

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Špelca NAGODE

**VPLIV ZASLAJEVANJA AJDE NA VSEBNOST
FITINSKE KISLINE**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Špelca NAGODE

VPLIV ZASLAJEVANJA AJDE NA VSEBNOST FITINSKE KISLINE

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo

**EFFECT OF MALTING PROCESS ON PHYTIC ACID CONTENT OF
BUCKWHEAT**

M.SC. THESIS
Master Study Programmes: Food Food Science and Technology

Ljubljana, 2016

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študijskega programa 2. stopnje Živilstva.

Praktični del je bil opravljen na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Oddelka za živilstvo, Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje je za mentorja magistrskega dela imenovala doc. dr. Tomaža Požrla in za recenzentko doc. dr. Jasno Bertonec.

Mentor: doc. dr. Tomaž Požrl

Recenzentka: doc. dr. Jasna Bertonec

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Podpisana izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Špelca Nagode

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du2
DK	UDK 633.12:663.43:543.635(043)=163.6
KG	ajda/ ajdov slad/ zaslaževanje/ kaljenje/ fitinska kislina/ vsebnost vode
AV	NAGODE, Špelca, dipl. inž. živ. in preh. (UN)
SA	POŽRL, Tomaž (mentor)/BERTONCELJ, Jasna (recenzentka)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI	2016
IN	VPLIV ZASLAJEVANJA AJDE NA VSEBNOST FITINSKE KISLINE
TD	Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja Živilstvo)
OP	XI, 73 str., 11 pregl., 31 sl., 141 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Fitinska kislina (FK) je zaradi sposobnosti vezave z večvalentnimi kovinskimi ioni in beljakovinami poznana predvsem kot antinutritivna snov. Namen naloge je bil določiti vsebnost FK v dveh različnih sortah ajde (Pyra in Darja) ter v ajdovem sladu iz različnih faz procesa priprave ajdovega slada. Poskus smo izvedli v treh ponovitvah postopka priprave ajdovega slada. Kot parameter intenzitete kaljenja smo spremljali spremembe dolžine kalčkov kalečih ajdovih zrn. V predposkusu smo optimizirali metodo za določanje vsebnosti FK. Med poskusom smo določali vsebnost FK v neobdelanih vzorcih obeh sort ajde, v vzorcih po 8-urnem namakanju ter nadalje po 16-ih, 40-ih, 64-ih in 88-ih urah kaljenja. Po 88-ih urah kaljenja smo z dvema različnima režimoma sušenja zaključili postopek kaljenja. Vzorce smo sušili na dva načina: 22 ur na 60 °C oz. 18 ur na 80 °C. V obeh sortah ajde smo največjo povprečno vsebnost FK določili po 8-urnem namakanju (1,50 g FK/100 g SS Darja in 1,27 g FK/100 g SS Pyra) in po 16-ih urah kaljenja (1,49 g FK/100 g SS Darja in 1,21 g FK/100 g SS Pyra). Med procesom kaljenja se je vsebnost FK v obeh sortah ajde zmanjševala. Tudi proces sušenja je vplival na vsebnost FK, saj smo najmanjšo vsebnost FK določili v ajdovem sladu, sušenem na 60 °C (0,95 g FK/100 g SS Darja in 0,80 g FK/100 g SS Pyra). Vsebnost FK med sortama se je razlikovala v vseh fazah priprave ajdovega slada, saj smo v povprečju v ajdi sorte Pyra določili od 18 % do 30 % večje vsebnosti FK.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Du2
DC UDC 633.12:663.43:543.635(043)=163.6
CX buckwheat/ buckwheat malt/ malting/ germinating/ phytic acid/ water content
AU NAGODE, Špelca
AA POŽRL, Tomaž (supervisor)/ BERTONCELJ, Jasna (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2016
TY EFFECT OF MALTING PROCESS ON PHYTIC ACID CONTENT OF BUCKWHEAT
DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes: Field Food Science and Technology)
NO XI, 73 p., 11 tab., 31 fig, 141 ref.
LA sl
Al sl/en
AB Phytic acid (PA) is considered as anti-nutrient due to its ability to interact with multivalent metal ions and proteins. The aim of the thesis was to determine the content of PA in two different cultivars of common buckwheat Pyra and Darja as well as in buckwheat malt from various buckwheat malt preparation steps. We repeated the experiment of buckwheat malt preparation three times. As a germinating intensity parameter we observed the length of germinating sprouts. In pretest the method for PA content determination was optimised, more attention was given especially to the time of sample extraction. During the experiment we made analyses of PA content of both cultivars of buckwheat in untreated buckwheat grains, after 8 hours of soaking and further in samples after 16 hours, 40 hours, 64 hours and 88 hours of malting process. After 88 hours of germination the buckwheat malt was divided into two halves of each variety. The first half was kilned at 60 °C for 22 hours, and the other half at 80 °C for 18 hours. Against our expectations the highest average value of PA was measured in samples after steeping stage (1.50 g PA/100 g DM Darja and 1.27 g PA/100 g DM Pyra) and after 16 hours of germination (1.49 g PA/100 g DM Darja and 1.21 g PA/100 g DM Pyra). During malting process PA content was decreasing in both cultivars. PA content was also decreased by kilning stage, the lowest content of PA was determined after kilning stage in samples dried at 60 °C (0.95 g PA/100 g DM Darja and 0.80 g PA/100 g DM Pyra). Cultivar Pyra has in average from 18 % to 30 % higher content of PA than cultivar Darja, which was indicated in every phase throughout the preparation of buckwheat malt.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XI
1 UVOD	1
1.1 NAMEN NALOGE	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 AJDA	3
2.1.1 Izvor in razširjenost ajde	3
2.1.2 Splošno o ajdi	3
2.1.3 Značilnosti in sestava ajdovega zrna.....	4
2.1.3.1 Beljakovine	6
2.1.3.2 Ogljikovi hidrati.....	7
2.1.3.3 Maščobe	8
2.1.3.4 Prehranska vlaknina	10
2.1.3.5 Vitamini	11
2.1.3.6 Mineralne snovi	12
2.1.4 Sestavine ajde s pozitivnim vplivom na zdravje	13
2.2 FITINSKA KISLINA (FK)	15
2.2.1 Sinteza in viri fitinske kisline	16
2.2.2 Prehranske lastnosti fitinske kisline.....	18
2.2.3 Vpliv fitinske kisline na izkoristljivost mineralov	19
2.2.4 Interakcije fitinske kisline z beljakovinami.....	21
2.2.5 Vpliv fitinske kisline na encime	22
2.2.6 Metode za zmanjševanje vsebnosti fitinske kisline.....	22
2.2.6.1 Fitaze.....	22

