n-3 VNMK ipd., poleg zagotavljanja normalnih fizioloških funkcij še dodatno pozitivno učinkujejo na zdravje (Crowe in Francis, 2010). Funkcionalna živila lahko oskrbujejo potrošnike z različnimi biološko aktivnimi spojinami, ki imajo pozitivne učinke na telo in zagotavljajo izboljšanje zdravja ter splošnega počutja (Day in sod., 2009). Definicija funkcionalnih živil zaenkrat še ni točno opredeljena. V številnih državah področje funkcionalnih živil ni zakonodajno urejeno. Evropska zakonodaja funkcionalna živila ne klasificira kot kategorijo živil, temveč kot koncept. Do sedaj so številne strokovne inštitucije, strokovnjaki in živilska industrija poskušali definirati funkcionalna živila. Literatura navaja različne definicije, ki se med državami razlikujejo (Bigliardi in Galati, 2013). Definicija Evropske komisije jih označi kot živila, ki imajo, poleg tega, da prispevajo osnovna hranila, pozitivne učinke na eno ali več fizioloških funkcij z namenom izboljšanja zdravja in počutja ali zmanjšanja tveganja za pojav bolezni. Ta živila so del vsakodneвне prehrane in v naravni obliki, kar izključuje katerikoli drugo obliko kot so kapsule, praški ipd., ki sodijo med prehranska dopolnila (Crowe in Francis, 2010).

Funkcionalna živila lahko razdelimo v tri kategorije, in sicer:

- konvencionalna živila, ki vsebujejo naravne biološko aktivne spojine. Med ta sodi večina sadja in zelenjave, žita, ribe in mlečni izdelki, ki imajo poleg osnovne funkcije zagotavljanja hranil tudi pozitivne učinke na zdravje. Primeri takšnih snovi oz. živil so vitamini z antioksidativnim delovanjem v pomarančnem soku, izoflavoni v sojinih izdelkih, prebiotiki ter probiotiki v jogurtu;
- modificirana živila, ki so obogatena z bioaktivnimi spojinami ali je njihova vsebnost povečana. Primeri takšnih živil pa so n-3 VNMK v margarinah in jajcih;
- sintetizirane sestavine živil, kot so težko prebavljivi ogljikovi hidrati, ki imajo prebiotične učinke. Primer so oligosaharidi so rezistentni škrobi (Crowe in Francis, 2010).

Še ena od lastnosti, ki označuje živila kot funkcionalna, je njihovo označevanje s prehranskimi in zdravstvenimi trditvami. V Evropi je področje označevanja funkcionalnih živil urejeno z Uredbo 1924/2006. Ta opredeljuje trditve kot prehranske ter zdravstvene. Slednje morajo biti tudi znanstveno podkrepljene. Prehranske trditve vključujejo trditve, ki navajajo, domnevajo ali opozarjajo, da ima živilo posebne ugodne prehranske lastnosti zaradi vsebnosti hranil ali energije. Zdravstvene trditve definira kot trditve, ki navajajo, domnevajo ali opozarjajo na povezavo med živilom ali komponento živila in zdravjem (Verhagen in sod., 2010). Na področju funkcionalnih živil, obogatenih z nenasičenimi maščobnimi kislinami veljajo naslednje prehranske trditve:

- Vir maščobnih kislin n-3. Živilo se lahko označi s trditvijo, da je vir n-3 VNMK v primeru, če vsebuje vsaj 0,3 g α -linolenske kisline na 100 g in 100 kcal ali vsaj 40 mg EPA in DHA skupaj na 100 g in na 100 kcal.
- Visoka vsebnost maščobnih kislin n-3. Živilo se lahko označi s trditvijo, da vsebuje visoko vsebnost n-3 VNMK v primeru, če vsebuje vsaj 0,6 g α -linolenske kisline na 100 g 100 kcal ali vsaj 80 mg EPA in DHA skupaj na 100 g in na 100 kcal.
- Visoka vsebnost enkrat nenasičenih maščob. Živilo se lahko označi s trditvijo, da ima

visoko vsebnost enkrat nenasičenih maščob v primeru, kadar je vsaj 45 % maščobnih kislin v živilu enkrat nenasičenih maščob in če enkrat nenasičene maščobe zagotavljajo več kot 20 % energijske vsebnosti živila.

- Visoka vsebnost večkrat nenasičenih maščob. Živilo se lahko označi s trditvijo, da ima visoko vsebnost večkrat nenasičenih maščob v primeru, kadar je vsaj 45 % maščobnih kislin v živilu večkrat nenasičenih maščob in če večkrat nenasičene maščobe zagotavljajo več kot 20 % energijske vsebnosti živila.
- Visoka vsebnost nenasičenih maščob. Živilo se lahko označi s trditvijo, da ima visoko vsebnost nenasičenih maščob v primeru, kadar je vsaj 70 % maščobnih kislin v živilu iz nenasičenih maščob in če nenasičene maščobe zagotavljajo več kot 20 % energijske vrednosti živila (Uredba komisije EU, 2010).

Prav tako veljajo naslednje zdravstvene trditve:

- ALA prispeva k vzdrževanju normalne ravni holesterola v krvi. Trditev se lahko navede le na živilu, ki je vsaj vir ALA, kakor je opredeljeno s trditvijo Vir maščobnih kislin n-3 iz Priloge k Uredbi (ES) št. 1924/2006. Potrošnike je treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 2 g ALA.
- DHA ima vlogo pri delovanju možganov. Trditev se lahko navede le na živilu, ki vsebuje vsaj 40 mg DHA na 100 g in na 100 kcal. Za navedbo trditve je potrošnike treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 250 mg DHA.
- DHA ima vlogo pri ohranjanju vida. Trditev se lahko navede le na živilu, ki vsebuje vsaj 40 mg DHA na 100 g in na 100 kcal. Za navedbo trditve je potrošnike treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 250 mg DHA.
- EPA in DHA imajo vlogo pri delovanju srca. Trditev se lahko navede le na živilu, ki je vsaj vir EPA in DHA, kakor je opredeljeno s trditvijo Vir maščobnih kislin n-3 iz Priloge k Uredbi (ES) št. 1924/2006. Za navedbo trditve je potrošnike treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 250 mg EPK in DHK (Uredba komisije EU, 2012).

2.4.1 Razvoj n-3 jajc kot funkcionalnega živila z moduliranjem prehrane nesnic

Prehranska vrednost živalskih izdelkov je odvisna predvsem od prehranske vrednosti surovin, ki sestavljajo krmo živali. Tako se kakovost prehrane živali kaže na kakovosti živalskih izdelkov, ki jih ljudje uživamo. Prehrana živali ima neposreden vpliv na našo prehrano in ta je izjemno pomembna za zdravje organizma (Fraeye in sod., 2012). Živalski izdelki so zaznamovani kot živila, ki vsebujejo precej nasičenih maščobnih kislin, ki so sicer škodljive za zdravje. Prav tako imajo visoko vsebnost n-6, primanjkuje jim n-3 VNMK. S spreminjanjem prehrane živali lahko vplivamo na prehransko vsebnost živalskih izdelkov (Woods in Fearon, 2009).

Današnja prehrana je revna z n-3 VNMK zaradi upada uživanja rib in industrijske proizvodnje žit in živalske krme, ki temelji na žitih, bogatih z n-6 ter z nizko vsebnostjo n-3 VNMK (Yalcin in Ünal, 2010). Zaradi prenizkega oz. nezadostnega vnosa n-3 VNMK se v zadnjih

časih iščejo možne rešitve za njihovo vključevanje v prehrano prebivalstva (Salobir, 2012). Živilska industrija je tako začela z razvojem in proizvodnjo živil, obogatenih z n-3 VNMK (Riediger in sod., 2009). Jajce je lahko dostopno živilo in je prehransko pomembno, saj omogoča uravnotežen vnos esencialnih hranil. Poleg tega je zelo primeren medij za vključevanje številnih hranil, pomembnih za zdravje, ki običajno niso prisotna v zadostnih količinah v naši prehrani (Rajasekaran in Kalaivani, 2013). Iz tega razloga so prav jajca eden izmed prvih izdelkov, ki so ga pridobili s spreminjanjem prehrane živali, z namenom povečanja vsebnosti n-3 VNMK (Riediger in sod., 2009). Med številnimi živalskimi izdelki so ta najbolj preverjen, uresničljiv ter uspešen način vključevanja n-3 VNMK, saj vsebujejo visok delež maščob (Salobir, 2012). Tako jajca, obogatena z n-3 VNMK omogočajo pokritje dnevnih potreb po n-3 VNMK brez večjih sprememb v prehranjevalnih navadah. So dobra alternativa prehranskim dopolnilom in ribam, ki sicer v Sloveniji in kontinentalni državah niso dovolj dostopna in vključena v prehrano (Riediger in sod. 2009; Kassis in sod., 2010).

Običajna jajca vsebujejo precej n-6 in imajo majhno vsebnost n-3 VNMK (Seuss-Baum, 2007). Posledično je tudi široko razmerje med n-6 in n-3 VNMK, in sicer 12:1 ali več (Petrovič in sod., 2012). Jajca kokoši nesnic, pitanih z običajno krmo vsebujejo malo α -linolenske maščobne kisline in zelo malo EPA in DHA (Ceylan in sod., 2010). S prehrano nesnic lahko vplivamo na sintezo fosfolipidov trigliceridov, ki nastajajo v jetrih nesnic za potrebe formiranja rumenjaka. V primerjavi z drugimi živalskimi izdelki obogatitev lipidov jajčnega rumenjaka poteka zelo hitro zaradi visoke sposobnosti hitrega nastajanja in spreminjanja lipidov in lipoproteinov v organizmu nesnic (Cherian, 2008). Z vključevanjem n-3 VNMK v prehrano nesnic lahko izboljšamo prehransko vrednost jajc, saj se poveča vsebnost nenasičenih maščobnih kislin. Prav tako se razširi razmerje med nenasičenimi in nasičenimi maščobnimi kislinami ter zoži razmerje med n-6 in n-3 VNMK na manj kot 3:1 (Woods in Fearon, 2009).

Za obogatitev jajc z n-3 VNMK se uporabljajo rastlinski ali morski viri, ki imajo različno vsebnost n-3 VNMK (preglednica 8). Rastlinski viri vsebujejo v večjih količinah α -linolensko VNMK, zato z njo tudi obogatijo jajca. Glavna rastlinska vira n-3 VNMK sta laneno seme in laneno olje (Cherian, 2008). Laneno seme je bogat vir nenasičenih maščobnih kislin. Vsebuje do 40 % maščob, od tega jih je 50 % v obliki α -linolenske VNMK (Yannakopoulos, 2007). Manjšo vsebnost n-3 VNMK v jajcih dosežemo z dodatkom chia, sojinih semen in semen oljne repice. Ribje olje je bolj občutljivo na oksidacijo kot laneno seme, ki je bolj stabilno. Oba lahko zožita razmerje med n-6 in n-3 VNMK. Priporočljiva je uporaba lanenega semena namesto ribjega olja zaradi večje oksidativne stabilnosti in manjšega tveganja za negativne spremembe v organoleptičnih lastnosti ter kakovosti jajc (Ceylan in sod., 2010).

Preglednica 8: Vsebnost n-3 VNMK v različnih živilih pogosto uporabljenih kot dodatki v krmo nesnic *
(Cherian, 2008: 171).

Rastlinska semena oz. olja	ALA	18:4 n-3	EPA	DPA	DHA	Skupne n-3 VNMK
Ribje olje	1,3	2,6	14,2	2,7	13,5	34,3
Laneno olje	56,0					56,0
Olje oljne repice	12,0					12,0
Sojino olje	8,0					8,0
Morske alge	0,00			3,8	7,4	11,2
Laneno seme**	22,8					22,8
Seme oljne repice**	5,2					5,2
Sojina semena**	1,6					1,6
Chia semena **	3,9					3,9

* delež skupnih maščobnih kislin (%)

** g/100g, možne so razlike v vsebnosti zaradi variacije v kultivarjih, proizvodni seriji ter uporabljeni metodi procesiranja

Optimalna učinkovitost sinteze in prenosa EPA in DHA v jajca sta zabeležena pri dodatku 10 % lanenega semena v krmo, pri večjih količinah upada (preglednica 9). Maksimalna priporočljiva količina dodatka je 30 %, saj se nad to količino kažejo negativni učinki na organoleptične lastnosti jajc (Cherian, 2008).

Študije so pokazale, da se vsebnost ALA v jajcih proporcionalno povečuje z dodano količino lanenih semen v krmo. Poleg tega je zabeležen visok porast EPA in v manjši meri DHA (Fraeye in sod., 2012). Po uživanju n-3 maščobnih kislin se prav tako poveča njihova vsebnost v krvni plazmi (Salobir, 2011). Morski viri vsebujejo predvsem dolgoverižne n-3 VNMK, in sicer EPA, DHA ter DPA. Tako uporaba olj morskih virov omogoča obogatitev jajc neposredno z dolgoverižnimi VNMK, ki so metabolično bolj pomembne za organizem. Kot morski viri n-3 VNMK se najpogosteje uporablja olje slanika, v manjši meri olje tune, lososa in morskih alg. Tako pri ribjem olju kot pri lanenem semenu, sicer v manjši koncentraciji, je omejena količina dodajanja v krmo zaradi negativnega vpliva na organoleptične lastnosti (Cherian, 2008).

Preglednica 9: Vsebnost n-3 VNMK v jajcih nesnic pitanih z lanenim semenom ali ribjim oljem (Cherian, 2008: 173).

Vir in količina n-3 VNMK v krmi	ALA (mg/jajce)**	Skupne DV n-3 VNMK (mg/jajce)**	Skupne n-3 VNMK (mg/jajce)**
Laneno seme (%)			
5	114,0	75,2	189,2
8	287,7	99,2	386,9
10	219,3	88,0	307,3
15	270,5	92,0	362,7
16	436,5	94,2	530,7
20	460,0	18,0	478,0
30	604,0	17,0	621,0
Ribje olje (%)			
0,5	12,0	96,0	108,0
1,0	8,0	149,0	157,0
2,0	24,	231,0	255,0
3,0	10,0	168,0	178,0
3,5	5,0	223,0	228,0
4,0	34,0	151,5	185,0
6,0	29,0	164,8	193,8

**mg/jajce glede na povprečno težo jajčnega rumenjaka 16 g ter 5 g maščobe.

Vključevanje n-3 VNMK v prehrano nesnic ne vpliva na vsebnost holesterola v jajcih. Ima vpliv na nenasičene maščobne kisline, predvsem na VNMK in manjši vpliv na vsebnost NMK (Ceylan, 2010). Raziskave so pokazale zmanjšanje vsebnosti nasičenih maščob v jajcih, predvsem palmitinske maščobne kisline, ob dodatku lanenega semena v krmo nesnic, saj dodatek VNMK zmanjša njihovo sintezo v jetrih nesnic. NMK so povezane s pojavom srčno-žilnih bolezni. Tako lahko z obogatitvijo jajc z n-3 VNMK zmanjšamo vnos NMK v prehrano prebivalstva. Poleg zmanjšanja NMK, dodatek n-3 VNMK zmanjša tudi vsebnost ENMK. In sicer: VNMK lahko inhibirajo encim delta-9 desaturazo, ki sodeluje pri nastanku oleinske maščobne kisline, in tako znižajo njeno vsebnost v jajcih. Dodatek n-3 VNMK lahko vpliva tudi na vsebnost n-6 VNMK. Pri nesnicah, pitanih s krmo, obogateno z ALA, so jajca vsebovala nižje vrednosti dihomogama-linolenske in predvsem arahidonske kisline. Do tega prihaja zaradi encimske kompeticije, ker encimi katalizirajo nastanek večjih količin DHA in EPA kot AA. Tako se razmerje med n-6 in n-3 VNMK zoži na priporočeno raven 5:1 ali ožje, kar ima dodatno prehransko vrednost v primerjavi z običajnimi jajci (Antruejo in sod., 2014).

Krma nesnic, ki vsebuje povečano vsebnost rastlinskih olj, je dovzetna za lipidno oksidacijo in ji je potrebno dodati antioksidante, ki bi zaščitili pred oksidacijo tako nesnice kot jajca. Številne raziskave so pokazale, da povečana vsebnost n-3 VNMK v jajcih pospešuje lipidno oksidacijo in zmanjša senzorično ter prehransko kakovost jajc. Iz tega razloga bi morala biti prehrana nesnic obogatena z antioksidanti, predvsem z vitaminom E (Zduńczyk in sod., 2013). Za preprečevanje lipidne oksidacije se v krmo lahko dodajajo naravni antioksidanti, kot so vitamin E, zelišča, selen itd. (Yannakopoulos, 2007). Dodatek antioksidantov ne preprečuje le oksidacije n-3 VNMK, ampak se ti nalagajo v jajčnem rumenjaku in so lahko vir antioksidantov za potrošnike (Rajasekaran in Kalaivani, 2013).

Hranilno vrednost jajc lahko spreminjamo ne le z vplivom na lipidno sestavo, ampak tudi z vplivom na vsebnost drugih hranil topnih v lipidih (Zduńczyk in sod., 2013). Tako lahko jajca obogatimo s povečanjem vsebnosti ali dodajanjem vitaminov in mineralov v krmo nesnic: z vitaminom E, luteinom, selenom, karotenoidi, vitaminom D, folno kislino, vitamini B kompleksa, vitaminom A, fosforjem. Iz krme v jajce se zelo učinkovito vgradijo vitamina B₂, B₁₂, biotin, pantotenska kislina; srednje učinkovito vitamin E, D in manj učinkovito vitamina K, B₁ in folati (Seuss-Baum, 2007). Od mineralov se v krmo najpogosteje dodaja selen. Selen je mikrohranilo esencialno za preprečevanje degeneracije srčnih mišic, sodeluje pri delovanju ščitnice in metabolizmu joda (Rajasekaran in Kalaivani, 2013). Obogatitev jajc s hranili je potrebna v količinah, s katerimi lahko dosežemo ugodne učinke. Vsekakor bi dodane količine morale biti tudi zadosti nizke, da ne bi povzročile škodljivih učinkov. Vitamin B₁, B₂, B₁₂, C, E, niacin, pantotenska kislina se v krmo lahko dodajajo v količinah, večjih kot je EU RDI. Minerali baker, jod, selen ter vitamina B₆, D in folna kislina se lahko dodajajo v območju 50-100 % EU RDI. Železo, cink, kalcij, fosfor in magnezij v območju 10-40 % EU RDI. (Seuss-Baum, 2007).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

- Vzorce jajčnih rumenjakov smo pridobili pri poskusu, opravljenem v sklopu magistrske naloge Karmen Lupšina, na Katedri za prehrano, Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete. V poskusu so bile uporabljene kokoši nesnice provenience Lohmann, ki so bile razdeljene v šest skupin. Vsaka skupina je bila na dnevni ravni pitana z osnovno krmno mešanico in različnimi dodatki, in sicer:
- skupina K (kontrolna skupina, osnovna krmna mešanica brez dodatkov);
- skupina VE (skupina z osnovno krmno mešanico ter dodatkom 150 IU vitamina E/kg krme);
- skupina OL (skupina z osnovno krmno mešanico ter dodatkom 1 % posušenih, zmletih oljčnih listov);
- skupina OLE (skupina z osnovno krmno mešanico ter dodatkom ekstrakta ekvivalentnega dodatku 1 % oljčnih listov);
- skupina PU (skupina z osnovno krmno mešanico ter dodatkom 1 % posušene, zmlete oljčne pulpe);
- skupina PUE (skupina z osnovno krmno mešanico ter dodatkom ekstrakta ekvivalentnega dodatku 1 % oljčne pulpe) (Lupšina, 2013).

Sestava osnovne krmne mešanice je predstavljena v preglednici 10. Osnovna krmna mešanica, s katero so bile pitane nesnice, je pri vseh skupinah vsebovala enake komponente. Razlike so bile le v količini pšeničnega škroba, dodanega v manjši količini in prilagojenega glede na količino dodatka oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih.