2.2.6.2 Tehnološki postopki za zmanjševanje vsebnosti fitinske kisline.....	23
2.2.7 Metode za določanje fitinske kisline.....	25
2.3 PROIZVODNJA AJDOVEGA SLADA	28
2.3.1 Encimi med kaljenjem.....	28
3 MATERIAL IN METODE	32
3.1 MATERIAL.....	32
3.2 METODE DELA	32
3.2.1 Namakanje vzorcev.....	34
3.2.2 Kaljenje vzorcev.....	34
3.2.3 Sušenje ajdovega slada	35
3.2.4 Vzorčenje ajde oz. slada med kaljenjem.....	36
3.2.4.1 Časovna razporeditev vzorčenja	36
3.2.4.2 Vzorčenje	37
3.2.5 Priprava (homogenizacija) vzorca za nadaljnje analize	37
3.2.5.1 Homogenizacija – mletje	37
3.2.6 Kemijske analize	38
3.2.6.1 Določanje vsebnosti vode	38
3.2.6.2 Določanje fitinske kisline	39
3.2.6.2.1 Priprava umeritvene krivulje.....	40
3.2.7 Vizualno spremljanje kaljivosti.....	41
3.2.8 Statistična analiza	41
4 REZULTATI.....	42
4.1 VSEBNOST VODE V AJDI IN AJDOVEM SLADU	42
4.2 DOLŽINA KALČKOV	46
4.3 VSEBNOST FITINSKE KISLINE	49
4.3.1 Predposkus	49
4.3.2 Glavni poskus - določanje vsebnosti fitinske kisline.....	50
5 RAZPRAVA.....	56
5.1 VSEBNOST VODE V AJDI IN AJDOVEM SLADU	56

5.2 DOLŽINA KALČKOV AJDOVEGA SLADA	57
5.3 VSEBNOST FITINSKE KISLINE V AJDOVEM SLADU	58
6 SKLEPI	61
7 POVZETEK	62
8 VIRI	64

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Pridelava ajde (v tonah) v Sloveniji v letih 2012-2014 (SURs, 2015)	3
Preglednica 2: Aminokislinska sestava beljakovin navadne in tatarske ajde (g/100 g beljakovin) (Bonafaccia in sod., 2002).....	7
Preglednica 3: Primerjava deležev maščobnih kislin (m.k.) v navadni in tatarski ajdi (Bonafaccia in sod., 2002).....	9
Preglednica 4: Vsebnost maščobe v posameznih delih ajdovega zrna (Pomeranz, 1983)	9
Preglednica 5: Vsebnost skupne, netopne in topne prehranske vlaknine v posameznih delih ajdovega zrna (Dziedzic in sod., 2012)	11
Preglednica 6: Vsebnost posameznih vitaminov v ajdi (Giménez-Bastida in sod., 2015)..	11
Preglednica 7: Vsebnost vitaminov B1, B2, B3 v različnih frakcijah navadne in tatarske ajde (Bonafaccia in sod., 2003)	12
Preglednica 8: Vsebnost mineralov v zrnu navadne in tatarske ajde (Orožen in sod., 2012)	13
Preglednica 9: Vsebnost fitinske kisline (FK) v nekaterih žitih in semenih (Egli in sod., 2002).....	17
Preglednica 10: Vsebnost fitinske kisline (FK) v različnih žitnih izdelkih (Lásztity R. in Lásztity L., 1990)	17
Preglednica 11: Podatki za pripravo posameznih raztopin FeCl ₃	49

KAZALO SLIK

Slika 1: Navadna ajda: neoluščeno seme (levo) in oluščeno seme (desno) (Semenarna Ljubljana, 2013)	5
Slika 2: Tatarska ajda: neoluščeno seme (levo) in oluščeno seme (desno) (Semenarna Ljubljana, 2013)	5
Slika 3: Škrobna zrna nativnega škroba ajde (Wenhao in sod., 2014).	8
Slika 4: Struktura fitinske kisline (FK) (Coulibaly in sod., 2011)	15
Slika 5: Struktura fitinske kisline (FK) s prikazanimi različnimi možnostmi povezave s kovinskimi kationi (minerali) in beljakovinami (Coulibaly in sod., 2011)	16
Slika 6: Shema poskusa	33
Slika 7: Vzorci ajde, pripravljeni za kaljenje	35
Slika 8: Sušenje ajdovega slada.....	36
Slika 9: Zamrzovanje in mletje vzorcev	38
Slika 10: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti FK	41
Slika 11: Merjenje dolžine kalčka	41
Slika 12: Vsebnost vode (g/100 g) med poskusom priprave ajdovega slada pri sorti Darja	42
Slika 13: Vsebnost vode (g/100 g) med poskusom priprave ajdovega slada pri sorti Pyra	43
Slika 14: Prikaz povprečnih vsebnosti vode (g/100 g) obeh sort ajde med poskusom priprave ajdovega slada	43
Slika 15: Vsebnost vode (g/100 g) v ajdovem sladu sorte Darja po sušenju	44
Slika 16: Vsebnost vode (g/100 g) v ajdovem sladu sorte Pyra po sušenju	45
Slika 17: Povprečne vsebnosti vode (g/100 g) v ajdovem sladu sorte Pyra in Darja po sušenju	45