Preglednica 10: Sestava osnovne krmne mešanice (Lupšina, 2013; 14)

Sestavina	g/kg
Koruza 8 % SB	250,00
Pšenica	252,53
Sončnične tropine, 37 % SB	80,00
Sojine tropine, 45 % SB	207,82
Laneno olje	60,00
Pšenični škrob	10,00
Monodikalcijev fosfat	15,05
Sol	3,90
Apnenec	56,80
Grobi kalcit	56,90
Lizin	0,10
Metionin	1,46
Barvilo Capsantal 30	0,43
Premiks	5,00

SB= surove beljakovine

Jajca nesnic so pobirali vsakodnevno in jih pripravili za analizo v treh paralelkah. Jajčne rumenjake so ločili od beljakov, jih homogenizirali z mešanjem in liofilizirali. Za pripravo vzorcev svežih jajc so jajčne rumenjake liofilizirali takoj po pobiranju. Za pripravo vzorcev 28 in 40 dni staranih jajčnih rumenjakov so le-ta pred liofilizacijo starali na sobni temperaturi. Vzorce kuhanih jajc so pripravili tako, da so po kuhanju rumenjake ločili od beljaka. Ločene rumenjake so potem prelili s tekočim dušikom, strli s terilnikom in homogenizirali z napravo Retsch Grindomix GM 200. Pripravljene vzorce so ustrezno shranili za nadaljnje analize (Lupšina, 2013).

Za analizo smo uporabili vzorce jajčnih rumenjakov, pridobljenih po prej opisanem postopku. Ti so bili zapakirani v plastične vrečke z oznako kokoši, skupine in načina obdelave (sveža, starana, kuhana) ter shranjeni pri temperaturi -70 °C. Vzorce jajčnih rumenjakov smo uporabili za analizo določanja malondialdehida, oksidacijske kapacitete v maščobah topnih antioksidantov, maščobnokislinske sestave ter vsebnosti vitamina E.

3.2 METODE

3.2.1 Analitska metoda za določanje malondialdehida

Analiza je opravljena na osnovi laboratorijskega protokola. Malondialdehid sodi med sekundarne produkte, ki nastanejo zaradi oksidacije VNMK. Njegova vsebnost je pokazatelj stopnje lipidne oksidacije maščob. Za določanje malondialdehida smo uporabili HPLC metodo. Določali smo kompleks rožnate barve, ki nastane pri kemijski reakciji med malondialdehidom v kislem okolju, in sicer v prisotnosti tiobarbiturne kisline. Za umerjanje smo uporabili tetraetoksipropan (1,1,3,3-tetraetoksipropan), ki v kislem mediju razpade, pri čemer kot produkt reakcije nastane malondialdehid.

Vzorce smo pripravili po sledečem postopku: v epruvete z navojem smo zatehtali 250 mg liofiliziranih vzorcev jajčnih rumenjakov. V vsako epruveto smo odpipetirali 2,5 ml 0,8 % raztopine BHT v heksanu in epruvete z vsebino 5 minut stresali na vrtinčniku. Potem smo odpipetirali 5,0 ml 1,5 % raztopine TCA in ponovili postopek stresanja. Vzorce smo 1 minuto centrifugirali na 2000 obr/min, da smo dobili ločene plasti. S sesalno črpalko smo odstranili zgornjo heksansko plast. Vsebino smo še enkrat 5 minut centrifugirali na 2000 obr/min. Potem smo prenesli 2 ml raztopine s Pasteurjevo pipeto v eppendorfove epruvete in centrifugirali 10 minut na 4 °C pri 20000 obr/min.

Za analizo smo uporabili tekočinski kromatograf visoke ločljivosti, sestavljen iz: črpalke 1260 Infinity quaternary pump (Agilent); avtomatskega vzorčevalnika 1260 Infinity ALS, opremljenega s termostatom 1290 Infinity thermostat (Agilent); greca za mobilno fazo 1260 Infinity TCC (Agilent); UV/VIS detektorja 1260 Infinity VWD VL+ (Agilent) in detektorja za merjenje fluorescence 1260 Infinity FLD (Agilent). Analiza je potekala pri naslednjih pogojih: kolona: HyperClone ODS (C18), Phenomenex, 150 x 4,6 mm, 5 m, predkolona: HyperClone ODS (C18), temperatura kolone: sobna temperatura, temperatura vzorca: 20 °C, mobilna faza: KH₂PO₄-pufer (pH = 6,9) : MeOH = 65:35, pretok mobilne faze: 0,8 ml/min,

volumen injiciranja: 100 μ l, UV/VIS detektor: 532 nm, detektor za merjenje fluorescence: $\lambda_{EX} = 515$ nm; $\lambda_{EM} = 553$ nm.

3.2.2 Analitska metoda za določanje antioksidativne kapacitete v maščobah topnih antioksidantov (ACL)

Analiza je opravljena na osnovi laboratorijskega protokola. Priprava vzorcev oz. heksanskega ekstrakta za določanje ACL je potekala po naslednjem postopku: v 1,5 ml plastične posodice s pokrovčkom smo zatehtali 0,10-0,15 g vzorcev jajčnih rumenjakov. Za liofilizirane vzorce smo odpipetirali 0,8 ml heksana, (razen pri skupini vitamina E 1,0 ml heksana), za kuhane vzorce 0,4 ml heksana. Vsebinsko smo dobro premešali in ekstrahirali 10 minut na vrtinčniku. Potem smo jih 10 minut centrifugirali pri 10000 obr/min ter temperaturi 4 °C. Tako pripravljene vzorce smo postavili na temno in mrzlo, in sicer v stiroporno škatlo s hladilnimi vložki. Določanje vrednosti ACL smo opravili s pomočjo aparata Photochem proizvajalca Analytikjena (Jena, Nemčija) s programsko opremo PCLsoft, verzija 5.1. Merili smo inhibicijo kemoluminescenčnega signala, konkretno razliko v površinami pod signalom slepe vrednosti (brez antioksidantov) in signalom, če so v raztopini antioksidanti (čas zajemanja podatkov 180 s). Uporabili smo dvojno recipročno transformacijo. Aparat smo umerili z raztopino za umerjanje, v našem primeru s troloksom, in smo zato pridobljene rezultate primerjali s troloksom. Rezultat smo podali kot ACL, ki smo jo izrazili kot nmol troloksa/g rumenjaka. Meritve smo izvedli po navodilih proizvajalca. V plastične vijale smo odpipetirali 2300 μ L metanola, 200 μ L pufra, alikvot supernatanta vzorca in 25 μ L raztopine luminola. Volumne alikvotov supernatanta vzorca smo prilagajali njihovi antioksidativni kapaciteti. Pri liofiliziranih vzorcih smo analizirali 20 μ l, pri kuhanih 50 μ l (razen pri skupini Vitamin E 20 μ l) supernatanta.

3.2.3 Analitska metoda za določanje maščobnokislinske sestave

Analiza je opravljena na osnovi laboratorijskega protokola. Za določanje maščobnokislinske sestave jajčnih rumenjakov smo uporabili analitsko metodo, ki je temeljila na analizi metilnih estrov s plinsko kromatografijo. Vzorce za plinsko kromatografijo smo pripravili po postopku, ki sta ga razvila Park in Goins (1994), pri katerem predhodna ekstrakcija maščob ni bila potrebna. Odtehtali smo 0,2 g vzorca v epruvete z zamaškom. K temu smo odpipetirali 300 μ l CH_2Cl_2 in 3 ml 0,5M NaOH, ki smo jo predhodno pripravili v metanolu. Da bi preprečili oksidacijo s kisikom iz zraka, smo epruvete z vsebino prepihali z dušikom. Po mešanju na vrtinčnem mešalniku smo epruvete za 10 minut postavili v termični blok, segret na 90 °C. Zatem smo epruvete hitro ohladili z mrzlo vodo in k posameznem vzorcu odpipetirali 3 ml 12 % raztopine butiliranega hidroksitoluena (BF_3). Epruvete smo prepihali z dušikom in premešali na vrtinčnem mešalniku. Vzorce smo še enkrat postavili v termični blok in segrevali 10 minut na 90 °C. Po segrevanju smo jih hitro ohladili z mrzlo vodo na sobno temperaturo. Zatem smo dodali 3 ml deionizirane vode in 1,5 ml heksana. Da bi se nastali metilni estri ekstrahirali v nepolarno topilo, v našem primeru heksan, smo epruvete stresali 60

sekund. Heksansko smo od vodne faze ločili z 10 minutnim centrifugiranjem pri 2000 obratih. S Pasteurjevo pipeto smo odvzeli zgornjo heksansko plast in jo prenesli v vijalo za plinski kromatograf, nato smo jih prepihali z dušikom. Metilne estre v heksanski plasti smo potem ločili s pomočjo plinske kromatografije. Prepoznavanje posameznih metilnih estrov maščobnih kislin smo izvedli tako, da smo primerjali retencijske čase kromatografskih vrhov v vzorcu z retencijskimi časi standardnih raztopin posameznih metilnih estrov. Pri enakih pogojih enaki metilni estri vzorcev in standardnih raztopin, potrebujejo enak retencijski čas, da se eluirajo iz kromatografske kolone.

Za analizo smo uporabili:

- plinski kromatograf Agilent 6890, opremljen z avtomatskih injektorjem in podajalnikom vzorcev ter FID detektorjem;
- kolono za ločevanje metilnih estrov maščobnih kislin (Omegawax 320, kapilarna kolona iz silike s kemijsko vezano stacionarno fazo polietilenglikola, dolžina 30 m, notranji premer 0,32 mm, debelina stacionarne faze 0,25 μm).

Instrument smo umerili z uporabo standardnih raztopin Nu-check (GLC85, GLC 423, BLG 86a, GLC 411), ki so mešanica metilnih estrov maščobnih kislin z znanimi masnimi deleži.

Ločevanje metilnih estrov je potekalo pri naslednjih pogojih: temperaturni program: začetna temperatura: 185 °C; hitrost dvigovanja temperature: 1 °C/min; končna temperatura: 215 °C; temperatura injektorja: 250 °C; temperatura detektorja: 290 °C.

Pretoki plinov: helij (nosilni plin): 1,5 ml/min; dušik (make-up plin): 30 ml/min; vodik (gorilni plin): 30 ml/min; sintetični zrak: 440 ml/min; čas analize: 45 minut; volumen injiciranja vzorca: 1 μL ; način injiciranja: split, split razmerje: 30:1.

3.2.4 Analitska metoda za določanje vsebnosti vitamina E

Analiza je opravljena na osnovi laboratorijskega protokola. Pri svežih jajčnih rumenjaki smo analizirali pet vzorcev jajčnega rumenjaka na skupino. Pri 28 in 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki smo iz 5 vzorcev naredili kompozitni vzorec, ki smo ga analizirali v treh ponovitvah. V liofiliziranih rumenjaki smo določali vsebnost vitamina E po naslednjem postopku: zatehtali smo 250-350 mg vzorca v stekleno epruveto z navojem in pokrovčkom. K vzorcem smo z epruveto odpipetirali 2 ml etanola, 0,9 ml 2,2 % raztopine askorbinske kisline v vodi ter 0,3 ml raztopine KOH. Vsebinsko v epruvetah smo dobro premešali na vrtničnem mešalniku in v grelnem bloku segrevali 15 minut pri 70 °C. Po končanem segrevanju smo epruvete takoj ohladili v kopeli z mrzlo vodo. Po ohlajanju smo k vsakemu vzorcu dodali še 1,0 ml milliQ vode, 0,3 ml ledocetne kisline in 2 ml heksana. Epruvete smo potem stresali na stresalniku 5 minut, zatem smo jih centrifugirali 3 minute pri 3000 obr/min. Z mikropipeto smo v čiste epruvete odpipetirali 1,5 ml heksanske faze. Heksan smo nato v sistemu za odparevanje odparili z dušikom pri temperaturi od 40 °C. K tako nastalim suhim preostankom smo dodali 1,5 ml etanola in vzorce 5 minut stresali na stresalniku. Etanolni ekstrakt vzorca smo prefiltrirali skozi 0,45 μm filter s pomočjo plastične brizgalke v steklene viala za avtomatski vzorčevalnik. Po vsakem filtriranju smo filter sprali z etanolom.

Za kromatografsko ločbo smo uporabili kolono Ascentis Express, F5 (15 cm x 4,6 mm x 5 μ m, Supelco) ter predkolono Ascentic Express (0,5 cm x 4,5 mm x 5 μ m, guard column, Supelco). HPLC je bil sestavljen iz: črpalke 1260 Infinity quaternary pump (Agilent); avtomatskega vzorčevalnika 1260 Infinity ALS, opremljenega s termostatom 1290 Infinity thermostat (Agilent); grelca za mobilno fazo 1260 Infinity TCC (Agilent); UV/VIS in detektorja 1260 Infinity VWD VL+ (Agilent); detektor za merjenje fluorescence 1260 Infinity FLD (Agilent). Ostali pogoji analize: sestava mobilne faze 90 % MeOH; pretok mobilne faze 1,2 ml/min, temperatura mobilne faze 30 °C; volumen injiciranega vzorca: 2 μ l; detektorji: UV/VIS: λ = 298 nm; fluorescenca: λ_{ex} = 280 nm, λ_{em} = 330 nm.

3.2.5 Statistična obdelava podatkov

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket SAS (SAS 9.3., 2012, ZDA). Normalnost porazdelitve podatkov smo testirali s postopkom UNIVARIATE. Statistično značilnost razlik med skupinami za posamezne spremenljivke smo testirali s proceduro GLM (General Linear Models), za dodatno testiranje razlik med skupinami pri spremenljivkah z več kot dvema skupinama pa še s pomočjo linearnih kontrastov in s Tukeyevim testom. Za statistično značilne smo vrednotili razlike s stopnjo tveganja $p \leq 0,05$.

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.1 VSEBNOST MALONDIALDEHIDA V JAJČNIH RUMENJAKIH

Obogatitev krme z n-3 VNMK povečuje delež VNMK, zato je tveganje za lipidno oksidacijo večje. VNMK lahko hitro oksidirajo, ali v krmi ali v gastrointestinalnem traktu kokoši nesnic (Botsoglou in sod., 2012b). Lipidna oksidacija vsekakor ni zaželeno, saj z negativnim vplivom na vonj, okus in hranilno vrednost zmanjšuje kakovost jajc. Poleg tega nastali prosti radikali lahko sprožijo sekundarne oksidacijske reakcije. Njihovi produkti (MDA in druge dikarbonilne snovi) so genotoksični in povzročajo poškodbe celice. Prav tako pospešujejo nastanek oksidacijskih produktov holesterola, ki imajo aterogeno delovanje. Posledično lahko pride do srčno-žilnih in drugih bolezni (Ren in sod., 2013). Lipidna oksidacija se ocenjuje z merjenjem primarnih oksidacijskih produktov, ki nastanejo v zgodnjih fazah oksidacije, kot so lipidni hidroperoksidi, ali z merjenjem sekundarnih oksidacijskih produktov, kot je malondialdehid, ki nastanejo z razgradnjo lipidnih hidroperoksidov (Galobart in sod., 2001a).

V naših vzorcih jajčnih rumenjakov smo določali vsebnost malondialdehida kot markerja oksidacije maščobnih kislin. Koncentracijo MDA smo določali v 40 dni staranih kuhanih jajčnih rumenjaki (preglednica 11). Za potrebe primerjave in vrednotenja rezultatov smo kot vir podatkov, za sveže in 28 dni starane jajčne rumenjake, uporabili rezultate analize magistrskega dela Karmen Lupšina.

Preglednica 11: Koncentracija malondialdehida (MDA, nmol/g rumenjaka) v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki

MDA (nmol/g rumenjaka)								
	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
Absolutne vrednosti:								
Sveži*	1,08	0,82	1,54	1,04	1,47	1,06	0,19	0,124
28 dni*	1,04abc	0,83a	1,41b	0,97ac	1,33bc	0,95ac	0,14	0,057
40 dni	1,82a	1,06b	1,15b	1,86a	1,57ab	1,42ab	0,23	0,088
Kuhani	1,72	1,14	2,37	2,32	2,41	2,23	0,56	0,392
Absolutne razlike:								
28 dni*-sveži*	-0,04	0,01	-0,13	-0,06	-0,14	-0,11	0,26	0,998
40 dni-sveži*	0,79ac	0,23ab	-0,42b	0,98a	-0,01bc	0,54ac	0,33	0,071
Kuhani-sveži*	0,30	0,41	0,30	0,90	0,87	1,15	0,53	0,831
Relativne razlike:								
<u>28 dni*-sveži*</u> sveži*	-0,04	0,02	0,13	-0,07	0,01	-0,09	0,19	0,964
<u>40 dni-sveži*</u> sveži*	0,74	0,33	-0,14	1,06	0,10	0,56	0,31	0,135
<u>Kuhani-sveži*</u> sveži*	0,32	0,63	0,14	0,91	0,84	1,37	0,43	0,517

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe

a,b,c,d – različne črke označujejo katere skupine se med seboj značilno statistično razlikujejo

*Uporabljeni so rezultati analize magistrskega dela Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

Kot je razvidno iz rezultatov analize določanja vsebnosti MDA pri vseh skupinah svežih in 28 dni staranih je Lupšina določila vsebnost MDA (Lupšina, 2013). Vsebnost MDA smo določili tudi mi pri analizi 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki ter tako potrdili lipidno oksidacijo maščob. Prisotnost MDA v jajcih, obogatenih z n-3 VNMK so dokazale tudi druge raziskave (Galobart in sod., 2001a; Cortinas in sod., 2003; Botsoglou in sod., 2012b). Botsoglou in sod. (2012a) so v svežih jajcih kontrolne skupine nesnic krmljenih s krmo z dodatkom lanenega olja določili vsebnost MDA 52 ng/g rumenjaka. V svežih jajčnih rumenjaki je Lupšina pri svoji analizi določila 1,08 nmol MDA/g rumenjaka, kar znaša 77,78 ng MDA/g rumenjaka. Obe vrednosti sta nizki, primerljivi z dosedanjimi raziskavami in kaže na oksidativno stabilnost jajc (Botsoglou in sod., 2012b). Čeprav so jajca vsebovala MDA, je njegova vsebnost zanemarljiva zaradi nizkih koncentracij. Prisotnost MDA v jajčnih rumenjaki ni vplivala na senzorične lastnosti jajc. Prav tako v primeru uživanja ne bi prišlo do negativnih učinkov na zdravje (Cortinas in sod., 2003). Sveža jajca so na splošno zelo dobro zaščitena pred lipidno oksidacijo zaradi antioksidativnega delovanja naravno prisotnih antioksidantov, kot so tokoferoli in karotenoidi ter zaradi same strukture LDL lipoproteinov v rumenjaku. Proteini in fosfolipidi so v notranjosti LDL med seboj močno prepleteni in tako preprečujejo dostop kisika skozi ovojnico (Cortinas in sod., 2003).

Pri primerjavi rezultatov analize MDA Lupšine (Lupšina, 2013) v svežih jajčnih rumenjaki smo ugotovili, da je najnižjo koncentracijo MDA imela skupina VE, najvišjo koncentracijo pa skupina OL. Med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik. Skupine z dodatki oljčnih listov in oljčne pulpe so imele višje vrednosti MDA za razliko od njihovih ekstraktov ter kontrolne skupine. Skupine z ekstrakti oljčnih listov in oljčne pulpe so med seboj imele podobne vrednosti MDA. Skupina VE je imela, v primerjavi z ostalimi skupinami, nižjo vsebnost MDA. V svežih jajcih tako dodatki vitamina E kot oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih niso imeli vpliva na vsebnost MDA oz. oksidativno stabilnost n-3 VNMK. To so potrdili tudi Botsoglou in sod. (2012b) s svojo raziskavo, pri kateri so ugotovili, da dodatek 10 g oljčnih listov/kg krme pri svežih jajcih ni vplival na vsebnost MDA, prav tako tudi ne dodatek 200 mg α -tokoferil acetata/kg krme. Sicer so ti dodatki vplivali na vsebnost lipidnih hidroperoksidov, saj so zmanjšali njihovo koncentracijo. Iz tega sklepamo, da lahko z dodatkom oljčnih listov ter α -tokoferil acetata zmanjšamo nastanek primarnih produktov lipidne oksidacije v svežih z n-3 maščobnimi kislinami obogatenih jajcih (Botsoglou in sod., 2012a). Da dodatek α -tokoferil acetata ne vpliva na vsebnost MDA v svežih jajcih, so potrdile tudi druge raziskave (Galobart in sod., 2001a; Galobart in sod., 2001b; Cortinas in sod., 2003; Botsoglou in sod., 2012a; Botsoglou in sod., 2012c).