Slika 18: Povprečna dolžina kalčkov (cm) med kaljenjem za obe sorti ajde	46
Slika 19: Ajdova zrna po 24-ih urah od začetka poskusa.....	47
Slika 20: Prvi opaženi kalčki po 48-ih urah od začetka poskusa.....	47
Slika 21: Ajdov slad po 72-ih urah od začetka poskusa	48
Slika 22: Ajdov slad po 96-ih urah od začetka poskusa (poleg kalčkov vidna tudi plesen)	48
Slika 23: Vsebnost FK v ajdi sorte Darja pri različnih časih ekstrakcije	50
Slika 24: Vsebnost FK (g/100 g SS) v ajdi sorte Darja tekom celotnega poskusa.....	51
Slika 25: Vsebnost FK (g/100 g SS) v ajdi sorte Pyra tekom celotnega poskusa	51
Slika 26: Primerjava povprečnih vsebnosti FK (g/100 g SS) v obeh sortah ajde tekom poskusa	52
Slika 27: Vsebnost FK (g/100 g SS) v posušenem ajdovem sladju sorte Darja.....	53
Slika 28: Vsebnost FK(g/100 g SS) v posušenem ajdovem sladju sorte Pyra	53
Slika 29: Povprečne vsebnosti FK v posušenem ajdovem sladju obeh sort ajde pri obeh temperaturah sušenja	54
Slika 30: Relativna sprememba vsebnosti FK v ajdi sorte Darja glede na vsebnost v surovi ajdi	55
Slika 31: Relativna sprememba vsebnosti FK v ajdi sorte Pyra glede na vsebnost v surovi ajdi	55

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

B1	tiamin
B2	riboflavin
B3	niacin
B6	piridoksin
C16:0	palmitinska kislina
C18:0	stearinska kislina
C18:1	oleinska kislina
C18:2	linolna kislina
C18:3	linolenska kislina
C20:0	arahidonska kislina
C22:0	behenjska kislina
C24:0	lignocerična kislina
FK	fitinska kislina
IP5	mio-inozitol pentaosfat
IP6	mio-inozitol heksaosfat
m.k.	maščobna kislina
SS	suha snov

1 UVOD

Zaradi mnogih pozitivnih učinkov postaja ajda med ozaveščenimi potrošniki dandanes vse bolj priljubljena kot živilo v vsakdanji prehrani. Predvsem je zanimiva tudi za ljudi obolenimi za celiakijo, saj ne vsebuje za bolnike nevarnega glutena, vse več je tudi raziskav na področju ajdovega slada, kot surovine za izdelovanje brezglutenskega piva. Zaradi nezahtevnosti pri pridelovanju je ajda primerna tudi za ekološko pridelavo. V preteklosti je bila ajda oz. njena produkta kot sta ajdova kaša in ajdova moka, poznana predvsem kot hrana kmetov in revnih ljudi. Dišeča ajdova polja so bila odlična paša za čebele, nabrana medicina pa je bila pomembna za prezimitev in boljše zdravstveno stanje čebel. Na pomen opravevanja, medovitosti in promocije ajde se sklicujejo tudi današnji čebelarji, ki se zavzemajo za večjo pridelavo ajde v Sloveniji (Kozmus in sod., 2011).

Na območju Slovenije je bila navadna ajda prvič omenjena leta 1426 v Gornjegrajskem urbarju. V 18. in 19. stoletju so jo kmetje sejali na približno 30.000 ha, z leti pa je proizvodnja ajde upadala. Med vzroki za zmanjšan obseg pridelave ajde velja omeniti večji pridelek pšenice za prehrano ljudi in bolj intenzivna reja živine, kar je pomenilo povečanje zemljišč zlasti za krmna žita in krmne dosevke (Kreft, 1995).

Med evropskimi državami največ ajde pridelajo na Poljskem, kjer imajo z ajdo posejanih cca 75.000 ha, sledi Francija z 31.000 ha, Litva s 27.000 ha, Latvija z 8.800 ha, kot peta po vrsti je Slovenija s posejanimi 1.300 ha (FAOSTAT, 2014).

Poleg vseh pozitivnih lastnosti in izjemno ugodne hranilne sestave pa ajda vsebuje tudi antinutritivno snov – fitinsko kislino (FK). Zaradi sposobnosti vezave z večvalentnimi kovinskimi ioni in beljakovinami je FK po večini poznana kot antinutritivna snov, saj zmanjšuje absorpcijo mineralov. Omeniti pa velja, da ima tudi vrsto pozitivnih, a manj poznanih, vplivov na zdravje, kot so npr. velik antioksidacijski potencial, sposobnost zniževanja ravni serumskega holesterola, preprečuje nastajanje ledvičnih kamnov, upočasnjuje dvigovanje nivoja glukoze v krvi...

1.1 NAMEN NALOGE

V našem poskusu nas je predvsem zanimalo kako postopek namakanja, kaljenja in sušenja (slajenje) vpliva na vsebnost FK v ajdi oz. ajdovem sladu v posamezni fazi poskusa. Namen naloge je bil določiti vsebnost FK v dveh različnih sortah ajde ter v ajdovem sladu iz različnih faz procesa priprave ajdovega slada.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevamo:

- da bo vsebnost FK v različnih sortah ajde različna,
- da se bo vsebnost FK med procesom zaslajevanja spreminjala in
- da bo vsebnost FK v ajdovem sladu manjša kot v nekaljeni ajdi.

2 PREGLED OBJAV

2.1 AJDA

2.1.1 Izvor in razširjenost ajde

Ajda izvira iz centralne Azije, iz kitajske province Yunan, od tu pa se je razširila južno iz Himalaje v Butan, Nepal, Indijo in Pakistan. Predvsem japonski izseljenci so ajdo prenesli v Severno in Južno Ameriko, južno Afriko in Avstralijo. V Srednjo Evropo se je v 14. in 15. stoletju ajda verjetno razširila preko Sibirije in Rusije (Kreft, 1995).

Po svetu so poznane tri vrste ajde: navadna ajda (*Fagopyrum esculentum* Moench), tatarska ajda (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) in divja ajda (*Fagopyrum cymosum*). Z ekonomskega vidika je navadna ajda najbolj dobičkonosna, zato tudi predstavlja približno 90 % svetovne pridelave ajde (Wijngaard in sod., 2005a).

Navadna ajda se uporablja in uspeva predvsem v Evropi, ZDA, Kanadi, Braziliji, Južni Afriki, Avstraliji in v večini azijskih državah kot so Japonska, Koreja ter v centralnem in severnem delu Kitajske (Bonafaccia in sod., 2002). Tatarska ajda se uporablja in uspeva v gorskih regijah JZ Kitajske. V severni Indiji, v Butanu in Nepalju sta poznani obe vrsti ajde, čeprav v predelih z ostrejšimi klimatskimi pogoji uspeva predvsem tatarska ajda (Lin in sod., 1992).

2.1.2 Splošno o ajdi

Navadno in tatarsko ajdo uvrščamo v rod *Fagopyrum* in družino *Polygonaceae* – dresnovke. Kljub temu, da je ajda dvokaličnica in botanično ne spada med trave tako kot večina ostalih žit, ki so enokaličnice, jo zaradi podobnega načina pridelave in predelave pogosto uvrščamo med žita (Kreft, 1999).

V Sloveniji in ostalih državah Srednje Evrope je ajda poleg pšenice pomembna poljščina, ki je primerna tako za ekološko kot intenzivno pridelavo. Pomemben izdelek predstavlja ajdova moka in mlevski izdelki. V Sloveniji, Italiji in Avstriji so ajdovi izdelki poznani kot tradicionalna živila. Poleg mlevskih izdelkov se iz ajde pridobiva tudi ajdov med (Nagai in sod., 2001), zeleni ajdov čaj, ajdove kalčke, sveži deli rastline pa se lahko uporabljajo kot zelenjava v vsakdanji prehrani (Kreft, 1995).

Preglednica 1: Pridelava ajde (v tonah) v Sloveniji v letih 2012-2014 (SURSTAT, 2015)

Leto	2012	2013	2014
Pridelana količina (ton)	2.681	2.104	2.558

Nedavno se je ajda izkazala kot alternativna poljščina za ekološko pridelavo pa tudi kot sestavina pri proizvodnji funkcionalnih živil. Poznana je predvsem kot žito brez vsebnosti glutena. Vse bolj se poudarja tudi vsebnost topne in netopne prehranske vlaknine, vsebnost rezistentnega škroba, antioksidantov (rutin), nenasičenih maščobnih kislin (m.k.) in vsebnost mineralov (Phiarais in sod., 2010). Med drugim vsebuje tudi esencialne aminokisline in vitamine. Iz prehranskega vidika imajo beljakovine prisotne v ajdi visoko prehransko vrednost, saj vsebujejo precej lizina in arginina ter ostalih esencialnih aminokislin. Zaradi omenjenih lastnosti, velike vsebnosti prehranske vlaknine in velike vsebnosti retrogradiranega škroba, ajdo uvrščamo med funkcionalna živila (Nikolić in sod., 2011). Poleg omenjenega pa postaja ajda vse bolj priljubljena kot surovina pri pridelavi piva, predvsem odkar je vse več zanimanja tudi za brezglutenska piva (Phiarais in sod., 2010).