Staranje jajc vpliva na oksidacijo maščobnih kislin, saj se vsebnost MDA povečuje s časom skladiščenja (Ren in sod., 2013; Botsoglou in sod., 2012b). Primerjali smo rezultate vsebnosti MDA, ki jih je določala Lupšina pri 28 dni staranih jajčnih rumenjaki. Najmanjša vsebnost MDA je bila pri skupini VE, največja pa pri skupini OL. Skupina VE je imela najmanjšo vsebnost MDA v primerjavi z ostalimi skupinami. Skupini z dodatkom oljčnih listov in pulpe sta imeli opazno višje vrednosti v primerjavi z njihovimi ekstrakti in kontrolo. Ekstrakta oljčnih listov in oljčne pulpe sta imela dokaj podobne, čeprav nekoliko višje koncentracije MDA kot skupina VE (Lupšina, 2013). V primerjavi s kontrolo so imele nižjo vsebnost MDA. Od skupin VE, OLE in PUE ($p = 0,054$) se je statistično značilno razlikovala skupina OL. Razlike so bile statistično značilne tudi med skupino VE in skupinami PU ter OL ($p = 0,054$) (Lupšina, 2013). Naši rezultati so pokazali višje koncentracije MDA pri 40 dni staranih jajčnih rumenjaki v primerjavi z 28 dni. Pri 28 dni staranih jajcih je bila v primerjavi s svežimi jajci nižja koncentracija MDA (Lupšina, 2013). Takšne razlike niso smiselne, saj naj bi se s staranjem koncentracija MDA zviševala. To lahko razlagamo z dejstvom, da tako mi kot Lupšina nismo uspeli detektirati celotne količine MDA v vzorcih staranih jajc. Galobart in sod., (2001a) trdijo, da lahko MDA reagira z drugimi snovmi, kot so amini, aminokisline, proteini, nukleotidi, lahko pa tvorijo dimere ali trimere, kar zmanjša razpoložljivo količina MDA za detekcijo. Pri 40 dni staranih jajcih smo najmanjšo koncentracijo MDA določili pri skupini VE, največjo je imela skupina OLE. V tem primeru sklepamo, da je prišlo do eksperimentalne napake, saj je skupina OLE pri 28 dni staranih jajcih imela nižje vrednosti MDA od kontrole, tudi skupina PUE je imela nižje vrednosti MDA tako pri 28 dni kot pri 40 dni staranih rumenjaki. Drugi razlog za takšne nenavadne rezultate je lahko, da je prišlo do razgradnje MDA v času shranjevanja jajčnih rumenjaki ali same analize. Statistično značilne razlike pri 40 dni staranih jajčnih rumenjaki so bile med kontrolno skupino in skupinami VE ter OL ($p=0,088$). Glede na to lahko sklepamo, da je dodatek vitamina E in

oljčnih listov imel vpliv na koncentracijo MDA v primerjavi s kontrolno skupino, in sicer je zmanjšal vsebnost MDA oz. je zaščitil n-3 VNMK pred oksidacijo. Poleg tega se je skupina OLE razlikovala od skupin VE in OL ($p=0,088$). Iz tega je razvidno, da so dodatki vitamina E in oljčnih listov v primerjavi z dodatkom ekstrakta oljčnih listov imeli vpliv na vsebnost MDA ter so preprečili oksidacijo n-3 VNMK. Ren in sod. (2013) so v svoji raziskavi ugotovili povečanje koncentracije MDA po 28 dni skladiščenja. Dodatek vitamina E (200 IU/kg krme), v primerjavi s kontrolno skupino, je zmanjšal vsebnost MDA. Rezultati raziskave Botsoglou in sod. (2012b) so pokazali, da dodatek 10 g oljčnih listov/kg krme ter dodatek 200 mg α -tokoferil acetata/kg krme po 20 in 40 dneh ni imel vpliva na vsebnost MDA, ampak se je vpliv pokazal šele po 60 dneh skladiščenja. Dodatek α -tokoferil acetata je preprečil nadaljnji nastanek MDA in zaščitil n-3 VNMK. Dodatki oljčnih listov so delno zaščitili VNMK, v primerjavi s kontrolno skupino je nekaj MDA še nastalo ampak v manjši meri.

Procesiranje jajc povzroči spremembe v njihovi strukturi, zato je tveganje za lipidno oksidacijo višje. To je še posebej pospešila povišana temperatura in tudi kuhanje (Galobart in sod., 2001a). Zvišanje vsebnost MDA s kuhanjem so potrdile tudi raziskave Cortinas in sod. (2003) ter Ren in sod. (2013). Pri kuhanih jajčnih rumenjaki smo najmanjšo vsebnost določili pri skupini VE, najvišjo pri skupini PU. Pri vseh skupinah z dodatki oljk smo določili opazno višje koncentracije MDA v primerjavi s kontrolno skupino. Skupina VE je edina imela manjšo vsebnost MDA v primerjavi s kontrolno skupino. Tako pri kuhanih kot pri svežih jajčnih rumenjaki ni bilo statistično značilnih razlik v vsebnosti MDA. Pri kuhanih jajčnih rumenjaki dodatki vitamina E, oljčnih listov, oljčne pulpe in njihovih ekstraktov niso imeli vpliva na vsebnost malondialdehida oz. oksidativno stabilnost n-3 VNMK. Na splošno so kuhani jajčni rumenjaki za razliko od svežih imeli večjo vsebnost MDA pri vseh skupinah. Da se vsebnost MDA povečuje s kuhanjem so dokazali tudi Cortinas (2003), Ren in sod. (2013). Cortinas in sod. (2003) so ugotovili, da dodatek vitamina E v krmo povečuje stabilnost z n-3 VNMK obogatenih jajc pri kuhanju. To so pokazali tudi naši rezultati, čeprav med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik. 28 dni starani jajčni rumenjaki so imeli nižjo vsebnost MDA pri vseh skupinah razen pri skupini VE, pri kateri je prišlo do majhnega in zanemarljivega povečanja vsebnosti MDA (Lupšina, 2013). Pri 40 dni staranih jajčnih rumenjaki se je vsebnost MDA glede na sveže povečala, razen pri skupini PU in OL se je znižala. Tako pri svežih kot pri staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki je skupina VE imela najmanjšo vsebnost MDA.

4.2 ANTIOKSIDATIVNA KAPACITETA V MAŠČOBH TOPNIH ANTIOKSIDANTOV V JAJČNIH RUMENJAKIH

Antioksidativna kapaciteta je rezultat skupnega delovanja v maščobah topnih antioksidantov (tokoferoli, karotenoidi, fenolne spojine). Dosedanje raziskave so pokazale močno antioksidativno učinkovitost vitamina E. Oljčni listi so prav tako dober vir biološko aktivnih snovi, med katere sodijo tudi antioksidanti: olevropeidi (olevropein), flavonoidi (luteolin, apigenin), flavanoli (katehini), enostavne fenolne spojine (vaniliska, kafeinska kislina). Nekater študije so pokazale antioksidativne učinke ekstraktov oljčnih listov, dodanih v rastlinska olja in živalske maščobe, z namenom stabilizacije živil in preprečevanja oksidacije (Botsoglou in sod., 2012b).

Kolikšna je antioksidativna kapaciteta v maščobi topnih antioksidantov (ACL) smo določali v vzorcih 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki (preglednica 12).

Preglednica 12: Antioksidativna kapaciteta v maščobah topnih antioksidantov (ACL, nmol troloksa/g rumenjaka) v svežih, 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki

	ACL (nmol troloksa/g rumenjaka)							
	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
Absolutne vrednosti:								
Sveži	196,16a	660,23b	226,49a	212,74a	215,73a	224,36a	13,70	<0,0001
40 dni	232,66a	846,87b	266,80a	277,03a	288,70a	277,34a	25,45	<0,0001
Kuhani	60,28a	185,62b	66,82a	70,02a	61,35a	51,71a	10,09	<0,0001
Absolutne razlike:								
40 dni-sveži	36,51a	186,64b	40,31a	64,29a	72,97a	52,98a	26,14	0,004
Kuhani-sveži	-138,19a	-474,61c	-159,67ab	-142,72a	-154,38ab	-197,30b	15,96	<0,0001
Relativne razlike:								
<u>40 dni-sveži</u> sveži	0,19	0,28	0,19	0,31	0,35	0,28	0,09	0,749
<u>Kuhani-sveži</u> sveži	-0,69	-0,72	-0,70	-0,67	-0,72	-0,79	0,03	0,242

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe

a,b,c,d – različne črke označujejo katere skupine se med seboj značilno statistično razlikujejo

V svežih jajčnih rumenjaki smo najmanjšo vrednost ACL določili pri kontrolni skupini, največjo pa pri skupini VE. Vse skupine so imele večjo vrednost ACL od kontrolne skupine, kar nam pove, da ima krma z dodatki nekoliko večji antioksidativni učinek kot kontrolna skupina. V primerjavi s skupino VE so vse skupine z različnimi dodatki oliv imeli manjšo vrednost ACL, med seboj več ali manj podobno vsebnost. Dodatki oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih so v primerjavi s kontrolno skupino povečali antioksidativno kapaciteto jajčnih rumenjakov. Pri 40 dni staranih jajčnih rumenjaki smo najmanjšo vrednost ACL določili pri kontrolni skupini, največjo pa pri skupini VE. Tako kot pri svežih jajčnih rumenjaki rezultati kažejo na podobne razlike, in sicer vse skupine so imele višjo vrednost

ACL od kontrolne skupine. V primerjavi s skupino VE so skupine z različnimi dodatki oliv imele manjšo vsebnost, med seboj več ali manj podobno vrednost ACL. Pri kuhanih jajčnih rumenjakihi smo najmanjšo vrednost ACL določili pri PUE, največjo pri skupini VE. Rezultati so pokazali enake statistično značilne razlike tako pri svežih kot pri 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjakihi. Skupina K se je razlikovala od skupine VE ($p = < 0,0001$). Skupina VE se je razlikovala od skupin OL, OLE, PU, PUE ($p = < 0,0001$).

Če na splošno primerjamo med seboj sveža, 40 dni starana in kuhana jajca rezultati pri vseh skupinah dokazujejo povečano vrednost ACL pri skupinah z dodatki v primerjavi s kontrolno skupino. S staranjem naj bi prišlo do razgradnje antioksidantov, kar je nasprotujoče z našimi rezultati. To lahko razlagamo z dejstvom, da s staranjem prihaja do nastanka novih spojin, ki imajo še višjo antioksidativno kapaciteto in so zato vrednosti ACL povišane. Ta trditev sicer ni podkrepljena z literaturo, ampak izhaja iz naših predvidevanj. Pri kuhanih jajčnih rumenjakihi je prišlo do precejšnjega zmanjšanja vrednosti ACL v primerjavi svežimi in staranimi jajčnimi rumenjakihi.

4.3 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA V JAJČNIH RUMENJAKIH

Maščobnokislinsko sestavo smo določali v 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjakihi. Za potrebe primerjave in vrednotenja rezultatov smo kot vir podatkov za sveže in 28 dni starane jajčne rumenjake uporabili rezultate analize magistrskega dela Karmen Lupšina.

Rezultati (preglednica 13) predstavljajo srednje vrednosti deležev maščobnih kislin posamezne skupine svežih, 28 ali 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjakov. Predstavljene so tako maščobne kisline, ki so bile prisotne v večjih deležih, in tiste, ki so pomembne za zdravje.

Preglednica 13: Maščobnokislinska sestava (ut %) v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki

Vsebnost MK (ut %)								
MK	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
C16:0								
Sveži*	18,990	18,381	18,612	19,514	19,089	18,900	0,358	0,336
28 dni*	18,933	18,488	18,774	19,520	18,984	18,616	0,345	0,383
40 dni	19,039	18,644	18,911	19,511	19,169	18,911	0,353	0,640
Kuhani	19,099	18,444	18,655	19,732	18,800	19,701	0,414	0,169
C18:0								
Sveži*	8,557	8,575	8,802	8,523	8,556	8,814	0,219	0,864
28 dni*	8,661	8,516	8,796	8,597	8,614	8,721	0,233	0,698
40 dni	8,637	8,478	8,810	8,581	8,612	8,616	0,221	0,942
Kuhani	8,362	8,625	8,808	8,788	8,724	8,489	0,226	0,687
Vsota izomer C18:1								
Sveži*	39,695	38,722	38,429	37,308	38,232	37,280	0,763	0,249
28 dni*	39,878	39,005	38,711	37,347v	38,378	37,189	0,786	0,175
40 dni	39,806	38,894	39,230	37,646	38,512	37,309	0,756	0,204
Kuhani	38,846	39,212	38,718	38,270	37,525	37,323	0,672	0,314
C18:2n-6								
Sveži*	14,823	15,290	15,448	14,938	15,006	15,499	0,505	0,899
28 dni*	14,896	15,191	15,152	14,742	15,134	15,767	0,489	0,764
40 dni	14,706	15,241	14,717	14,610	14,999	15,621	0,501	0,696
Kuhani	14,654	14,988	15,379	14,518	15,817	14,625	0,581	0,580
C18:3n-3								
Sveži*	9,950	11,263	10,950	11,367	11,056	11,499	0,643	0,591
28 dni*	9,737	10,981	10,836	11,452	10,906	11,637	0,592	0,313
40 dni	10,010	11,015	10,692	11,420	10,834	11,554	0,554	0,434
Kuhani	11,045	10,957	10,725	10,641	11,462	11,801	0,465	0,484
C20:4n-6								
Sveži*	0,962	0,880	0,961	0,894	0,969	0,964	0,045	0,570
28 dni*	0,968	0,883	0,927	0,866	0,982	0,970	0,043	0,296
40 dni	0,936	0,878	0,913	0,850	0,973	0,941	0,045	0,448
Kuhani	0,916	0,890	0,974	0,931	0,956	0,882	0,044	0,636
C20:5 n-3								
Sveži*	0,192	0,205	0,192	0,217	0,228	0,231	0,014	0,244
28 dni*	0,190	0,202	0,196	0,232	0,226	0,227	0,013	0,136
40 dni	0,192	0,200	0,198	0,224	0,222	0,222	0,012	0,224
Kuhana	0,212	0,199	0,184	0,203	0,201	0,237	0,013	0,140

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 13: Maščobnokislinska sestava (ut %) v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki

Vsebnost MK (ut %)								
MK	MK	MK	MK	MK	MK	MK	MK	MK
C22:5 n-3								
Sveži*	0,349	0,321	0,346	0,395	0,371	0,362	0,032	0,687
28 dni*	0,348	0,319	0,348	0,401	0,362	0,365	0,031	0,581
40 dni	0,349	0,314	0,344	0,393	0,359	0,370	0,031	0,6165
Kuhana	0,333	0,308	0,324	0,365	0,298	0,369	0,033	0,559
C22:6 n-3								
Sveži*	1,888	1,662	1,719	1,949	1,848	1,901	0,099	0,340
28 dni*	1,877	1,663	1,691	1,922	1,859	1,895	0,096	0,281
40 dni	1,832	1,636	1,691	1,867	1,832	1,845	0,092	0,398
Kuhana	1,767	1,625	1,689	1,886	1,705	1,823	0,103	0,525

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe

* Uporabljeni so rezultati magistrskega dela Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

Deleži palmitinske (C16:0), stearinske (C18:0) ter oleinske kisline (C18:1) so bili več ali manj enaki tako pri kontrolni kot pri skupinah z dodatki. Vrednosti se niso razlikovale niti med svežimi, staranimi niti kuhanimi jajci. Nekoliko manjši delež oleinske kisline je bila pri skupini PU ter PUE v primerjavi s kontrolo ter ostalimi skupinam. Kljub temu ni bilo statistično značilnih razlik. Delež linolne kisline (C18:2 n-6) se med skupinami ni razlikovala. Rezultati so pokazali zmanjšanje deleža s kuhanjem. Prav tako ni bilo statistično značilni razlik med skupinami v deležu α -linolenske kisline. Delež arahidonske kisline (C20:4 n-6) je bil pri vseh skupinah skoraj enak. Malo nižji delež je bil le pri skupini VE in OLE. Delež EPA (C20:5 n-3) je bil v primerjavi s kontrolno skupino, enak pri skupini OL ter povečan pri vseh ostalih skupinah. Delež DPA (C22:5 n-3) je bil v primerjavi s kontrolno skupino enak kot pri skupini OL, nižji pri skupini VE ter višji pri skupinah OLE, PU in PUE. Delež DHA (C22:6 n-3) se je glede na kontrolno skupino znižal pri vseh skupinah, razen pri skupinah OLE in PUE je bila rahlo zvišan. Tako staranje kot kuhanje ni vplivalo na deleže niti arahidonske, EPA, DPA niti DHA kisline v jajčnih rumenjaki. Rezultati so pokazali, da med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik.

Primerjali smo rezultate absolutnih razlik (preglednica 14) vsebnosti deležev maščobnih kislin med svežimi 28 in 40 dni ter staranimi jajčnimi rumenjaki. Rezultati so pokazali, da med večino skupin ni bilo razlik v deležih maščobnih kislin. Statistično značilne razlike smo določili le pri primerjavi deležev palmitinske ter stearinske kisline. Pri vsebnosti palmitinske kisline so se skupine VE, OL, OLE razlikovale od skupine PUE. Pri slednji je prišlo do zmanjšanja deležev palmitinske kisline pri ostalih skupinah pa do povečanja vsebnosti. Prav tako se je razlikovala skupina OL od skupine PU. In sicer je po 28 dneh staranja pri skupini PU prišlo do zmanjšanja vsebnosti palmitinske kisline, pri skupini OL do zvišanja vsebnosti. Kar se tiče stearinske kisline so se od kontrolne skupine statistično razlikovale skupini VE in PUE. Pri obeh je prišlo do zmanjšanja deležev stearinske kisline v primerjavi s kontrolno

skupino. Razlike so prav tako bile med skupino OLE ter skupinami PU in PUE. Pri skupini OLE je prišlo do zvišanja deležev stearinske kisline v primerjavi s skupinami PU in PUE pri kateri je po 28 dneh staranja prišlo do zmanjšanja deležev.

Preglednica 14: Absolutne razlike v maščobnokislinski sestavi (ut %) med svežimi, staranimi 28 ali 40 dni in kuhanimi jajčni rumenjaki

Absolutna razlika v vsebnosti MK (ut %)								
MK	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
C16:0								
	-							
28 dni*-sveži*	0,0573 ab	0,1069ac	0,1618a	0,0061ac	-0,1053bc	-0,2842b	0,088	0,021
40 dni-sveži*	0,0488	0,2630	0,2988	-0,0035	0,0796	0,0114	0,120	0,341
Kuhani-sveži*	0,2125	0,0627	0,0422	0,2175	-0,2893	0,1350	0,120	0,732
C18:0								
	0,1036 a	-0,0587bc	-0,0069ab	0,074ac	0,0577ac	-0,0934b	0,053	0,092
28 dni*-sveži*	0,0800	-0,0962	0,0077	0,0578	0,0562	-0,1984	0,082	0,154
40 dni-sveži*	- 0,0906	0,0501	0,0060	0,2654	0,1682	-0,1947	0,082	0,521
Kuhani-sveži*								
C18:1								
	0,1826	0,2831	0,2818	0,0389	0,1459	-0,0912	0,180	0,695
28 dni*-sveži*	0,1109	0,1722	0,8008	0,3387	0,2797	0,0291	0,259	0,374
40 dni-sveži*	- 0,3910	0,4899	0,2897	0,9620	-0,7075	-0,0384	0,259	0,288
Kuhani-sveži*								
C18:2 n-6								
	0,0724	-0,0987	-0,2961	-0,1956	0,1274	0,2672	0,193	0,335
28 dni*-sveži*	- 0,1173	-0,0490	-0,7313	-0,3280	-0,0067	0,1212	0,303	0,428
40 dni-sveži*	- 0,3277	-0,3017	-0,0695	-0,4194	0,8112	-0,0582	0,303	0,413
Kuhani-sveži*								
C18:3 n-3								
	- 0,2134	-0,2815	-0,1146	0,0844	-0,1497	0,1379	0,218	0,714
28 dni*-sveži*	0,0598	-0,2476	-0,2581	0,0526	-0,2223	0,0551	0,237	0,788
40 dni-sveži*	0,5453	-0,3054	-0,2256	-0,7258	0,4064	-0,1670	0,237	0,431
Kuhani-sveži*	- 0,2134	-0,2815	-0,1146	0,0844	-0,1497	0,1379	0,218	0,714

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 14: Absolutne razlike v maščobnokislinski sestavi (ut %) med svežimi, staranimi 28 ali 40 dni in kuhanimi jajčni rumenjaki

Absolutna razlika v vsebnosti MK (ut %)								
MK	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
C20:4 n-6								
28 dni*-sveži*	-0,2134	-0,2815	-0,1146	0,0844	-0,1497	0,1379	0,218	0,714
40 dni-sveži*	0,0598	-0,2476	-0,2581	0,0526	-0,2223	0,0551	0,237	0,788
Kuhani-sveži*	0,5453	-0,3054	-0,2256	-0,7258	0,4064	-0,1670	0,237	0,431
28 dni*-sveži*	-0,2134	-0,2815	-0,1146	0,0844	-0,1497	0,1379	0,218	0,714
C22:5 n-3								
28 dni*-sveži*	-0,0007	-0,0023	0,0019	0,0054	-0,0096	0,0028	0,006	0,584
40 dni*-sveži*	-0,0001	-0,0068	-0,0017	-0,0019	-0,0127	0,0081	0,007	0,393
Kuhani-sveži*	-0,0014	-0,0127	-0,0218	-0,0304	-0,0734	0,0619	0,007	0,101
C22:6 n-3								
28 dni*-sveži*	-0,0116	0,0008	-0,0277	-0,0272	0,0117	-0,0056	0,021	0,753
40 dni-sveži*	-0,0559	-0,0260	-0,0277	-0,0824	-0,0162	-0,0557	0,027	0,529
Kuhani-sveži*	-0,0223	-0,0366	-0,0296	-0,0627	-0,1427	0,0525	0,027	0,894

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe

^{a,b,c,d} – različne črke označujejo katere skupine se med seboj značilno statistično razlikujejo

* Uporabljeni so rezultati magistrskega dela Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

Pri relativnih razlikah (preglednica 15) v vsebnosti maščobnih kislin pri večini skupin ni bilo statistično značilnih razlik. Relativno razliko smo podali kot (vsebnost MK v staranih oz. kuhanih jajčnih rumenjaki - vsebnost MK v svežih jajčnih rumenjaki/vsebnost MK v svežih jajčnih rumenjaki). Statistično značilno se razlikujejo le relativne razlike v vsebnosti palmitinske in stearinske kisline med svežimi in 28 dni staranim jajčnimi rumenjaki. In sicer: pri palmitinski kislini so razlike med skupino PUE in skupinami VE, OL, OLE, pri katerih je prišlo do povečanja vsebnosti palmitinske kisline v primerjavi s skupino PUE, pri kateri je prišlo do zmanjšanja vsebnosti. Prav tako se je razlikovala skupina OL od PU. Pri slednji se je vsebnost stearinske kisline znižala. Pri relativnih razlikah v vsebnosti stearinske kisline so statistično značilne razlike med kontrolno skupino in skupinami VE in PUE. Pri slednjih je prišlo do zmanjšanja vsebnosti stearinske kisline v primerjavi s kontrolno skupino, kjer je prišlo do povečanja vsebnosti po 28 dneh staranja. Poleg tega se je tudi razlikovala skupina PUE od skupini OLE in PU. In sicer: pri skupini PUE je prišlo do znižanja, pri skupini OLE in PU do zvišanja vsebnosti stearinske kisline. Statistično značilne razlike so bile tudi pri vsebnosti DPA. In sicer: skupina PUE se je razlikovala od skupin VE, OL, OLE, PU. Pri slednjih se je vsebnost DPA zmanjšala v primerjavi s skupino PUE, pri kateri je bila po kuhanju vsebnost višja.