2.1.3 Značilnosti in sestava ajdovega zrna

Ajdovo zrno je orešček. Testo, endosperm in kalček ovija zunanja zaščitna luska. V sredini zrna se nahajajo kalček in dva klična lista. Klična lista sta velika in zvita v notranjosti semena, včasih tik pod lusko. Zunanja plast celic endosperma je enojna alevronska plast, debela od 10 do 15 μm . Nad alevronsko plastjo se nahaja tanka testa, v kateri so nakopičeni tanini in klorofil. Prav po barvi teste se lahko ugotovi, če je ajda sveža. Sveža ajda ima namreč površino oluščene zrna nežno svetlozelene barve, pri stari ajdi pa je motne rdečkastorjave barve. Pri dalj časa skladiščeni ajdi tanini zaradi reakcije s kisikom postanejo rdečkastorjavi in prekrijejo zelenkasto barvo klorofila. Med testo in lusko je včasih prazen prostor, kjer se ob neprimernih pogojih skladiščenja razvijejo plesni. Debelina luske je pri različnih vrstah ajde različna, sestavljena je večinoma iz vlaknine, vsebuje pa tudi nekaj tanina. Luska je del semena, ki je gensko identičen materini rastlini, zato imajo vsa semena iz iste rastline približno enko obliko in barvo, ne glede na to s pelodom katere rastline so bili cvetovi oplojeni. Oblika, velikost in barva zrna so odvisne od vrste in tipa ajde. Po obliki so zrna največkrat triroba (včasih se najde tudi kakšno štiri-ali večrobo zrno), dolga od 4 do 7 mm in široka od 3 do 4,5 mm. Robovi so lahko krilati, krilca na robovih so koničasta ali zaokrožena. Tatarska ajda ima poudarjene, zaokrožene in nekrilate robove. Ploskve zrn so ravne, rahlo zaokrožene in gladke. Ajdova zrna so lahko sive barve (ko zrno dozori in se posuši), srebrnkasto svetlosive, sive s pegami, rjave, temnorjave ali črne barve. V primeru, da so zrna prehitro, prisilno dozorela, so svetlorjave barve (Kreft, 1995). Na sliki 1 so vidna oluščena in neoluščena zrna navadne in tatarske ajde.

Sestava ajdovega zrna je odvisna od sorte in rastišča. V celem ajdovem zrnu je v 100 g približno 10 g vode, 60 do 70 g škroba, 10 do 12 g beljakovin, 5 do 8 g prehranske vlaknine, 2 g maščob, približno 2 g mineralnih snovi, približno 1 g FK ter nekaj polifenolov, vitaminov in drugih snovi (Kreft, 1999).

Ajdova moka vsebuje na 100 g 75 g škroba, 6 g beljakovin, 1 g maščob, 1 g pepela, 1 g topnih ogljikovih hidratov, 3 g skupne prehranske vlaknine in 13 g ostalih komponent. Otrobi pa na 100 g vsebujejo 18 g škroba, 36 g beljakovin, 11 g maščob, 6 g topnih ogljikovih hidratov, 15 g skupne prehranske vlaknine, 7 g pepela in 7 g ostalih komponent. Luska je bogat vir prehranske vlaknine (Steadman in sod., 2001). V kalčku in kličnih listih se nahajajo predvsem beljakovine ter nekaj prehranske vlaknine in maščob. V endospermu je predvsem škrob. V zunanjih plasteh zrna, tik pod lusko, je večina mineralnih snovi in flavonoidov zrna. V luski pa se nahaja predvsem vlaknina (Kreft, 1995).