Preglednica 15: Relativne razlike v maščobnokislinski sestavi med svežimi, staranimi 28 ali 40 dni in kuhanimi jajčnimi rumenjaki

Relativna razlika v vsebnosti MK (ut %)								
MK	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
C16:0								
<u>28 dni*-sveži*</u> Sveži	- 0,0031a b	0,0065bc	0,0087b	0,0003b c	-0,0054ac	-0,0151a	0,005	0,0173
<u>40 dni-sveži*</u> Sveži*	0,0026	0,0151	0,0161	-0,0003	0,0042	0,0005	0,006	0,2908
<u>Kuhana-sveži*</u> Sveži*	0,0114	0,0029	0,0024	0,0128	-0,0152	0,0074	0,013	0,7116
C18:0								
<u>28 dni*-sveži*</u> Sveži	0,0119a	-0,0068bc	- 0,0007a b	0,0081ac	0,0066ac	-0,0104b	0,006	0,0974
<u>40 dni-sveži*</u> Sveži*	0,0092	-0,0111	0,0014	0,0063	0,0067	-0,0218	0,009	0,1514
<u>Kuhana-sveži*</u> Sveži*	-0,0104	0,0058	0,0007	0,0326	0,0202	-0,0192	0,018	0,4968
C18:1								
<u>28 dni*-sveži*</u> Sveži	0,0048	0,0073	0,0073	0,0006	0,0038	-0,0022	0,005	0,6811
<u>40 dni-sveži*</u> Sveži*	0,0031	0,0045	0,0211	0,0088	0,0074	0,0011	0,007	0,3859
<u>Kuhana-sveži*</u> Sveži*	-0,0098	0,0129	0,0075	0,0280	-0,0186	-0,0005	0,029	0,3059
C18:2 n-6								
<u>28 dni*-sveži*</u> Sveži	0,0052	-0,0050	-0,0196	-0,0128	0,0081	0,0186	0,013	0,3095
<u>40 dni-sveži*</u> Sveži*	-0,0074	-0,0021	-0,0466	-0,0209	-0,0006	0,0093	0,019	0,4137
<u>Kuhana-sveži*</u> Sveži*	-0,0215	-0,0218	-0,0058	-0,0237	0,0536	-0,0030	0,039	0,4187
C18:3 n-3								
<u>28 dni*-sveži*</u> Sveži	-0,0218	-0,0240	-0,0095	0,0144	-0,0144	0,0214	0,021	0,6610
<u>40 dni-sveži*</u> Sveži*	0,0085	-0,0202	-0,0224	0,0135	-0,0209	0,0080	0,023	0,7455
<u>Kuhana-sveži*</u> Sveži*	0,0519	-0,0246	-0,0202	-0,0416	0,0370	-0,0136	0,053	0,5352
C20:4 n-6								
<u>28 dni*-sveži*</u> Sveži	0,0077	0,0028	-0,0355	-0,0242	0,0118	0,0079	0,023	0,5847
<u>40 dni-sveži*</u> Sveži*	-0,0255	-0,0032	-0,0510	-0,0380	0,0027	-0,0228	0,031	0,8279
<u>Kuhana-sveži*</u> Sveži*	-0,0539	0,0100	0,0106	0,0548	-0,0091	0,0434	0,054	0,7305

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 15: Relativne razlike v maščobnokislinski sestavi med svežimi, staranimi 28 ali 40 dni in kuhanimi jajčnimi rumenjaki

Relativna razlika v vsebnosti MK (ut %)								
MK	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
C20:5 n-3								
<u>28 dni*-sveži*</u>								
Sveži	-0,0175	-0,0140	0,0261	0,0827	-0,0044	-0,0171	0,030	0,1643
<u>40 dni-sveži*</u>								
Sveži*	-0,0034	-0,0268	0,0424	0,0560	-0,0251	-0,0393	0,040	0,4377
<u>Kuhana-sveži*</u>								
Sveži*	0,0082	-0,0267	-0,0411	0,0098	-0,1123	-0,0022	0,055	0,9503
C22:5 n-3								
<u>28 dni*-sveži*</u>								
Sveži	-0,0018	-0,0061	0,0089	0,0160	-0,0229	0,0058	0,016	0,5866
<u>40 dni-sveži*</u>								
Sveži*	-0,0016	-0,0221	-0,0003	-0,0030	-0,0334	0,0210	0,061	0,4082
<u>Kuhana-sveži*</u>								
Sveži*	-	-0,0426a	-0,0667a	-0,0773a	-0,1561a	0,1666b	0,016	0,0423
C22:6 n-3								
<u>28 dni*-sveži*</u>								
Sveži	-0,0052	-0,0001	-0,0160	-0,0127	0,0073	-0,0033	0,011	0,7244
<u>40 dni-sveži*</u>								
Sveži*	-0,0282	-0,0164	-0,0152	-0,0403	-0,0075	-0,0294	0,014	0,5916
<u>Kuhana-sveži*</u>								
Sveži*	-0,0124	-0,0224	-0,0161	-0,0254	-0,0604	0,0287	0,045	0,9216

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe

*Uporabljeni so rezultati magistrskega dela Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

Delež nasičenih maščobnih kislin je za razliko od kontrole bil nižji le pri skupini VE (preglednica 16). Vrednosti so bile podobne pri vseh skupinah, tako med svežimi kot staranimi jajci. Statistično značilne razlike so bile le pri kuhanih jajcih. Skupina OLE se je razlikovala od skupin K, VE, OL. In sicer: pri njej je bil povečan delež skupnih nasičenih maščobnih kislin po kuhanju. Prav tako se je razlikovala skupina VE od PUE. Slednja je imela višji delež NMK za razliko od PUE. Delež enkrat nenasičenih maščobnih kislin je bil nekoliko nižji pri vseh skupinah v primerjavi s kontrolno skupino. Najnižje deleže so imele skupine z ekstrakti. Ni bilo statistično značilnih razlik med svežimi, staranimi in kuhanimi jajci. Delež večkrat nenasičenih maščobnih kislin je bil večji pri vseh skupinah v primerjavi s kontrolno skupino. Ne med skupinami z dodatki ne med svežimi, staranimi in kuhanimi jajčnimi rumenjaki ni bilo statistično značilnih razlik. Razmerje med n-6 in n-3 VNMK je bilo zelo ugodno in v skladu s prehranskimi smernicami, gibalo se je med 1-1,3:1.

Preglednica 16: Maščobnokislinska sestava v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki - vsote posameznih skupin maščobnih kislin

Vsote posameznih skupin maščobnih kislin (ut %)								
	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
NMK								
Sveži*	28,155	27,573	28,037	28,690	28,274	28,357	0,331	0,313
28 dni*	28,197	27,618	28,184	28,761	28,216	27,982	0,315	0,261
40 dni	28,269	27,736	28,330	28,723	28,377	28,154	0,315	0,415
Kuhani	28,066ab	27,682a	28,079ab	29,148c	28,153abc	28,835bc	0,373	0,092
ENMK								
Sveži*	43,007	42,091	41,622	40,842	41,504	40,487	0,829	0,350
28 dni*	43,122	42,415	41,941	40,928	41,566	40,393	0,867	0,295
40 dni	43,071	42,287	42,455	41,233	41,713	40,576	0,835	0,355
Kuhani	42,319	42,650	41,937	41,640	40,625	40,710	0,762	0,342
VNMK								
Sveži*	28,770	30,269	30,258	30,388	30,161	31,057	0,946	0,680
28 dni*	28,608	29,873	29,779	30,247	30,151	31,559	0,947	0,436
40 dni	28,596	29,900	29,149	29,977	29,854	31,211	0,941	0,508
Kuhani	29,537	29,588	29,896	29,138	31,137	30,377	0,915	0,692
n-3 VNMK								
Sveži*	12,641	13,753	13,492	14,219	13,817	14,271	0,681	0,584
28 dni*	12,404	13,459	13,351	14,305	13,666	14,443	0,633	0,274
40 dni	12,639	13,456	13,199	14,201	13,547	14,301	0,595	0,385
Kuhani	13,645	13,384	13,201	13,371	13,996	14,539	0,516	0,473
n-6 VNMK								
Sveži*	16,129	16,516	16,766	16,170	16,343	16,786	0,541	0,919
28 dni*	16,204	16,415	16,428	15,942	16,486	17,116	0,529	0,740
40 dni	15,957	16,444	15,949	15,776	16,307	16,910	0,548	0,713
Kuhani	15,892	16,204	16,695	15,766	17,141	15,837	0,624	0,572
Razmerje n-3:n-6 VNMK								
Sveži*	1,281	1,203	1,257	1,154	1,184	1,195	0,063	0,7235
28 dni*	1,316	1,222	1,243	1,118	1,211	1,198	0,056	0,2914
40 dni	1,267	1,224	1,220	1,112	1,208	1,195	0,052	0,4529
Kuhani	1,165	1,209	1,279	1,184	1,228	1,095	0,052	0,2530
DV VNMK								
Sveži*	3,828	3,552	3,683	3,910	3,918	3,875	0,143	0,415
28 dni*	3,806	3,536	3,613	3,878	3,927	3,966	0,137	0,191
40 dni	3,727	3,497	3,584	3,790	3,861	3,864	0,135	0,320
Kuhani	3,683	3,500	3,634	3,836	3,698	3,777	0,154	0,715
DV n-3 VNMK								
Sveži*	2,606	2,403	2,451	2,758	2,666	2,678	0,130	0,365
28 dni*	2,583	2,390	2,424	2,759	2,664	2,708	0,123	0,214
40 dni	2,542	2,354	2,416	2,687	2,616	2,648	0,119	0,313
Kuhani	2,507	2,340	2,387	2,646	2,440	2,635	0,136	0,512

Se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 16: Maščobnokislinska sestava v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki - vsote posameznih skupin maščobnih kislin

Vsote posameznih skupin maščobnih kislin (ut %)								
	K	VE	OL	OLE	PU	PUE	SEM	P
DV n-6 VNMK								
Sveži*	1,222	1,150	1,232	1,151	1,252	1,198	0,062	0,790
28 dni*	1,223	1,146	1,189	1,119	1,263	1,258	0,051	0,289
40 dni	1,185	1,144	1,167	1,103	1,245	1,217	0,055	0,523
Kuhani	1,175	1,160	1,247	1,190	1,258	1,142	0,054	0,581
Razmerje n-3:n-6 DV VNMK								
Sveži*	0,472	0,480	0,515	0,417	0,472	0,457	0,034	0,580
28 dni*	0,476	0,480	0,502	0,405	0,476	0,472	0,029	0,291
40 dni	0,469	0,486	0,493	0,410	0,478	0,468	0,030	0,435
Kuhani	0,471	0,500	0,536	0,451	0,521	0,437	0,031	0,206

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe

*Uporabljeni so rezultati magistrskega dela Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

V preglednici 17 so predstavljeni podatki maščobnokislinske sestave svežih običajnih jajc, z n-3 VNMK obogatenih jajc proizvajalca Jata-Emona in jajc iz poskusa Karmen Lupšine. Primerjava maščobnokislinske sestave kaže velike razlike glede deležev n-3 VNMK. N-3 jajca Jata-Emona so imela podobno vsebnost NMK (34,76 ut %) kot običajna jajca (34 ut %), za razliko od jajc iz poskusa, ki so imela za 17 % nižji delež NMK (28,16 ut %). Ta razlika v vsebnosti NMK se kaže pri zmanjšanem deležu miristinske, palmitinske in arahidinske kisline. Čeprav so imela jajca iz poskusa višji delež nekaterih NMK (margarinska, stearinska, nonadekanojska), so imela nižji delež skupnih nasičenih maščob. Delež skupnih nenasičenih maščobnih kislin je bil, pri z n-3 VNMK obogatenih jajcih iz poskusa, 8-9 % višji v primerjavi z običajnimi jajci in n-3 jajci Jata-Emona. Razlike se kažejo predvsem v deležih VNMK. Sicer imajo tako n-3 jajca Jata-Emona kot n-3 jajca iz poskusa v primerjavi z običajnimi jajci skoraj 13 % nižje deleže ENMK. N-3 jajca iz poskusa so vsebovala 25 % več VNMK od n-3 jajc Jata-Emona in skoraj polovico (43 %) več od običajnih jajc. Poleg tega so vsebovala skoraj 12-krat več skupnih n-3 VNMK od običajnih jajc in dvakrat več v primerjavi z n-3 jajci Jata-Emona. Delež skupnih n-6 NMK v jajcih iz poskusa je nekoliko višji kot pri običajnih jajcih in n-3 jajcih Jata-Emona. Razlika je zanemarljiva zaradi visoke vsebnosti skupnih n-3 VNMK. Razmerje med n-6 in n-3 VNMK pri jajcih iz poskusa znaša 1,28 kar je zelo ugodno za zdravje. V primerjavi z običajnimi jajci je 11-krat manjše ter temelji na osnovi povečanja n-3 VNMK. V primerjavi z n-3 jajci Jata-Emona se je razmerje zožilo skoraj za polovico. Če malo bolj podrobno pogledamo n-3 VNMK oz. analiziramo razlike med posameznimi maščobnimi kislinami, n-3 jajca iz poskusa prav tako prednjačijo pred običajnimi ter n-3 jajci Jata-Emona. Rezultati analize maščobnokislinske sestave so pokazali 15 % povečano vsebnost linolne VNMK v primerjavi z običajnimi jajci in 9 % v primerjavi z n-3 jajci Jata-Emona. Kar se tiče α -linolenske maščobne kisline je bilo pri jajcih iz poskusa skoraj 100 % povečanje vsebnosti glede na običajna jajca in 64 % glede na n-3 Jata-Emona.

Pri običajnih jajcih ni zabeležena vsebnost EPA. N-3 jajca iz poskusa so vsebovala dvakrat večji delež EPA v primerjavi z n-3 jajci Jata-Emona. Prav tako je bilo pri teh 77 % povečanje vsebnosti DPA glede na običajna jajca in 26 % povečanje glede na n-3 jajca Jata-Emona. Kar se tiče DHA so ta imela višjo vsebnost glede na n-3 jajca iz poskusa, in sicer za 12 %. Kljub temu je pomembno omeniti, da so jajca iz poskusa vsebovala 62 % več DHA v primerjavi z običajnimi jajci.

Preglednica 17: Primerjava maščobnokislinske sestave običajnega jajca z maščobnokislinsko sestavo, z n-3 maščobnimi kislinami obogatenih jajc proizvajalca Jata-Emona ter z jajci iz poskusa.

Maščobnokislinska sestava (ut %)	Običajna jajca*	Obogatena jajca z n-3 MK* (JATA EMONA)	Obogatena jajca z n-3 MK**
C11:0	0,037	0,022	< 0,010
C14:0	0,356	0,307	0,230
C14:1	0,082	0,064	0,030
C15:0	0,050	0,053	0,050
C16:0	25,259	23,072	19,044
C16:1	3,295	3,000	4,838
C17:0	0,155	0,161	0,226
C18:0	8,131	7,960	8,560
C18:1 c, n-9 c+t	45,999	43,452	39,700
C18:2 c, n-6 (LA)	12,551	13,487	14,820
C18:3 c, n-6 (GLA)	0,120	0,070	0,008
C19:0	0,015	0,012	0,030
C18:3 c, n-3 (ALA)	0,279	3,509	9,950
C20:0	0,023	0,021	0,000
C20:1 n-15 + n-12	0,259	0,234	0,020
C20:2 n-6	0,000	0,112	0,090
C20:3 n-6	0,091	0,113	0,120
C20:4 n-6	2,191	1,518	0,960
C20:3 n-3	0,000	0,053	0,130
C20:5 n-3 (EPA)	0,000	0,089	0,190
C22:4 n-6	0,182	0,103	0,040
C22:5 n-3	0,081	0,260	0,350
C22:6 n-3 (DHA)	0,723	2,147	1,890
C24:1 n-9	0,012	0,010	0,000
Nasičene	34,00	34,76	28,16
Nenasičene	66,00	65,24	71,78
Enkrat nenasičene	49,60	43,75	43,01
Večkrat nenasičene	16,40	21,49	28,77
Skupne n-3	1,08	6,06	12,64
Skupne n-6	15,25	15,43	16,13
Razmerje n-6 : n-3	14,13	2,55	1,28

* Rezultati po povzeti po Specifikaciji za kokošja n-3 jajca (Jata-Emona, 2008)

** Uporabljeni so rezultati magistrskega dela Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

4.4 VSEBNOST α - IN γ -TOKOFEROLA

V poskusu kot dodatek krmi za kokoši nesnice je uporabljen α -tokoferil acetat. Ta je topen v maščobah in je močen antioksidant, ki ščiti celice in tkiva pred negativnimi vplivi lipidne oksidacije. Kokoši ga v organizmu ne morejo sintetizirati, zato ga je potrebno vključiti v njihovo prehrano kot dodatek v krmo. Poskusnim skupinam K, OL, OLE, PU in PUE je bilo v krmo dodano 10 IU/kg krme, skupini VE pa 150 IU/kg krme (Lupšina, 2013).

Vsebnost α -tokoferola in γ -tokoferola smo določali v svežih, 28 in 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki (preglednica 20). Vsebnost α -tokoferola je v primerjavi s kontrolno skupino večja le pri skupini VE. Med skupinami OL, PU, OLE, PUE in kontrolno skupino ni bilo večjih razlik. Pri skupini VE je bila vsebnost vitamina E, tako pri svežih kot pri staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki, 6-7-krat višja v primerjavi z drugimi skupinami. Rezultati kažejo na s staranjem pogojeno zmanjšanje vsebnosti α -tokoferola, saj so ga 28 dni starana jajca vsebovala manj kot sveža, 40 dni starana manj kot 28 dni starana. Botsoglou in sod. (2010b) so pri svoji raziskavi ugotovili upad vsebnosti α -tokoferola pri jajcih kontrolne skupine šele po 40 dneh shranjevanja, prej ni bilo sprememb. Vsebnost α -tokoferola v jajčnih rumenjaki, kjer je krma nesnic vsebovala dodatek oljčnih listov, se je zmanjšala po 60 dneh staranja. Vsebnost α -tokoferola pri skupini jajčnih rumenjakov nesnic, ki so dobivale krmo z dodatkom α -tokoferil acetata, je ostala nespremenjena tudi po 60 dneh skladiščenja. V rumenjaki kuhanih jajc smo izmerili višje vsebnosti α -tokoferola. Ta so imela višje vrednosti α -tokoferola v primerjavi s svežimi rumenjaki, kar sicer ni v skladu z dejstvom, da je vitamin E občutljiv na visoko temperaturo. Teh kontradiktornih rezultatov si ne znamo pravilno razlagati in ne poznamo vzroka povečanja vsebnosti vitamina E pri takšnih pogojih.

Z analizo smo potrdili možnost obogatitve jajc z vitaminom E ob dodatku v krmo. Rezultati so tudi v skladu z dosedanjimi raziskavami (Ren in sod., 2013; Botsoglou in sod., 2010a; Botsoglou in sod., 2010b; Botsoglou in sod., 2010c; Zduńczyk in sod., 2013). Raziskava Botsoglou in sod. (2010b) je pokazala možnost povečanja vsebnosti α -tokoferola v jajcih pri dodatku oljčnih listov v krmo. Vsebnost vitamina E se je povečala iz 77 $\mu\text{g/g}$ rumenjaka pri svežih jajcih kontrolne skupine nesnic na 106 $\mu\text{g/g}$ pri svežih jajcih skupine nesnic, pitalih s krmo z dodatkom oljčnih listov. Enakega učinka dodatka oljčnih listov pri naši raziskavi nismo uspeli določiti. Dodatki oljčnih listov, oljne pulpe in ekstraktov iz njih niso imeli vpliva na vsebnost α - in γ -tokoferola.

Preglednica 18: Vsebnost α -tokoferola in γ -tokoferola (mg/100 g) v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki obogatenih z n-3 VNМК

	K	VE	OL	OLE	PU	PUE
α -TOC						
sveža	5,09	37,18	5,26	4,75	5,60	5,60
28 dni	3,98	33,45	4,78	3,72	4,27	3,84
40 dni	4,53	31,11	3,72	4,30	4,40	3,70
kuhana	5,29	33,25	5,16	5,47	5,73	5,88
γ -TOC						
sveža	2,39	2,77	2,21	2,29	3,53	3,03
28 dni	2,49	2,79	2,53	2,38	2,98	2,52
40 dni	2,58	2,63	2,51	2,54	2,99	2,44
kuhana	2,96	3,02	2,34	2,90	3,49	3,47

α -TOC= α -tokoferol, γ -TOC= γ -tokoferol

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo obogateno, z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe.

γ -tokoferol smo določali v svežih, 28 in 40 dni staranih in kuhanih jajčnih rumenjaki bolj zaradi informativnih razlogov, saj se pri obogatitvi jajc uporablja biološko aktivna oblika tokolov, in sicer α -tokoferil acetat. Razlike v vsebnosti med skupinami in v primerjavi s kontrolno skupino so bile zelo majhne ali jih ni bilo. Nekoliko višja vsebnost je bila pri skupini VE. V splošnem lahko rečemo, da dodatki α -tokoferil acetata, oljčnih listov in oljčne pulpe niso imeli vpliva na vsebnost γ -tokoferola v jajčnih rumenjaki.

4.5 PREHRANSKA VREDNOST JAJC, OBOGATENIH Z N-3 VNМК

V preglednici 18 so predstavljene referenčne vrednosti potreb, povzete po referenčnih vrednosti nemškega, avstrijskega prehranskega društva ter švicarskega društva za raziskovanje prehrane in združenja za prehrano (Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008). Glede na te smernice smo preračunali pokritje potreb na povprečno maso jajca, ki znaša 60 g.

60 g težko jajce, pridobljeno z našim poskusom, omogoča 4,7 % pokritja potreb po energiji. 11,21 % E je vnosa iz skupnih maščob in 7,27 % E vnosa iz NMK, kar je, glede na idealni vnos, 2,4-krat preveč skupnih maščob in 55 % preveč NMK. Iz tega vidika je jajce živilo, bogato s skupnimi maščobami ter NMK. Čeprav jajce vsebuje visok odstotek tako skupnih maščob kot NMK, je bogato z VNМК. Pri prehranski presoji vnosa maščob je pomembno omeniti, da VNМК zmanjšujejo negativne učinke NMK, tako je pri tem pomembna vsebnost VNМК. Jajce obogati prehrano z VNМК, predvsem z EPA in DHA, saj pokrije 8,58 % potreb po VNМК, 26,67 % potreb po n-3 VNМК, 7,13 % potreb po n-6 VNМК in celo 48,00 % potreb po EPA in DHA. Razmerje med n-6 in n-3VNМК je pri naših jajcih zelo ugodno za zdravje in znaša 1,28:1. Če se osredotočimo samo na n-3 VNМК, bi uživanje treh

jajc na dan zadostilo dnevnim potrebam. Priporočila EFSA po EPA in DHA znašajo skupaj 0,25 g/d, vsebnost v naših jajcih je bila 0,197 g/100 g jajca oz. 0,118 g/60 g. Iz tega izhaja, da eno jajce, obogateno z n-3, pokrije 48 % potreb po EPA in DHA.

Preglednica 19: Ocena pokritja potreb z obogatenimi jajci iz našega poskusa glede na referenčnih vrednosti (Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008)

	Dnevne potrebe oz. priporočila	Dnevne potrebe oz. priporočila	Vsebnost v svežem n-3 obogatenem jajcu težkem 60 g	Pokritje dnevnih potreb z enim 60 g n-3 obogatenim jajcem
Energija	2000 kcal		94 kcal	4,7 %
Skupne maščobe	25-30 % skupne E	56-66 g	6,84 g	11,21 %
Nasičene maščobne kisline	< 10 % skupne E	< 22 g	1,60 g	7,27 %
Večkrat nenasičene maščobne kisline (VNMK)	7-10 % skupne E	16-22 g	1,63 g	8,58 %
- n-3 VNMK	1,2 % skupne E	2,7 g	0,72 g	26,67 %
- n-6 VNMK	5,8 % skupne E	12,9 g	0,92 g	7,13 %
razmerje n-6 : n-3 VNMK	Vsaj 5:1, bolje ožje		1,28:1	1,28:1
EPA, DHA		0,25 g	0,12 g	48

Glede na evropske določbe za vsebnost n-3 VNMK bi lahko naša z n-3 VNMK obogatena jajca, ki vsebujejo 0,94 g/100 g ter 0,61 g/100 kcal α -linolenske kisline, 197mg/100g oz. 127 mg/100 g DHA+EPA ter 71,9 % nenasičenih maščobnih kislin, ki zagotavljajo 39 % energijske vrednosti, označili z naslednjimi prehranskimi trditvami:

- Vir n-3 VNMK (izdelek vsebuje vsaj 0,3 g α -linolenske kisline na 100 g in 100 kcal ali vsaj 40 mg eikozapentaenojske kisline in dokozaheksaenojske kisline skupaj na 100 g in na 100 kcal).
- Visoka vsebnost n-3 VNMK (izdelek vsebuje vsaj 0,6 g α -linolenske kisline na 100 g in na 100 kcal ali vsaj 80 mg eikozapentaenojske kisline in dokozaheksaenojske kisline skupaj na 100 g in na 100 kcal).
- Visoka vsebnost nenasičenih maščob (vsaj 70 % maščobnih kislin v izdelku iz nenasičenih maščob in če nenasičene maščobe zagotavljajo več kot 20 % energijske vsebnosti izdelka). Naša jajca so vsebovala 71,78 % nenasičenih maščobnih kislin, ki zagotavljajo 39,2 % energijske vrednosti.

Prav tako bi jih lahko označili z naslednjimi zdravstvenimi trditvami:

- ALA prispeva k vzdrževanju normalne ravni holesterola v krvi. Trditev se lahko navede le na živilu, ki je vsaj vir ALA, kakor je opredeljeno s trditvijo VIR MAŠČOBNIH KISLIN OMEGA-3 iz Priloge k Uredbi (ES) št. 1924/2006. Potrošnike je treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 2 g ALA. Naša jajca izpolnjujejo pogoje za označitev s trditvijo, da so vir n-3 VNMK.
- DHA ima vlogo pri ohranjanju vida. Trditev se lahko navede le na živilu, ki vsebuje

vsaj 40 mg DHA na 100 g in na 100 kcal. Za navedbo trditve je potrošnike treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 250 mg DHA. Naša jajca so vsebovala 178,83 mg DHA/100 g in 112,18 mg /100 kcal.

- EPA in DHA imajo vlogo pri delovanju srca. Trditev se lahko navede le na živilu, ki je vsaj vir EPA in DHA, kakor je opredeljeno s trditvijo VIR MAŠČOBNIH KISLIN OMEGA-3 iz Priloge k Uredbi (ES) št. 1924/2006. Za navedbo trditve je potrošnike treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 250 mg EPK in DHK (Uredba komisije EU, 2012).

Ocenili smo pokritje potreb otrok, mladostnikov in odraslih po posameznih skupinah maščob z uživanjem z n-3 VNMK obogatenih jajc iz našega poskusa. Dnevni vnos 20 g jajc pokrije 2-3 % potreb po NMK, 1,9-3,7 % potreb po ENMK in 2,3 –4,6 % potreb po VNMK. Največ potreb pokrije po n-3 VNMK, in sicer 14,3-27,3 %, v manjši meri (3,6-7,2) pa po n-6 VNMK.

Preglednica 20: Ocena pokritja potreb otrok, mladostnikov in odraslih po maščobah pri dnevnem zaužitju 20 g jajca iz našega poskusa, obogatene z n-3 VNMK (*Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2008).

Kemijska sestava jajca iz našega poskusa, obogatene z omega-3 VNMK												
		Vitamin E (mg)		NMK (g)		ENMK (g)		VNMK (g)		n-6 VNMK (g)		n-3 VNMK (g)
	na 100 g	5,09		2,660		4,070		2,720		1,540		1,190
	na 60 g	3,1		1,596		2,442		1,632		0,924		0,714
	na 20 g	1,02		0,532		0,814		0,544		0,308		0,238
Dnevne potrebe*												
			NMK (%E)	NMK (g)	ENMK (%E)	ENMK (g)	VNMK (%E)	VNMK (g)	n-6 VNMK (%E)	n-6 VNMK (g)	n-3 VNMK (%E)	n-3 VNMK (g)
Otroci 4-10 let	Ž	9	< 10	< 17,5	>13	> 21,6	7	11,7	2,5	4,3	0,5	0,86
	M	12	< 10	< 19	>13	> 24,6	7	13,2	2,5	4,7	0,5	0,94
Otroci 10-15 let	Ž	14	< 10	< 23	>13	> 30,3	7	16,3	2,5	5,8	0,5	1,16
	M	12	< 10	< 28	>13	> 36,1	7	19,4	2,5	6,7	0,5	1,16
Mladostniki 15-19 let	Ž	15	< 10	< 28	>13	> 36,1	7	19,4	2,5	6,9	0,5	1,39
	M	12	< 10	< 34	>13	> 44,8	7	24,1	2,5	8,6	0,5	1,72
Odrasli 19-51 let	Ž	14	< 10	< 27	>13	> 34,7	7	18,7	2,5	6,7	0,5	1,33
	M	8	< 10	< 33	>13	> 43,3	7	23,3	2,5	8,3	0,5	1,67
Pokritje dnevnih potreb z 20 g jajca/dan (%)												
Otroci 4-10 let	Ž	12,8		2,8		3,8		4,6		7,2		27,7
	M	11,3		3		3,3		4,1		6,6		25,3
Otroci 10-13 let	Ž	8,5		1,9		2,7		3,3		5,3		20,5
	M	7,3		2,3		2,3		4,2		4,6		20,5
Mladostniki 15-19 let	Ž	8,5		1,6		2,3		4,2		4,5		17,1
	M	6,8		1,9		1,8		3,4		3,6		13,8
Odrasli 19-51 let	Ž	8,5		1,6		2,3		2,9		4,6		17,9
	M	7,3		2,0		1,9		2,3		3,7		14,3

5 SKLEPI

Iz rezultatov, ki smo jih dobili v raziskavi, lahko podamo naslednje sklepe, in sicer:

- Dodatek lanenega olja je povečal vsebnost n-3 VNMK v jajcih, in sicer v večji meri α -linolenske kisline, v manjši meri EPA in DHA.
- Obogatitev jajc z n-3 VNMK je povečalo tveganje za lipidno oksidacijo in povzročilo povečano vsebnost MDA.
- Jajčni rumenjaki so vsebovali zelo majhne koncentracije MDA. Glede na to lahko sklepamo, da sta krma in/ali dodano laneno olje že v osnovi vsebovala dovolj naravnih antioksidantov, zato do lipidne oksidacije VNMK ni prišlo v večji meri.
- Vsebnost MDA v 28 in 40 dni staranih jajčnih rumenjakih je bila med skupinami statistično značilno različna, a so bile razlike zelo majhne. Pri svežih in kuhanih jajčnih rumenjakih ni bilo statistično značilnih razlik. Glede na to sklepamo, da tako dodatek oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih kot dodatek vitamin E niso imeli vpliva na preprečevanje lipidne oksidacije VNMK svežih, kuhanih in staranih jajčnih rumenjakov.
- Dodatki oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih so povečali antioksidativno kapaciteto v maščobah topnih antioksidantov tako svežih kot staranih in kuhanih jajc. Podoben učinek, vendar v večji meri, je imel dodatek vitamina E. S kuhanjem se je antioksidativna kapaciteta v maščobah topnih antioksidantov zmanjšala zaradi uničenja antioksidantov z visoko temperaturo.
- Tako dodatek oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih kot dodatek vitamin E niso imeli vpliva na maščobnokislinsko sestavo svežih, kuhanih in staranih jajčnih rumenjakov.
- Dodatek α -tokoferil acetata v krmo je povečal njegovo vsebnost v jajčnih rumenjakih. S staranjem se je njegova vsebnost zmanjšala.
- Dodatek oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih niso imeli vpliva na vsebnost vitamina E v svežih, staranih in kuhanih jajčnih rumenjakih.

6 POVZETEK

N-3 VNMK so esencialna hranila in imajo pomembno vlogo pri imunskih odzivih, vnetnih procesih, sintezi tkivnih hormonov, celičnem signaliziranju, kognitivnih funkcijah in razvoju živčevja. Sodobni način prehranjevanja pogosto ne zagotavlja zadostnega vnosa n-3 VNMK, saj jih živila ne vsebujejo v količinah, potrebnih za pokrivanje potreb. Pomanjkanje ima lahko številne negativne učinke na zdravje, med katerimi je pojav bolezni, kot so diabetes tipa 2, hipertenzija, astma, revmatoidni artritis, kronične črevesne bolezni. Z vključevanjem n-3 VNMK v prehrano prebivalstva bi lahko preprečili oz. zmanjšali njihov pojav. Kokošja jajca so za to primeren medij, saj je jajčni rumenjaki bogat z maščobami, na katerega lahko s prehrano kokoši močno vplivamo. Poleg tega jajca uživamo kot del vsakdanje prehrane in bi tako lahko na dnevni ravni povečali uživanje n-3 VNMK brez spreminjanja prehranjevalnih navad. Jajca lahko po naravni poti obogatimo z n-3 VNMK s spreminjanjem sestave krme kokoši. V krmo lahko dodajamo različne vire n-3 VNMK, kot so rastlinska semena (lanena, sojina) in olja iz njih, olja alg in ribja olja. Kot vir n-3 VNMK se v praksi najpogosteje uporabljajo lanena semena. Jajca obogatena z n-3 VNMK so zaradi večje vsebnosti VNMK dovzetna za lipidno oksidacijo, zato jih je potrebno dodatno zaščititi z antioksidanti. Slednji preprečujejo lipidno oksidacijo maščob, tako ohranijo vsebnost n-3 VNMK in prehransko vrednost jajc. Vitamin E ima močno antioksidativno delovanje, zato se največkrat uporablja kot dodatek v krmo za preprečevanje lipidne oksidacije. Oljke so bogate s fenolnimi spojinami in imajo prav tako močen antioksidativen učinek, sicer v manjši meri kot vitamin E.

V raziskavi smo želeli potrditi, da lahko z dodatkom lanenega olja povečamo vsebnost n-3 VNMK v jajcih. Prav tako smo želeli potrditi, da ima lahko dodatek vitamina E antioksidativni učinek na preprečevanje lipidne oksidacije maščob v jajcih, obogatenih z n-3 VNMK. Poleg tega smo želeli ugotoviti, ali imajo oljni listi, oljna pulpa in ekstrakti iz njih enake oz. podobne antioksidativne učinke. Analizirali smo 40 dni starane jajčne rumenjake in toplotno obdelane jajčne rumenjake kokoši nesnic, ki so bile krmljene s krmo, ki je kot vir n-3 VNMK vsebovala 6 % lanenega olja, brez dodanih antioksidantov (K), z dodatki vitamina E (VE), oljčnih listov (OL), oljne pulpe (PU) in ekstraktov iz njih (OLE, PUE). V jajčnih rumenjaki smo določali vsebnost malondialdehida, antioksidativno kapaciteto v maščobah topnih antioksidantov, maščobnokislinsko sestavo in vsebnost vitamina E. Analize so pokazale, da so vsa jajca vsebovala MDA, ki je marker lipidne oksidacije, kar kaže na to, da je v rumenjaki vseh skupin prišlo do lipidne oksidacije. Ker so te koncentracije zelo majhne in niso vplivale na organoleptične lastnosti, lahko rečemo, da so zanemarljive. Med skupinami smo določili statistično značilne razlike, vendar so bile te razlike zelo majhne. Zato sklepamo, da dodatki tako vitamina E kot oljčnih listov, oljne pulpe in ekstraktov iz njih niso vplivali na vsebnost MDA. Ta se je s staranjem povečala, prav tako tudi s kuhanjem, sicer v manjši meri. Dodatki vitamina E, oljčnih listov, oljne pulpe in ekstraktov iz njih so povečali antioksidativno kapaciteto v maščobah topnih antioksidantov. Dodatek vitamina E je imel

večji učinek v primerjavi z ostalimi dodatki, ki so med seboj imeli več ali manj podoben učinek. S kuhanjem je antioksidativna kapaciteta upadla, predvidevamo, da zaradi občutljivosti antioksidantov na visoko temperaturo. Dodatki vitamina E, oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih niso imeli vpliva na maščobnokislinsko sestavo, saj med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik. Dodatek lanenega olja v krmo je povečal delež n-3 VNMK. S tem smo potrdili možnost obogatitve kokošjih jajc z n-3 VNMK z dodatkom lanenega olja v krmo. V primerjavi z običajnimi jajci se je znižal delež NMK in ENMK. V precejšnji meri se je povečal delež VNMK, predvsem n-3 VNMK, saj je delež n-6 VNMK primerljiv z deleži teh maščobnih kislin v običajnih (neobogatenih) jajcih. Pomembno je omeniti, da se je zaradi tega razmerje med n-6 in n-3 VNMK zožilo na raven prehranskih priporočil (vsaj 5:1 ali manj). Z analizo vsebnosti vitamina E smo potrdili možnost obogatitve jajca z dodatkom v krmo. Dodatki oljčnih listov, oljčne pulpe in ekstraktov iz njih niso imeli vpliva na vsebnost vitamina E v jajčnih rumenjaki, saj ni bilo statistično značilnih razlik. S staranjem se je vsebnost vitamina E zmanjšala. Kljub visoki vsebnosti fenolnih spojin v oljčnih listih in oljčni pulpi z raziskavo nismo uspeli potrditi, da ti dodatki delujejo antioksidativno in preprečujejo lipidno oksidacijo pri jajcih, obogatenih z n-3 VNMK. Eden od možnih razlogov za to je dobra osnovna zaščitena krme in/ali dodanega lanenega olja pred lipidno oksidacijo. Z raziskavo smo uspeli potrditi, da lahko z dodatkom lanenega olja kot vira n-3 VNMK povečamo njihovo vsebnost v jajcih in obenem zožimo razmerje med n-6 in n-3 na raven, ki je ugodna za zdravje. Na ta način lahko v prehrani potrošnikov povečamo vnos n-3 VNMK in vplivamo na preprečevanje oz. zmanjšanje pojave bolezni. Prav tako smo potrdili, da lahko z dodatkom vitamina E v krmo povečamo njegovo vsebnost v jajcih. Tako obogatena jajca predstavljajo tudi dober vir vitamina E za potrošnike.