Alevronska plast je zunanji del endosperma, ki je običajno sestavljen iz ene plasti celic, izjemoma tudi iz dveh do treh. Alevronske celice imajo debele stene in so sorazmerno pravilno kockaste do kvadrataste oblike. V primerjavi z notranjimi endospermскими celicami se v alevronski plasti poleg FK nalagajo beljakovine, med katerimi prevladujejo albumini in globulini, prisotni so tudi minerali (kalij, magnezij, kalcijeve soli, itn.) ter maščobe, ne najdemo pa škroba. V alevronski plasti se oblikujejo encimi, ki imajo pomembno vlogo v procesu kaljenja (Tajnšek, 1988).



Slika 1: Navadna ajda: neoluščeno seme (levo) in oluščeno seme (desno) (Semenarna Ljubljana, 2013)



Slika 2: Tatarska ajda: neoluščeno seme (levo) in oluščeno seme (desno) (Semenarna Ljubljana, 2013)

2.1.3.1 Beljakovine

Glavna razlika med beljakovinami pšenične moke in ajdove moke je, da je ajdova moka bistveno bogatejša z albumini in globulini, vsebuje pa zelo malo prolamina in glutelina (Aubrecht in Biacs, 2001). Vsebnost beljakovin v ajdovi moki se giblje med 8,5 g in 18,9 g/100 g, odvisno od vrste ajde in pogojev med rastjo ter od uporabe pesticidov in količine gnojenja. Skoraj polovico vseh ajdovih beljakovin predstavljajo v vodi in v raztopinah soli topni albumini in globulini (Christa in Soral-Šmietana, 2008). Glavna skladiščna beljakovina v ajdovem zrnju je 13S globulin (Li in Zhang, 2001).

Ajda v primerjavi z ostalimi žiti vsebuje več arginina (Arg) ter lizina (Lys), kar se odraža v visoki biološki vrednosti ajdovih beljakovin saj njihova aminokislinska sestava zelo ustreza našim potrebam po aminokislinah. Poleg Lys vpliva na večjo biološko vrednost tudi precejšnja vsebnost treonina (Thr), triptofana (Trp) in aminokislin z žveplom, saj so njihove vsebnosti večje v primerjavi z ostalimi žiti (Eggum, 1980; Ikeda in sod., 1990). Iz preglednice 2 je razvidna aminokislinska sestava dveh frakcij navadne in tatarske ajde. Bonafaccia in sod. (2002) so v študiji analizirali aminokislinsko sestavo otrobov in moke tatarske in navadne ajde. Prišli so do podobnih ugotovitev kot njihovi predhodniki, in sicer, da se aminokislinska sestava med vrstama ajde bistveno ne razlikuje. V preglednici 2 je prikazana aminokislinska sestava otrobov in moke obeh vrst ajde.

Christa in Soral-Šmietana (2008) sta ugotovila, da beljakovine ajde s preprečevanjem proliferacije celic zmanjšujejo možnost nastanka črevesnega raka in z nižanjem nivoja serumskega estradiola preprečujejo nastanek raka dojk. Tomotake in sod. (2000, 2001) so dokazali, da ajdovi beljakovinski pripravki učinkoviteje preprečujejo nastanek žolčnih kamnov kot sojini beljakovinski izolati. Opravljenih je bilo tudi več študij v katerih so ugotovili, da so ajdovi beljakovinski ekstrakti primerni za prehransko dopolnilo pri preprečevanju hipertenzije, debelosti, alkoholizma in tudi zaprtosti (Kato in sod., 2001; Tomotake in sod., 2002).

Preglednica 2: Aminokislinska sestava beljakovin navadne in tatarske ajde (g/100 g beljakovin) (Bonafaccia in sod., 2002)