7 VIRI

- ADA/DC. 2007. Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: dietary fatty acids. *Journal of American Dietetic Association*, 107, 12: 1599-1611
- Annunziata A., Vecchio R. 2011. Functional foods development in the european market: a consumer perspective. *Journal of Functional Foods*, 3, 3: 223-228
- Antruejo A., Azcona J. O., Garcia P. T., Gallinger C., Rosmini M., Ayerza R., Coates W., Perez C. D. 2014. N-3 enriched egg production: the effect of α -linolenic ω -3 fatty acid sources on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition. *British Poultry Science*, 52, 6: 750 - 760
- Arab-Tehrany E., Jacquot M., Gaiani C., Imran M., Desobry S., Linder M. 2012. Beneficial effects and oxidative stability of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Trends in Food Science & Technology*, 25, 1: 24-33
- Barceló-Coblijn G., Murphy E. J. 2009. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Progres in Lipid Research*, 48, 6: 355-374
- Bigliardi B., Galati F. 2013. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31, 118-129
- Birben E., Sahiner U. M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5, 1: 9–19
- Botsoglou E., Govaris A., Fletouris D., Iliadis S. 2012a. Olive leaves (*Olea europea* L.) and α -tocopheryl acetate as feed antioxidants for improving the oxidative stability of α -linolenic acid-enriched eggs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97, 4: 740–753
- Botsoglou E., Govaris A., Fletouris D., Botsoglou N. 2012b. Lipid oxidation of stored Eggs enriched with very long chain n_3 fatty acids, as affected by dietary olive leaves (*Olea europea* L.) or α -tocopheryl acetate supplementation. *Food Chemistry*, 134, 2: 1059–1068
- Botsoglou E. V., Govaris A. K., Ambrosiadis I. A., Fletouris D. J. 2012c. Olive leaves (*Olea europaea* L.) versus α -tocopheryl acetate as dietary supplements for enhancing the oxidative stability of eggs enriched with very-long-chain n-3 fatty acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 8: 2053–2060

- Brownawell A. M., Falk M. C. 2010. Cholesterol: where science and public health policy intersect. *Nutrition Reviews*, 68, 6: 355–364
- Calder P. 2012. N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 75, 3: 645–662
- Ceylan N., Ciftçi I., Mızrak C., Kahraman Z., Efil H. 2010. Influence of different dietary oil sources on performance and fatty acid profile of egg yolk in laying hens. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 20: 71–83
- Cherian G. 2008. Omega-3 fatty acids: studies in avians. V: Wild-type food in health promotion and disease prevention. De Meester F., Watson R. R. (eds.). Totowa, Humana Press Inc: 169-177
- Christaki E., Bonos E., Florou-Paneli P., 2011. Effect of dietary supplementation of olive leaves and/or α -tocopheryl acetate on performance and egg quality of laying Japanese quail (*Coturnix Japonica*). *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6, 12: 1241-1248
- Colombo M. L. 2010. An update on vitamin E, tocopherol and tocotrienol-perspectives. *Molecules*, 15, 4: 2103-2113
- Cortinas L., Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Grashorn M. A. 2003. Change in α -tocopherol contents, lipid oxidation and fatty acid profile in eggs enriched with linolenic acid or very long-chain ω 3 polyunsaturated fatty acids after different processing methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 8: 820-829
- Crowe K. M., Francis C. 2010. Position of the Academy of nutrition and dietetics: functional foods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 113, 8: 1096–1103
- Day L., Seymour R. B., Pitts K. F., Konczak I., Lundin L. 2009. Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 9: 388-395
- EFSA. 2009. Scientific opinion: Labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. Scientific Opinion of the Panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *EFSA Journal*, 7: 1176, doi: 10.2903/j.efsa.2009.1176: 11 str.
- El S. N., Karakaya S. 2009. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, 67, 11: 632–638

- Elmadfa I. 2009. Energy and nutrient intake in the european union based on national data. V: European nutrition and health report. Elmadfa (ed.). Vienna, Forum of Nutrition, Karger: 68-157
- FAO/WHO 2008. Interim summary of conclusions and dietary recommendations on total fat and fatty acids. From the joint FAO/WHO expert consultation on fats and fatty acids in human nutrition. Geneva, World health organisation: 14 str.
- Farrell D. 2013. How important is holesterol in eggs?. V: Poultry development review: the role of poultry in human nutrition. Rome, Food and Agriculture Organisation of United Nations: 8-9
- Fernandez M. L. 2010. Effects of eggs on plasma lipoproteins in healthy populations. Food and Function, 1, 2: 156–160
- Fidler Mis N., Kobe H., Štimec M. 2012. Dietary intake of macro- and micronutrients in slovenian adolescents: comparison with reference values. Annals of Nutrition and Metabolism, 61, 4: 305-313
- Flock M. R., Harris W. S., Kris-Etherton P. M. 2013. Long-chain n-3 fatty acids: time to establish a dietary reference intake. Nutrition Reviews, 7, 10: 692–707
- Fraeye I., Bruneel C., Lemahieu C., Buyse J., Muylaert K., Foubert I. 2012. Dietary enrichment of eggs with n-3 fatty acids: a review. Food Research International, 48, 2: 961- 969
- Frankič T., Salobir J. 2007. Antioksidanti v prehrani živali: pomen za živali in porabnike. V: Zbornik predavanja 16. posvetovanja o prehrani domačih živali "Zadravčevi – Erjavčevi dnevi", Radenci, 13. – 14. november 2008. Kapus S. (ur.). Murska Sobota, Kmetijsko gozdarski zavod: 27-40
- Fredman G., Serhan C. N. 2012. Specialized pro-resolving mediators: wiring the circuitry of effector immune and tissue homeostasis. Endodontic Topics, 24, 1: 39–58
- Galli C., Calder P. C. 2009. Effects of fat and fatty acid intake on inflammatory and immune responses: a critical review. Annual of Nutrition and Metabolism, 55, 1-3: 123–139
- Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Codony R., Ternest W. 2001a. Effect of dietary supplementation with rosemary extract and alpha-tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with n3-fatty acids. Poultry Science, 80, 4: 460-467

- Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Guardiola F., 2001b. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and canthaxanthin supplementation. *Poultry Science*, 80, 3: 327–337
- Golub N., Geba D., Mousa S. A., Williams G., Block R. C. 2011. Greasing the wheels of managing overweight and obesity with n-3 fatty acids. *Medical Hypotheses*, 77, 6: 1114–1120
- Halliwell B. 2011. Free radicals and antioxidants – quo vadis. *Trends in Pharmacological Sciences*, 32, 3: 125-130
- Hayes Y. E., Allen P., Brunton N., O’Grady M. N., Kerry J. P. 2011. Phenolic composition and *in vitro* antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract (*Olea europaea* L.), lutein, sesamol and ellagic acid. *Food Chemistry*, 126, 3: 948–955
- Im D. 2012. N-3 fatty acids in anti-inflammation (pro-resolution) and GPCRs. *Progress in Lipid Research* 51, 232–237
- ISSFAL. 2004. Report of the Sub-Committee on recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults. Brighton, International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids: 22 str.
<http://www.issfal.org/news-links/resources/publications/PUFAIntakeReccomdFinalReport.pdf> (20.05.2014)
- Jata-Emona. 2008. Specifikacija za kokošja jajca N plus (višja kakovost). Ljubljana, Jata Emona: 14 str.
http://www.jata-emona.si/specifikacija_n.pdf (20.5.2014)
- Jemai H., Bouaziz M., Fki I., El Fek A., Sayadi S. 2008. Hypolipidemic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. *Chemico-Biological Interactions*, 176, 2-3: 88–98
- Ji R., Xu Z., Strichartz G., Serhan C. N. 2011. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. *Trends in Neurosciences*, 34, 11: 599-609
- Jiang Q. 2014. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, 72: 76–90

- Kassis N. M., Beamer S. K., Matak K. E., Tou J. C., Jaczynski J. 2010. Nutritional composition of novel nutraceutical egg products developed with n-3-rich oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 8: 66–73
- Kim J., Li Y., Watkins B. A. 2013. Fat to treat fat: emerging relationship between dietary PUFA, endocannabinoids, and obesity. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 104-105: 32– 41
- Kobe H., Štimec M., Hlastan Ribič C., Fidler Mis N. 2011. Food intake in Slovenian adolescents and adherence to the optimized mixed diet: a nationally representative study. *Public Health Nutrition*, 15, 4: 600–608
- Leal V., Mafra D. 2013. Adipokines in obesity. *Clinica Chimica Acta*, 419: 87–94
- Lee O., Lee B. 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101, 10: 3751–3754
- Lupšina K. 2013. Vpliv oljčnih listov in pulpe na antioksidativni status kokoši in oksidativno stabilnost jajc. Mag. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 57 str.
- Mas E., Croft K. D., Zahra P., Barden A., Mori T. A. 2012. Resolvins D1, D2, and other mediators of self-limited resolution of inflammation in human blood following n-3 fatty acid supplementation. *Clinical Chemistry*, 58, 10: 1476–1484
- Milinsk M. C., Murakami A. E., Gomes S. T. M., Matsushita M., de Souza N. E. 2003. Fatty acid profile of egg yolk lipids from hens fed diets rich in n-3 fatty acids. *Food Chemistry*, 83, 2: 287–292
- Mine Y., Yang M. 2010. Functional properties of egg components in food systems. V: *Handbook of poultry science and technology. Vol. 2: secondary processing*. Guerrero Legarreta I. (ed.). Hoboken, John Wiley & Sons: 255-275
- Munro I. A., Garg M. L. 2013. Dietary supplementation with long chain n-3 polyunsaturated fatty acids and weight loss in obese adults. *Obesity Research & Clinical Practice*, 7, 3: 173—181
- NHMRC. 2005. Nutrient reference values for Australia and New Zealand including recommended dietary intakes. Canberra, National Health and Medical Research Council: 17 str.
https://www.nhmrc.gov.au/_files_nhmrc/publications/attachments/n35.pdf (20.05.20

- Park P. W., Goins R. E. 1994. *In situ* preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *Journal of Food Science*, 59, 6: 1262 -1266
- Petrovič M., Gačić M., Karačić V., Gottstein Ž., Mazija H., Medic H. 2012. Enrichment of eggs in n-3 polyunsaturated fatty acids by feeding hens with different amount of linseed oil in diet. *Food Chemistry*, 135, 3 :1563–1568
- Pham-Huy L. A., He L., Pham-Huy C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4, 2: 89-96
- Rajasekaran A., Kalaivani M. 2013. Designer foods and their benefits: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 50, 1: 1–16
- Ratnayake W. M. N., Galli C. 2009. Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 55, 1-3: 8-43
- Referenčne vrednosti za vnos hranil 2004. 1. izd. Ljubljana. Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 215 str.
- Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr 2008. 1. Aufl., 3., vollständig durchgesehener und korrigierter Nachdruck. Neustadt an der Weinstrasse, Umschau: 240 str.
- Ren Y., Perez T. L., Zuidhof M. J., Renema R. A., Wu J. 2013. Oxidative stability of n-3 polyunsaturated fatty acids enriched eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 47: 11595–11602
- Ren Y., Wu J., Renema R. 2010. Nutritional and health attributes of eggs. V: *Handbook of poultry science and technology*. Vol. 2: Primary processing. Guerreo- Legarreta I. (ed.). Hoboken, John Wiley & Sons: 535-631
- Reuter S., Gupta S. C., Chaturvedi M. M., Aggarwal B. B. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49, 11: 1603–1616
- Riediger N. D., Othman R. A., Suh M., Moghadasian M. H. 2009. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. *Journal of American Dietetic Association*, 109, 4: 668-679
- Rong Y., Chen L., Zhu T., Song Y., Yu M., Shan Z., Sands A., Hu F. B., Liu L. 2013. Egg consumption and risk of coronary heart disease and stroke: dose-response meta- analysis of prospective cohort studies. *BMJ*, 3, 346: e8539, doi: doi:10.1136/bmj.e8539: 1-13

Resolucija o nacionalnem programu prehranske politike. 2005. Uradni list Republike Slovenije, 15, 39: (19.4.2005), 3681-3719

Salobir J. 2011. Prehrana živali za zdravje živali, ljudi in okolja. V: Zbornik predavanj 20. mednarodno posvetovanje o prehrani domačih živali "Zadravčevi – Erjavčevi dnevi", Radenci, 10. – 11. november 2011. Čeh T. (ur.). Murska Sobota, Kmetijsko gozdarski zavod: 50-61

SAS Software. Version 9.3. 2012. Cary, SAS Institute Inc: Software

Scrafford C. G., Tran N. L., Barraj L. M., Mink P. J. 2010. Egg consumption and CHD and stroke mortality: a prospective study of US adults. *Public Health Nutrition*, 14, 2: 261–270

Serhan C., N., Chiang N., Van Dyke T., E. 2008. Resolving inflammation: dual antiinflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology*, 8, 5: 349-361

Seuss-Baum I. 2007. Nutritional evaluation of egg compounds. V: *Bioactive egg compounds*. Huopalahti R. (ed.). Berlin, Springer: 117-140

Shahryar H. A., Salamatdoust R., Chekani-Azar S., Ahadi F., Vahdatpoor T. 2010. Lipid oxidation in fresh and stored eggs enriched with dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids and vitamin E and A dosages. *African Journal of Biotechnology*, 9, 12: 1827-1832

Simčič M. Podgrajšek K. 2009. National reports: Slovenia. V: *European nutrition and health report*. Elmadfa I. (ed.). Vienna, Forum of Nutrition, Karger: 362-366

Simopoulos A. P. 2011. Evolutionary aspects of diet: the n-6/n-3 ratio and the brain. *Molecular Neurobiology*, 44, 2: 203–215

Siriwardhana N., Kalupahana N. S., Fletcher S., Xin W., Claycombe K. Y., Quignard Boulange A., Zhao L., Saxton A. M., Moustaid-Moussa N. 2012. N-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids differentially regulate adipose angiotensinogen and other inflammatory adipokines in part via NF- κ B-dependent mechanisms. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23, 12: 1661–1667

Siriwardhana N., Kalupahana N. S., Cekanova M., LeMieux M., Greer B., Moustaid-Moussa N. 2013. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24, 4: 613–623

Stanley J. 2010. Dietary cholesterol, blood cholesterol and cardiovascular disease. *Lipid Technology*, 22, 5: 110-112

- SURS 2014. Bilanca proizvodnje in porabe jajc (1000t), koledarsko leto, Slovenija, letno. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije: baza podatkov
http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/varval.asp?ma=1563502S&ti=&path=../Database/Okolje/15_kmetijstvo_ribistvo/12_prehranske_bilance/02_15635_koled_bilance/&lang=2 (20. 5. 2014)
- Uredba komisije (EU) št. 116/2010 z dne 9. februarja 2010 o spremembi Uredbe (ES) št. 1924/2006 Evropskega parlamenta in Sveta glede seznama prehranskih trditev. 2010. Uradni list Evropske unije, 53, L37: 16-18
- Uredba komisije (EU) št. 432/2012 z dne 16. maja 2012 o seznamu dovoljenih zdravstvenih trditev na živilih, razen trditev, ki se nanašajo na zmanjšanje tveganja za nastanek bolezni ter na razvoj in zdravje otrok. 2012. Uradni list Evropske unije, 55, L136: 4-11
- USDA. 2014. National nutrient database for standard reference. Washington, United States Department of Agriculture: baza podatkov
<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/112?fg=&man=&lfacet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=egg> (15. 6. 2014).
- Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Cronin M. T. D., Mazur M., Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 1: 44–84
- Verhagen H., Vos E., Francé S., Heinonen M., Loveren H. 2010. Status of nutrition and health claims in Europe. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501, 1: 6–15
- Wall R., Ross P., Fitzgerald G. F., Stanton C. 2010. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain n-3 fatty acids. *Wall Nutrition Reviews*, 68, 5: 280–289
- Weylandt K. H., Chiu C., Gomolka B., Waechter S. F., Wiedenmann B., 2012. N-3 fatty acids and their lipid mediators: towards an understanding of resolvin and protectin formation n-3 fatty acids and their resolvin/protectin mediators. *Prostaglandins and other Lipid Mediators*, 97, 3-4: 73– 82
- WHO/FAO. 2004. Egg consumption and risk of coronary heart disease and stroke: dose-response meta- analysis of prospective cohort studies.
- Woods W. B., Fearon A. M. 2009. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: a review. *Livestock Science*, 126, 1-3: 1–20

- Yalcin H., Kemal Unal M. 2010. The enrichment of hen eggs with n-3 fatty acids. *Journal of Medicinal Food*, 13, 3: 610–614
- Yang F., Ma M., Xu J., Yu X., Qiu N. 2012. An egg-enriched diet attenuates plasma lipids and mediates cholesterol metabolism of high-cholesterol fed rats. *Lipids*, 47, 3: 269-277
- Yannakopoulos A. L. 2007. Egg enrichment in omega-3 fatty acids. V: *Bioactive egg compounds*. Huopalahti R. (ed.). Berlin, Springer: 159-168
- Zampelas A. 2012. Still questioning the association between egg consumption and the risk of cardiovascular diseases. *Atherosclerosis*, 224, 2: 318-319
- Zduńczyk Z., Drazbo A., Jankowski J., Juśkiewicz J., Antoszkiewicz Z., Troszyńska A. 2013. The effect of dietary vitamin E and selenium supplements on the fatty acid profile and quality traits of eggs. *Archiv für Tierzucht*, 56, 72: 719-732

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem:

Mentorju prof. dr. Janezu Salobirju za izjemno strokoven, spoštljiv in korekten odnos tako do mene kot do mojega dela. Za vso ponujeno znanje, vložen čas in trud.

Somentorici asist. dr. Alenki Levart za pomoč pri izvajanju laboratorijskih analiz in strokoven pregled naloge. Zahvaljujem se za spoštovanje, prijaznost, usmerjanje, spodbujanje in motivacijo pri delu.

Recenzentki prof. dr. Heleni Abramovič za strokoven pregled in nasvete.

Univ. dipl. inž. Lini Burkan Makivič za tehnični pregled in pomoč pri urejanju magistrskega dela.

Gospo prof. Petri Rodman za lekturo.

Univerzi v Ljubljani, Biotehniški fakulteti, vsem profesorjem in osebju fakultete, ki so mi omogočili celotno izobraževanje.

Sendi Lešnjak, Radi Panič, Mateju Furlanu za vso podporo, nasvete, pomoč in za ves čas, ki ste mi stali ob strani. Hvala za malenkosti, ki so mi pomenile veliko več kot so to bile.

Posebno se zahvaljujem staršem. Iskrena hvala za vse. Zaradi vas sem to kar sem. Zaradi vas sem izpolnila svojo poklicno željo in pridobila naziv magistricе inženirke prehrane. Hvala, da ste mi omogočili vse to in še več, kar se z besedami ne da opisati.

PRILOGE

PRILOGA A: Rezultati določanja vsebnosti malondialdehida (MDA) v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki

MDA (nmol/g rumenjaka)					
Št. vzorca	Skupina	Sveži*	28 dni*	40 dni	Kuhani
17	K	1,11	1,06	2,57	0,97
20	K	1,09	0,94	1,76	1,76
59	K	1,24	1,35	1,72	1,47
60	K			1,62	2,74
90	K	0,88	0,81	1,45	1,68
6	VE	0,73	0,75	1,52	1,58
8	VE	1,10	1,09	0,96	0,57
37	VE	0,70	0,76	0,82	1,34
66	VE			1,11	0,80
68	VE	0,74	0,73	0,88	1,41
1	OL	2,52	1,12	1,41	4,39
3	OL	1,39	1,52	0,94	0,86
35	OL			1,28	4,47
62	OL	0,88	1,98	1,55	1,61
93	OL	1,36	1,01	0,58	0,49
14	OLE	1,10	1,05	3,03	2,95
15	OLE	0,79	0,72	2,54	1,17
45	OLE	0,93	0,82	1,26	2,24
48	OLE			1,27	3,83
73	OLE	1,33	1,30	1,22	1,38
10	PU	2,14	0,96	1,15	0,76
12	PU			2,02	2,69
42	PU	1,04	1,58	1,63	2,73
43	PU	1,30	1,34	1,89	2,79
78	PU	1,39	1,43	1,14	3,07
23	PUE	0,85	0,72	1,66	2,63
26	PUE	1,51	1,21	1,94	1,37
28	PUE	1,00	1,02	1,27	2,10
44	PUE			0,73	1,68
50	PUE	0,86	0,84	1,50	2,68

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčne pulpe

Sveži=sveži rumenjaki, 28 dni- 28 dni starani rumenjaki, 40 dni= 40 dni starani rumenjaki, Kuhani- kuhani rumenjaki

* Uporabljeni so rezultati magistrskega dela Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

PRILOGA B: Rezultati določanja v maščobah topnih antioksidantov (ACL) v v svežih, staranih 28 ali 40 dni in kuhanih jajčnih rumenjaki

ACL (nmol troloksa/g rumenjaka)				
Št. vzorca	Skupina	Sveži	40 dni	Kuhani
17	K	212	227	60,6
20	K	187	184	6,66
59	K	177	211	57,9
60	K	177	275	65,7
90	K	228	266	56,9
6	VE	662	700	154,8
8	VE	625	739	158,3
37	VE	642	906	252,5
66	VE	694	891	173,7
68	VE	679	999	188,9
1	OL	210	268	62,8
3	OL	254	302	63,4
35	OL	240	279	59,8
62	OL	189	261	89,6
93	OL	239	224	58,5
14	OLE	210	258	71,0
15	OLE	221	248	86,5
45	OLE	176	265	58,0
48	OLE	244	305	56,7
73	OLE	212	309	77,9
10	PU	211	289	67,7
12	PU	263	320	73,8
42	PU	194	282	50,6
43	PU	220	266	59,9
78	PU	191	287	54,7
23	PUE	213	271	36,0
26	PUE	297	245	51,3
28	PUE	171	284	6,85
44	PUE	204	277	6,93
50	PUE	238	309	67,8

K – skupina s kontrolno krmo, VE – skupina s krmo, obogateno s 150 IU vitamina E, OL – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčnih listov, OLE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnim dodatku 1 % oljčnih listov, PU – skupina s krmo, obogateno z 1 % oljčne pulpe, PUE – skupina s krmo, obogateno z ekstraktom ekvivalentnega dodatku 1 % oljčne pulpe

PRILOGA C: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v svežih jajčnih rumenjakih*

	Vsebnost MK (ut %)																													
Št. vzorca	C14:0	C14:1n5	C15:0	C16:0aiso	C16:0	C16:1	17:0aiso	C17:0	C17:1n7	C18:0	C18:1	C18:2n6	18:3n6	C19:0	C19:1n9	C18:3n3	C19t11CLA	C18:4n3	C20:0	C20:1n12	C20:1n9	C20:2n6	C20:3n6	C20:4n6	C20:3n3	C20:4n3	C20:5n3	C22:4n6	C22:5n3	C22_6n3
17	0,22	0,04	0,06	0,07	19,90	3,27	0,04	0,15	0,13	8,24	38,72	14,53	0,10	0,03	0,05	10,33	0,05	0,10	0,02	0,02	0,12	0,08	0,15	0,97	0,12	0,05	0,21	0,03	0,30	1,86
20	0,22	0,03	0,05	0,03	19,50	2,74	0,05	0,18	0,12	8,82	41,71	14,18	0,07	0,03	0,05	8,02	0,04	0,06	0,02	0,02	0,14	0,09	0,09	0,92	0,11	0,03	0,16	0,05	0,40	2,05
59	0,23	0,03	0,05	0,06	18,92	3,05	0,06	0,16	0,13	8,08	39,67	14,81	0,08	0,03	0,05	10,12	0,05	0,08	0,02	0,02	0,15	0,09	0,12	0,97	0,14	0,04	0,19	0,04	0,41	2,14
60	0,24	0,03	0,05	0,05	18,03	2,94	0,07	0,18	0,13	8,60	40,10	14,91	0,09	0,03	0,05	10,33	0,05	0,09	0,02	0,02	0,14	0,10	0,14	1,03	0,15	0,05	0,21	0,05	0,30	1,79
90	0,22	0,03	0,06	0,06	18,60	2,73	0,06	0,18	0,13	9,04	38,28	15,70	0,09	0,03	0,05	10,94	0,04	0,09	0,03	0,02	0,13	0,09	0,12	0,92	0,14	0,05	0,20	0,04	0,34	1,60
6	0,21	0,03	0,06	0,06	17,73	2,54	0,06	0,19	0,12	8,84	36,79	16,91	0,09	0,03	0,06	12,52	0,04	0,10	0,03	0,02	0,14	0,11	0,15	0,90	0,18	0,06	0,19	0,04	0,26	1,52
8	0,24	0,04	0,05	0,05	20,14	3,17	0,05	0,16	0,14	8,78	39,85	14,04	0,07	0,02	0,05	9,41	0,05	0,08	0,02	0,02	0,13	0,08	0,11	0,84	0,12	0,04	0,18	0,04	0,34	1,67
37	0,23	0,04	0,05	0,05	18,24	2,99	0,07	0,17	0,13	8,68	39,20	14,69	0,08	0,03	0,05	11,17	0,05	0,09	0,02	0,02	0,14	0,10	0,12	0,91	0,16	0,05	0,23	0,04	0,37	1,82
66	0,25	0,04	0,05	0,04	17,41	3,47	0,07	0,15	0,14	8,30	40,86	14,38	0,06	0,02	0,05	11,12	0,06	0,08	0,02	0,02	0,14	0,09	0,11	0,80	0,15	0,04	0,23	0,03	0,31	1,47
68	0,20	0,03	0,06	0,07	18,38	2,77	0,06	0,18	0,13	8,29	36,91	16,43	0,08	0,03	0,06	12,10	0,05	0,09	0,03	0,02	0,16	0,13	0,15	0,94	0,21	0,06	0,19	0,04	0,33	1,83
1	0,21	0,03	0,07	0,05	18,18	2,48	0,06	0,21	0,13	9,05	37,54	16,59	0,10	0,03	0,05	11,08	0,04	0,09	0,03	0,02	0,13	0,11	0,15	1,10	0,16	0,05	0,20	0,05	0,27	1,72
3	0,25	0,03	0,05	0,06	19,47	2,97	0,06	0,17	0,12	8,80	39,82	14,13	0,08	0,03	0,05	10,28	0,05	0,09	0,02	0,02	0,12	0,08	0,12	0,90	0,12	0,05	0,22	0,04	0,32	1,46
35	0,20	0,02	0,06	0,06	17,23	2,73	0,07	0,20	0,14	9,67	39,41	15,91	0,10	0,03	0,05	10,02	0,04	0,10	0,02	0,02	0,13	0,09	0,14	1,05	0,12	0,05	0,18	0,05	0,33	1,73
62	0,22	0,04	0,05	0,06	18,56	2,98	0,05	0,15	0,11	8,27	37,70	14,28	0,07	0,03	0,05	12,81	0,05	0,09	0,03	0,02	0,16	0,11	0,12	0,79	0,19	0,05	0,21	0,04	0,54	2,15
93	0,22	0,03	0,06	0,07	19,62	3,00	0,06	0,16	0,13	8,23	37,67	16,33	0,08	0,02	0,05	10,55	0,05	0,08	0,02	0,02	0,14	0,10	0,13	0,96	0,14	0,04	0,16	0,04	0,26	1,53
14	0,27	0,04	0,06	0,07	18,22	2,89	0,07	0,18	0,12	8,78	34,15	16,01	0,10	0,03	0,06	14,38	0,04	0,13	0,03	0,02	0,13	0,10	0,14	0,88	0,19	0,04	0,30	0,04	0,38	2,08
15	0,28	0,05	0,05	0,07	20,05	3,64	0,06	0,14	0,13	7,97	37,85	14,22	0,07	0,03	0,05	11,33	0,06	0,09	0,02	0,02	0,14	0,08	0,12	0,80	0,15	0,05	0,23	0,04	0,37	1,78
45	0,25	0,03	0,06	0,04	18,84	2,74	0,06	0,19	0,12	9,12	38,02	15,18	0,08	0,02	0,05	11,14	0,04	0,08	0,02	0,02	0,12	0,09	0,12	0,87	0,14	0,05	0,18	0,04	0,39	1,87
48	0,24	0,05	0,06	0,08	20,20	3,78	0,05	0,14	0,13	8,43	37,95	13,63	0,07	0,03	0,05	10,96	0,06	0,08	0,03	0,03	0,13	0,09	0,12	0,81	0,15	0,04	0,21	0,04	0,46	1,89
73	0,22	0,03	0,06	0,06	20,27	2,76	0,06	0,20	0,14	8,32	38,57	15,64	0,08	0,02	0,05	9,02	0,04	0,07	0,02	0,01	0,13	0,09	0,13	1,10	0,12	0,04	0,15	0,05	0,37	2,13
10	0,25	0,03	0,04	0,05	18,50	2,74	0,06	0,16	0,11	9,56	39,55	14,49	0,08	0,02	0,05	10,57	0,04	0,10	0,02	0,02	0,13	0,08	0,13	0,90	0,13	0,05	0,22	0,03	0,28	1,57
12	0,22	0,04	0,06	0,08	19,02	2,82	0,05	0,17	0,12	8,43	37,28	15,12	0,09	0,03	0,06	12,08	0,05	0,10	0,02	0,02	0,16	0,12	0,14	0,99	0,20	0,06	0,24	0,06	0,36	1,81
42	0,25	0,04	0,06	0,07	19,19	2,96	0,06	0,18	0,14	8,33	37,59	15,41	0,12	0,03	0,06	10,59	0,04	0,12	0,02	0,02	0,11	0,08	0,14	1,12	0,12	0,05	0,25	0,06	0,52	2,27
43	0,22	0,04	0,05	0,07	19,17	3,25	0,05	0,14	0,13	7,88	39,37	14,22	0,06	0,03	0,06	11,21	0,06	0,07	0,02	0,03	0,17	0,11	0,14	0,89	0,20	0,05	0,23	0,04	0,30	1,72
78	0,23	0,03	0,07	0,07	19,57	2,65	0,05	0,19	0,14	8,58	37,38	15,78	0,08	0,03	0,06	10,84	0,04	0,09	0,02	0,02	0,14	0,11	0,14	0,94	0,17	0,06	0,19	0,04	0,40	1,87
23	0,24	0,04	0,06	0,06	18,63	2,93	0,06	0,17	0,12	9,51	38,96	13,98	0,08	0,03	0,05	10,94	0,04	0,09	0,03	0,02	0,13	0,08	0,13	0,85	0,14	0,05	0,23	0,03	0,40	1,91
26	0,29	0,05	0,07	0,07	19,52	2,66	0,05	0,18	0,12	8,25	33,02	16,52	0,10	0,03	0,06	14,96	0,04	0,12	0,03	0,02	0,12	0,00	0,00	0,83	0,11	0,09	0,26	0,04	0,31	1,97
28	0,23	0,03	0,05	0,06	18,90	3,21	0,05	0,17	0,14	8,78	39,68	14,52	0,09	0,02	0,05	9,35	0,05	0,09	0,02	0,02	0,14	0,09	0,13	1,08	0,13	0,05	0,22	0,06	0,44	2,13
44	0,20	0,02	0,06	0,06	18,34	2,61	0,06	0,20	0,13	8,38	37,05	18,00	0,10	0,02	0,05	10,66	0,04	0,09	0,02	0,02	0,15	0,12	0,15	1,12	0,08	0,06	0,20	0,05	0,33	1,50
50	0,25	0,04	0,05	0,06	19,10	2,75	0,05	0,16	0,12	9,16	37,68	14,47	0,08	0,03	0,05	11,58	0,05	0,08	0,02	0,02	0,16	0,10	0,12	0,94	0,18	0,05	0,26	0,05	0,33	1,99

* Podatki so povzeti po magistrstskem delu Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

PRILOGA D: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v 28 dni staranih jajčnih rumenjakih*

	Vsebnost MK (ut %)																													
Št. vzorca	C14:0	C14:1n5	C15:0	C16:0aiso	C16:0	C16:1	17:0aiso	C17:0	C17:1n7	C18:0	C18:1	C18:2n6	18:3n6	C19:0	C19:1n9	C18:3n3	C19t11CLA	C18:4n3	C20:0	C20:1n12	C20:1n9	C20:2n6	C20:3n6	C20:4n6	C20:3n3	C20:4n3	C20:5n3	C22:4n6	C22:5n3	C22_6n3
17	0,21	0,04	0,06	0,07	19,85	3,17	0,04	0,16	0,13	8,19	39,07	14,92	0,10	0,03	0,05	9,78	0,05	0,10	0,02	0,02	0,12	0,08	0,15	1,02	0,11	0,05	0,19	0,04	0,29	1,87
20	0,21	0,02	0,05	0,03	19,55	2,63	0,06	0,19	0,12	9,13	41,48	14,59	0,07	0,02	0,04	7,69	0,04	0,06	0,02	0,02	0,13	0,09	0,10	0,94	0,10	0,03	0,15	0,05	0,39	1,99
59	0,23	0,03	0,05	0,05	18,91	3,01	0,06	0,16	0,12	8,18	39,58	14,90	0,07	0,02	0,05	10,11	0,05	0,08	0,02	0,02	0,14	0,09	0,12	0,97	0,14	0,04	0,19	0,04	0,41	2,12
60	0,24	0,04	0,05	0,05	17,99	2,95	0,06	0,17	0,13	8,69	40,23	14,31	0,08	0,03	0,05	10,84	0,05	0,10	0,02	0,02	0,14	0,10	0,13	0,96	0,15	0,05	0,24	0,04	0,31	1,78
90	0,21	0,03	0,06	0,06	18,38	2,68	0,07	0,20	0,13	9,12	39,03	15,77	0,09	0,03	0,05	10,26	0,04	0,09	0,02	0,02	0,12	0,09	0,12	0,95	0,13	0,04	0,19	0,05	0,35	1,61
6	0,22	0,04	0,06	0,06	18,21	2,71	0,06	0,18	0,12	8,75	37,13	16,13	0,08	0,03	0,06	12,43	0,05	0,09	0,03	0,02	0,14	0,11	0,14	0,85	0,18	0,06	0,20	0,04	0,26	1,53
8	0,24	0,04	0,05	0,05	19,76	3,12	0,06	0,17	0,13	8,71	39,62	14,56	0,08	0,02	0,05	9,56	0,05	0,08	0,02	0,02	0,12	0,08	0,11	0,85	0,12	0,04	0,17	0,04	0,35	1,69
37	0,23	0,04	0,05	0,04	18,38	2,98	0,07	0,17	0,14	8,61	39,42	14,79	0,08	0,03	0,05	10,74	0,05	0,10	0,02	0,02	0,14	0,10	0,12	0,94	0,15	0,05	0,22	0,04	0,36	1,83
66	0,25	0,04	0,05	0,04	17,58	3,53	0,07	0,15	0,14	8,28	41,58	14,12	0,06	0,02	0,05	10,49	0,06	0,08	0,02	0,02	0,14	0,09	0,11	0,81	0,14	0,04	0,22	0,03	0,30	1,43
68	0,20	0,03	0,06	0,06	18,52	2,80	0,06	0,18	0,13	8,24	37,27	16,36	0,08	0,03	0,05	11,68	0,05	0,09	0,02	0,02	0,16	0,13	0,14	0,97	0,20	0,06	0,19	0,04	0,31	1,83
1	0,21	0,03	0,07	0,05	18,57	2,47	0,06	0,21	0,12	9,11	37,79	16,58	0,09	0,03	0,05	10,41	0,04	0,08	0,02	0,02	0,13	0,10	0,15	1,12	0,14	0,05	0,19	0,05	0,27	1,73
3	0,25	0,04	0,05	0,05	19,85	3,01	0,06	0,16	0,13	8,82	40,37	13,71	0,09	0,03	0,05	9,76	0,05	0,09	0,02	0,02	0,12	0,07	0,11	0,87	0,11	0,05	0,23	0,04	0,33	1,45
35	0,21	0,03	0,05	0,05	17,27	2,83	0,07	0,19	0,13	9,58	39,60	15,30	0,10	0,03	0,05	10,49	0,04	0,11	0,03	0,02	0,13	0,09	0,14	0,98	0,13	0,05	0,19	0,04	0,34	1,69
62	0,22	0,04	0,05	0,05	18,57	3,04	0,05	0,15	0,12	8,25	38,16	14,02	0,07	0,03	0,05	12,63	0,05	0,09	0,03	0,02	0,15	0,10	0,12	0,77	0,18	0,05	0,21	0,03	0,53	2,11
93	0,22	0,04	0,06	0,06	19,61	2,99	0,07	0,16	0,13	8,22	37,64	16,15	0,09	0,03	0,05	10,89	0,05	0,09	0,01	0,02	0,13	0,09	0,13	0,90	0,14	0,05	0,16	0,04	0,27	1,47
14	0,27	0,04	0,07	0,07	18,15	2,83	0,07	0,18	0,12	9,14	33,38	16,76	0,10	0,03	0,06	14,12	0,04	0,13	0,03	0,02	0,15	0,12	0,15	0,95	0,20	0,08	0,31	0,04	0,36	2,02
15	0,29	0,05	0,05	0,06	20,21	3,70	0,06	0,14	0,13	7,92	38,33	14,07	0,07	0,03	0,05	10,82	0,05	0,09	0,02	0,03	0,14	0,08	0,12	0,81	0,14	0,05	0,24	0,03	0,39	1,80
45	0,26	0,04	0,06	0,04	18,88	2,79	0,06	0,17	0,12	9,29	38,58	14,31	0,07	0,02	0,05	11,33	0,04	0,08	0,02	0,02	0,12	0,08	0,11	0,78	0,15	0,05	0,20	0,03	0,41	1,82
48	0,24	0,05	0,06	0,07	20,29	3,71	0,05	0,14	0,12	8,34	38,11	13,86	0,07	0,03	0,05	10,60	0,06	0,08	0,02	0,03	0,13	0,09	0,12	0,85	0,15	0,04	0,21	0,03	0,45	1,93
73	0,24	0,03	0,06	0,06	20,07	3,00	0,06	0,17	0,11	8,30	38,34	14,71	0,08	0,02	0,05	10,39	0,04	0,08	0,02	0,02	0,12	0,08	0,13	0,95	0,13	0,04	0,19	0,04	0,40	2,04
10	0,24	0,03	0,04	0,05	18,51	2,70	0,06	0,17	0,13	9,65	40,00	14,56	0,08	0,02	0,05	9,96	0,04	0,09	0,02	0,02	0,13	0,08	0,13	0,93	0,12	0,05	0,22	0,03	0,28	1,56
12	0,22	0,04	0,06	0,07	19,17	2,84	0,05	0,17	0,12	8,29	37,26	15,20	0,09	0,03	0,06	11,98	0,05	0,10	0,02	0,02	0,16	0,11	0,13	1,01	0,20	0,06	0,24	0,05	0,35	1,82
42	0,23	0,03	0,05	0,06	18,89	2,81	0,07	0,19	0,12	8,43	38,29	15,77	0,12	0,03	0,05	10,04	0,04	0,11	0,02	0,02	0,10	0,08	0,14	1,16	0,11	0,05	0,23	0,05	0,48	2,20
43	0,21	0,04	0,05	0,05	18,98	3,25	0,05	0,14	0,13	7,93	39,32	14,09	0,06	0,03	0,05	11,64	0,06	0,08	0,02	0,03	0,16	0,11	0,13	0,84	0,21	0,05	0,24	0,03	0,29	1,69
78	0,22	0,03	0,07	0,06	19,39	2,47	0,05	0,20	0,13	8,77	37,02	16,05	0,09	0,03	0,05	10,90	0,04	0,09	0,02	0,02	0,14	0,12	0,14	0,97	0,17	0,06	0,20	0,05	0,40	2,02
23	0,23	0,03	0,06	0,05	18,14	2,86	0,07	0,17	0,12	9,50	38,29	14,63	0,09	0,03	0,05	11,41	0,04	0,10	0,03	0,02	0,13	0,08	0,13	0,87	0,15	0,05	0,23	0,04	0,41	1,96
26	0,27	0,04	0,07	0,06	19,15	2,54	0,05	0,19	0,12	8,27	33,18	16,99	0,10	0,03	0,06	14,62	0,04	0,12	0,02	0,02	0,12	0,11	0,16	0,86	0,21	0,08	0,25	0,03	0,30	1,92
28	0,22	0,03	0,05	0,06	18,62	3,28	0,06	0,18	0,18	8,61	39,77	14,61	0,09	0,03	0,05	9,53	0,05	0,09	0,02	0,02	0,14	0,09	0,13	1,06	0,12	0,05	0,22	0,06	0,45	2,11
44	0,19	0,02	0,06	0,06	18,07	2,63	0,07	0,20	0,13	8,34	37,39	17,77	0,10	0,02	0,05	10,87	0,04	0,10	0,02	0,02	0,15	0,12	0,16	1,13	0,16	0,06	0,19	0,05	0,34	1,47
50	0,25	0,04	0,05	0,06	19,11	2,81	0,05	0,17	0,13	8,89	37,31	14,83	0,08	0,03	0,05	11,76	0,05	0,08	0,02	0,02	0,16	0,11	0,13	0,94	0,18	0,05	0,25	0,05	0,32	2,00

* Podatki so povzeti po magistrstkem delu Karmen Lupšina (Lupšina, 2013)

PRILOGA E: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v 40 dni staranih jajčnih rumenjaki

	Vsebnost MK (ut %)																													
Št. vzorca	C14:0	C14:1n5	C15:0	C16:0aiso	C16:0	C16:1	17:0aiso	C17:0	C17:1n7	C18:0	C18:1	C18:2n6	18:3n6	C19:0	C19:1n9	C18:3n3	C19t11CLA	C18:4n3	C20:0	C20:1n12	C20:1n9	C20:2n6	C20:3n6	C20:4n6	C20:3n3	C20:4n3	C20:5n3	C22:4n6	C22:5n3	C22_6n3
17	0,21	0,04	0,06	0,07	19,82	3,16	0,05	0,16	0,15	8,17	38,69	15,13	0,09	0,03	0,04	10,08	0,05	0,11	0,02	0,02	0,12	0,08	0,15	1,01	0,11	0,05	0,19	0,03	0,28	1,83
20	0,21	0,02	0,05	0,03	19,66	2,68	0,06	0,18	0,11	9,04	41,09	14,29	0,06	0,02	0,04	8,42	0,04	0,07	0,02	0,02	0,13	0,09	0,09	0,88	0,11	0,03	0,16	0,05	0,40	1,93
59	0,23	0,03	0,05	0,05	19,02	3,06	0,06	0,15	0,12	8,17	39,59	14,80	0,06	0,02	0,02	10,22	0,05	0,08	0,02	0,02	0,14	0,09	0,12	0,95	0,13	0,04	0,19	0,04	0,41	2,08
60	0,25	0,04	0,05	0,05	18,13	3,01	0,06	0,16	0,14	8,70	40,62	13,92	0,06	0,02	0,02	10,81	0,05	0,10	0,02	0,01	0,14	0,09	0,13	0,92	0,15	0,05	0,24	0,03	0,30	1,72
90	0,22	0,03	0,05	0,05	18,56	2,72	0,07	0,18	0,12	9,11	39,04	15,39	0,07	0,02	0,04	10,53	0,04	0,09	0,02	0,02	0,12	0,09	0,12	0,92	0,13	0,04	0,19	0,04	0,35	1,61
6	0,23	0,03	0,06	0,07	18,43	2,75	0,06	0,17	0,13	8,63	36,89	16,33	0,06	0,01	0,02	12,43	0,04	0,09	0,02	0,02	0,14	0,11	0,14	0,85	0,18	0,06	0,19	0,04	0,25	1,51
8	0,24	0,03	0,05	0,05	19,84	3,11	0,06	0,17	0,14	8,72	39,53	14,60	0,06	0,02	0,04	9,64	0,04	0,08	0,02	0,02	0,12	0,08	0,11	0,84	0,12	0,04	0,17	0,04	0,35	1,65
37	0,23	0,04	0,05	0,04	18,51	3,00	0,07	0,17	0,13	8,56	39,05	14,86	0,06	0,03	0,00	11,05	0,05	0,09	0,02	0,02	0,14	0,10	0,12	0,92	0,15	0,05	0,22	0,04	0,37	1,82
66	0,26	0,04	0,05	0,04	17,77	3,57	0,07	0,14	0,14	8,27	41,45	13,98	0,05	0,02	0,02	10,66	0,06	0,08	0,02	0,02	0,13	0,09	0,11	0,78	0,14	0,04	0,23	0,03	0,30	1,40
68	0,21	0,03	0,06	0,06	18,67	2,79	0,06	0,19	0,14	8,21	37,55	16,44	0,06	0,03	0,02	11,29	0,04	0,09	0,02	0,02	0,16	0,13	0,14	0,99	0,19	0,05	0,18	0,04	0,30	1,80
1	0,21	0,02	0,07	0,05	18,73	2,46	0,06	0,21	0,12	9,10	37,78	16,65	0,08	0,02	0,02	10,34	0,03	0,09	0,02	0,01	0,13	0,11	0,14	1,12	0,14	0,05	0,18	0,05	0,26	1,71
3	0,25	0,03	0,05	0,05	19,85	3,03	0,06	0,16	0,13	8,77	40,41	13,63	0,06	0,03	0,05	9,91	0,04	0,09	0,02	0,02	0,12	0,07	0,11	0,86	0,11	0,05	0,22	0,04	0,33	1,43
35	0,21	0,03	0,06	0,05	17,49	2,89	0,07	0,18	0,15	9,52	39,44	15,16	0,07	0,03	0,03	10,72	0,04	0,11	0,02	0,00	0,13	0,09	0,13	0,96	0,13	0,05	0,19	0,04	0,33	1,66
62	0,22	0,04	0,05	0,05	18,61	3,06	0,06	0,14	0,12	8,22	38,42	13,94	0,05	0,01	0,00	12,56	0,05	0,09	0,02	0,02	0,15	0,10	0,11	0,77	0,18	0,05	0,21	0,03	0,53	2,10
93	0,25	0,04	0,05	0,05	19,88	3,04	0,06	0,16	0,11	8,44	40,08	14,20	0,06	0,02	0,04	9,93	0,04	0,08	0,02	0,02	0,13	0,08	0,12	0,86	0,12	0,04	0,19	0,04	0,28	1,55
14	0,25	0,04	0,07	0,06	17,87	2,87	0,07	0,18	0,13	9,03	33,94	16,94	0,09	0,03	0,02	13,88	0,04	0,13	0,02	0,02	0,15	0,12	0,16	0,97	0,20	0,07	0,29	0,05	0,34	1,96
15	0,28	0,05	0,05	0,07	20,15	3,65	0,06	0,15	0,13	7,90	38,31	14,33	0,06	0,03	0,04	10,75	0,05	0,09	0,02	0,02	0,14	0,09	0,12	0,82	0,14	0,05	0,23	0,04	0,38	1,78
45	0,27	0,04	0,05	0,04	19,10	2,86	0,06	0,17	0,12	9,26	39,18	13,95	0,05	0,00	0,00	11,05	0,04	0,08	0,02	0,01	0,11	0,08	0,11	0,76	0,14	0,05	0,20	0,03	0,41	1,76
48	0,24	0,05	0,06	0,06	20,29	3,71	0,05	0,14	0,12	8,34	37,84	13,98	0,06	0,02	0,04	10,80	0,05	0,09	0,02	0,02	0,13	0,09	0,12	0,85	0,15	0,04	0,21	0,03	0,44	1,90
73	0,24	0,03	0,05	0,06	20,14	3,12	0,06	0,16	0,14	8,38	38,97	13,84	0,05	0,02	0,04	10,60	0,04	0,08	0,02	0,01	0,12	0,08	0,12	0,86	0,13	0,04	0,20	0,03	0,38	1,94
10	0,24	0,03	0,04	0,05	18,51	2,71	0,07	0,17	0,10	9,56	40,02	14,55	0,06	0,02	0,04	10,14	0,04	0,10	0,02	0,02	0,13	0,08	0,13	0,92	0,12	0,05	0,21	0,03	0,27	1,54
12	0,23	0,02	0,03	0,04	19,34	2,89	0,03	0,17	0,15	8,36	37,38	15,20	0,04	0,01	0,00	11,91	0,02	0,11	0,01	0,01	0,16	0,11	0,14	1,01	0,19	0,03	0,24	0,03	0,35	1,81
42	0,24	0,03	0,05	0,05	19,17	2,94	0,07	0,18	0,14	8,34	38,51	15,28	0,10	0,02	0,04	10,07	0,04	0,11	0,02	0,02	0,10	0,08	0,14	1,14	0,11	0,05	0,23	0,05	0,49	2,15
43	0,22	0,04	0,05	0,06	19,22	3,29	0,05	0,14	0,13	7,96	39,20	14,05	0,05	0,01	0,00	11,68	0,06	0,08	0,02	0,02	0,15	0,10	0,13	0,82	0,20	0,05	0,24	0,03	0,29	1,66
78	0,23	0,03	0,07	0,06	19,60	2,47	0,06	0,20	0,13	8,85	37,45	15,92	0,07	0,03	0,04	10,37	0,04	0,09	0,02	0,01	0,14	0,12	0,14	0,98	0,16	0,05	0,19	0,05	0,40	2,00
23	0,23	0,03	0,06	0,06	18,24	2,90	0,07	0,17	0,12	9,48	38,32	14,68	0,07	0,03	0,02	11,33	0,04	0,10	0,02	0,02	0,12	0,09	0,13	0,86	0,14	0,05	0,22	0,03	0,42	1,92
26	0,28	0,04	0,07	0,06	19,29	2,62	0,05	0,18	0,14	8,24	33,33	16,82	0,08	0,00	0,00	14,62	0,03	0,12	0,02	0,01	0,13	0,10	0,16	0,84	0,20	0,08	0,25	0,03	0,30	1,90
28	0,23	0,03	0,05	0,05	18,88	3,32	0,06	0,17	0,12	8,65	39,79	14,40	0,07	0,02	0,00	9,66	0,04	0,09	0,02	0,01	0,13	0,08	0,13	1,02	0,12	0,05	0,22	0,05	0,45	2,07
44	0,20	0,02	0,06	0,06	18,32	2,64	0,07	0,20	0,13	8,39	37,48	17,62	0,08	0,00	0,00	10,81	0,03	0,09	0,02	0,01	0,14	0,11	0,16	1,11	0,15	0,06	0,19	0,05	0,33	1,44
50	0,28	0,05	0,05	0,05	19,83	3,26	0,05	0,16	0,14	8,32	37,63	14,59	0,06	0,01	0,02	11,36	0,05	0,09	0,02	0,01	0,15	0,09	0,12	0,87	0,16	0,05	0,23	0,04	0,35	1,89

PRILOGA F: Rezultati določanja maščobnokislinske sestave v kuhanih jajčnih rumenjaki

Vsebnost MK (ut %)																														
Št. vzorca	C14:0	C14:1n5	C15:0	C16:0aiso	C16:0	C16:1	17:0aiso	C17:0	C17:1n7	C18:0	C18:1	C18:2n6	18:3n6	C19:0	C19:1n9	C18:3n3	C19t11CLA	C18:4n3	C20:0	C20:1n12	C20:1n9	C20:2n6	C20:3n6	C20:4n6	C20:3n3	C20:4n3	C20:5n3	C22:4n6	C22:5n3	C22_6n3
17	0,23	0,05	0,05	0,07	20,04	3,55	0,04	0,14	0,13	8,14	38,92	13,94	0,07	0,03	0,05	10,55	0,06	0,10	0,02	0,02	0,12	0,08	0,14	0,90	0,12	0,05	0,21	0,03	0,29	1,82
20	0,25	0,04	0,05	0,05	19,19	2,97	0,06	0,16	0,13	8,20	39,03	14,64	0,06	0,02	0,05	11,32	0,05	0,10	0,02	0,02	0,13	0,09	0,11	0,90	0,14	0,05	0,25	0,04	0,32	1,53
59	0,24	0,04	0,05	0,06	18,98	3,10	0,06	0,15	0,12	8,11	39,46	14,66	0,05	0,02	0,05	10,39	0,05	0,08	0,02	0,01	0,14	0,09	0,12	0,95	0,14	0,04	0,19	0,04	0,41	2,14
60	0,23	0,03	0,05	0,06	18,31	2,93	0,06	0,17	0,14	8,48	38,80	15,25	0,06	0,03	0,05	11,23	0,05	0,09	0,02	0,02	0,15	0,12	0,14	0,97	0,18	0,05	0,20	0,04	0,30	1,76
90	0,23	0,03	0,05	0,06	18,97	2,96	0,06	0,16	0,13	8,87	38,02	14,78	0,06	0,03	0,05	11,73	0,04	0,09	0,02	0,02	0,13	0,09	0,12	0,85	0,15	0,05	0,21	0,04	0,34	1,59
6	0,20	0,02	0,06	0,06	17,62	2,38	0,07	0,21	0,12	9,07	36,38	18,17	0,08	0,03	0,05	11,70	0,03	0,10	0,02	0,01	0,14	0,13	0,16	1,01	0,17	0,06	0,16	0,05	0,24	1,48
8	0,26	0,05	0,05	0,05	20,61	3,46	0,05	0,14	0,12	8,74	40,55	12,78	0,05	0,02	0,05	9,39	0,05	0,08	0,02	0,02	0,13	0,08	0,11	0,77	0,12	0,04	0,19	0,04	0,35	1,63
37	0,23	0,04	0,05	0,05	18,34	3,05	0,06	0,16	0,14	8,67	39,68	14,21	0,05	0,03	0,05	11,08	0,05	0,09	0,02	0,02	0,15	0,10	0,11	0,89	0,16	0,05	0,23	0,04	0,37	1,83
66	0,26	0,04	0,05	0,04	17,33	3,50	0,07	0,15	0,14	8,18	40,67	14,54	0,04	0,02	0,05	11,39	0,06	0,08	0,02	0,02	0,14	0,09	0,12	0,81	0,16	0,05	0,22	0,03	0,29	1,43
68	0,23	0,03	0,05	0,06	18,32	2,93	0,06	0,17	0,13	8,47	38,77	15,24	0,06	0,02	0,05	11,23	0,05	0,09	0,02	0,01	0,15	0,12	0,14	0,97	0,18	0,05	0,20	0,04	0,30	1,76
1	0,21	0,02	0,07	0,05	18,19	2,49	0,06	0,21	0,13	8,91	37,49	17,19	0,08	0,03	0,05	10,70	0,03	0,09	0,02	0,01	0,13	0,11	0,15	1,14	0,15	0,05	0,18	0,05	0,25	1,70
3	0,25	0,03	0,05	0,05	19,40	3,04	0,06	0,16	0,13	8,79	40,59	13,82	0,07	0,03	0,05	9,96	0,05	0,08	0,02	0,02	0,13	0,08	0,11	0,89	0,12	0,04	0,21	0,04	0,30	1,43
35	0,20	0,02	0,06	0,06	17,37	2,74	0,07	0,20	0,15	9,77	39,37	15,73	0,08	0,03	0,05	10,06	0,04	0,10	0,02	0,01	0,13	0,10	0,14	1,08	0,12	0,05	0,17	0,05	0,31	1,69
62	0,22	0,04	0,05	0,05	18,67	3,04	0,05	0,14	0,11	8,34	38,33	13,81	0,05	0,03	0,05	12,52	0,05	0,09	0,02	0,02	0,15	0,10	0,12	0,77	0,18	0,05	0,21	0,03	0,52	2,08
93	0,22	0,03	0,06	0,07	19,64	2,99	0,06	0,16	0,12	8,25	37,81	16,34	0,07	0,02	0,05	10,39	0,04	0,08	0,02	0,01	0,14	0,10	0,13	0,99	0,14	0,04	0,15	0,04	0,24	1,54
14	0,25	0,04	0,05	0,07	19,99	3,11	0,05	0,15	0,13	8,76	38,60	14,22	0,06	0,03	0,05	10,75	0,05	0,09	0,02	0,02	0,13	0,09	0,13	0,85	0,14	0,05	0,21	0,04	0,29	1,57
15	0,23	0,03	0,06	0,06	20,55	2,80	0,06	0,19	0,12	8,46	38,63	15,01	0,06	0,02	0,05	9,30	0,04	0,07	0,02	0,02	0,12	0,09	0,13	1,07	0,12	0,04	0,15	0,04	0,36	2,07
45	0,25	0,03	0,06	0,04	18,90	2,80	0,06	0,19	0,13	9,06	38,36	14,86	0,05	0,02	0,05	11,11	0,04	0,08	0,02	0,01	0,12	0,09	0,12	0,86	0,15	0,04	0,18	0,04	0,39	1,86
48	0,23	0,04	0,06	0,07	19,69	3,55	0,06	0,15	0,13	8,41	37,69	14,52	0,06	0,03	0,05	11,04	0,05	0,09	0,02	0,02	0,13	0,10	0,12	0,90	0,15	0,04	0,20	0,04	0,43	1,88
73	0,26	0,04	0,05	0,06	19,52	2,81	0,05	0,16	0,12	9,26	38,07	13,98	0,06	0,03	0,05	10,99	0,05	0,08	0,02	0,02	0,15	0,10	0,13	0,98	0,16	0,05	0,27	0,05	0,35	2,05
10	0,24	0,03	0,05	0,05	18,41	2,72	0,06	0,17	0,13	9,58	39,18	14,73	0,06	0,02	0,05	10,70	0,04	0,10	0,02	0,02	0,13	0,09	0,13	0,91	0,14	0,05	0,21	0,04	0,28	1,60
12	0,22	0,04	0,06	0,08	18,90	2,82	0,05	0,17	0,12	8,43	36,58	15,45	0,07	0,03	0,05	12,56	0,04	0,11	0,02	0,02	0,16	0,12	0,14	1,00	0,21	0,06	0,24	0,06	0,34	1,83
42	0,20	0,02	0,06	0,06	17,77	2,38	0,07	0,21	0,14	9,06	36,31	18,14	0,07	0,03	0,05	11,68	0,03	0,09	0,02	0,01	0,14	0,12	0,16	1,00	0,17	0,06	0,16	0,05	0,23	1,46
43	0,21	0,04	0,05	0,06	18,99	3,12	0,05	0,15	0,12	7,94	38,71	14,92	0,05	0,03	0,05	11,44	0,05	0,08	0,02	0,02	0,17	0,12	0,15	0,93	0,21	0,05	0,21	0,04	0,28	1,69
78	0,24	0,03	0,07	0,07	19,92	2,61	0,05	0,19	0,11	8,61	36,84	15,85	0,07	0,03	0,05	10,93	0,04	0,09	0,02	0,02	0,14	0,11	0,15	0,95	0,17	0,06	0,19	0,04	0,35	1,94
23	0,26	0,04	0,06	0,07	19,23	3,05	0,06	0,17	0,13	8,35	37,14	15,06	0,09	0,03	0,05	11,31	0,04	0,12	0,02	0,01	0,11	0,09	0,14	1,06	0,14	0,06	0,26	0,05	0,52	2,27
26	0,28	0,04	0,07	0,07	19,39	2,61	0,05	0,18	0,11	8,37	32,98	16,47	0,08	0,03	0,06	14,93	0,04	0,11	0,02	0,02	0,12	0,10	0,16	0,85	0,22	0,08	0,25	0,03	0,30	1,92
28	0,27	0,05	0,05	0,08	21,68	3,51	0,05	0,14	0,13	7,94	38,04	13,69	0,06	0,03	0,05	10,68	0,05	0,09	0,02	0,02	0,13	0,09	0,12	0,79	0,15	0,00	0,20	0,03	0,30	1,54
44	0,25	0,04	0,05	0,05	19,16	2,97	0,05	0,16	0,14	8,18	39,03	14,64	0,06	0,02	0,05	11,35	0,05	0,10	0,02	0,02	0,13	0,09	0,11	0,90	0,15	0,05	0,25	0,04	0,32	1,54
50	0,25	0,04	0,05	0,06	19,05	2,99	0,06	0,16	0,11	9,61	39,43	13,26	0,06	0,03	0,05	10,74	0,04	0,09	0,02	0,02	0,12	0,08	0,13	0,81	0,14	0,05	0,23	0,03	0,41	1,84

PRILOGA G: Rezultati določanja α - in γ tokoferola v svežih jajčnih rumenjkih

Številka živali	γ -tokoferol mg/100 g	α -tokoferol mg/100 g
17	2,35	4,81
20	3,05	7,00
59	1,84	3,43
60	2,08	3,93
90	2,02	5,02
1	1,51	4,59
3	2,36	5,19
35	2,19	4,99
62	1,96	4,87
93	2,48	5,33
14	2,34	4,05
15	2,08	4,48
45	1,81	4,15
48	2,36	5,32
73	2,28	4,55
10	3,90	5,74
12	4,06	7,33
42	3,19	5,06
43	3,14	4,95
78	2,47	5,14
23	2,84	5,40
26	2,82	5,24
28	2,58	5,20
44	2,48	4,73
50	3,68	6,05
6	2,27	35,77
8	2,55	28,67
37	2,68	35,13
66	2,74	38,00
68	2,94	39,06