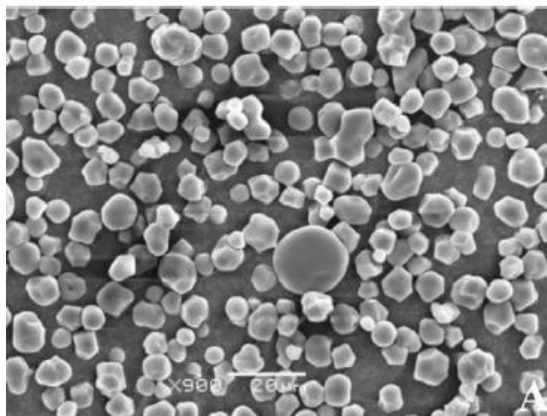
Aminokislina	Navadna ajda		Tatarska ajda	
	luska	moka	luska	moka
Alanin	4,35	4,63	4,31	4,69
Arginin	10,50	9,91	11,00	9,63
Asparaginska kislina	10,30	10,20	10,10	10,30
Cistein	2,06	2,73	2,61	2,66
Glutaminska kislina	18,80	17,60	18,4	17,10
Glicin	6,11	6,09	6,01	5,92
Histidin	2,66	2,47	2,73	2,62
Izolevcin	3,77	3,93	3,96	4,23
Levcin	6,51	6,92	6,35	7,11
Lizin	5,47	5,84	5,88	6,18
Metionin	1,09	1,41	1,33	1,42
Fenilalanin	4,54	4,62	4,46	4,71
Prolin	4,04	4,45	4,08	4,52
Serin	5,17	5,02	5,20	5,19
Treonin	3,55	3,71	3,47	3,72
Tirozin	2,71	2,70	2,85	2,87
Valin	5,13	5,23	5,19	5,19

2.1.3.2 Ogljikovi hidrati

Največji del ogljikovih hidratov v ajdi predstavlja škrob. V ajdovem zrnju se nahaja predvsem v endospermu. Med procesom kaljenja se škrob hidrolizira do enostavnih sladkorjev, ki se porabljajo kot energija med rastjo rastline (Krkoškova in Mrazova, 2005). Vsebnost škroba v ajdovem zrnju se giblje med 59 in 70 g/100 g (Qian in Kuhn, 1999).

Molekula škroba je sestavljena iz dveh podenot, amiloze in amilopektina. Amiloza je nerazvejana, linearna veriga glukoznih enot, povezanih z $\alpha(1,4)$ glikozidnimi vezmi. Molekula amilopektina je sestavljena iz glavne verige, ki je zgrajena iz glukoznih enot, povezanih z $\alpha(1,4)$ glikozidnimi vezmi in iz stranskih verig, ki so z $\alpha(1,6)$ glikozidnimi vezmi povezane z glavno verigo (Boyer, 2005). Ajdov škrob vsebuje približno 25 % amiloze in 75 % amilopektina (Quin in sod., 2010). Stopnja polimerizacije škroba variira od 12 do 45 glukoznih enot. Škrobna zrna so okroglo-ovalne poligonalne oblike, velikosti od 2 do 15 μm (slika 3) (Campbell, 1997; Zhu, 2016). Ajdova škrobna zrna so manjša v primerjavi s škrobnimi zrnji krompirja (12,2 μm), tapioke (18 μm) in krompirja (30,5 μm) (Mishra in Rai, 2006). Podobno kot vsi ostali škrobi je tudi ajdov škrob uporaben tako v živilski kot neživilski industriji. Uporablja se kot zgoščevalno, želirno in vezivno sredstvo, sestavina filmov... Zaradi pomanjkljivih lastnosti nativnega škroba kot so netopnost v

hladni vodi, toplotna labilnost, občutljivost na strižne sile,... se v sodobni industriji vse pogosteje uporabljajo modificirani škrobi. Modifikacija škroba poteka s kemijskimi, fizikalnimi ali biokemijskimi postopki. Pred-želatiniziran škrob je ena izmed najpogosteje uporabljenih oblik modificiranega škroba v živilski industriji (Majzoobi in sod., 2011).



Slika 3: Škrobna zrna nativnega škroba ajde (Wenhao in sod., 2014).

Odvisno od stopnje hidrolize se škrob deli na hitro prebavljivi škrob (prebavi se v 20 min), počasi prebavljivi škrob (prebavlja se od 20 min do 120 min) in rezistentni škrob (je neprebavljiv). Rezistentni škrob se ne absorbira v tankem črevesu, razgradi se s pomočjo simbiotskih bakterij v debelem črevesu. Omenjeni škrob, oligosaharidi in polisaharidi, ki se v našem organizmu s pomočjo človeških encimov ne razgradijo, se klasificirajo v skupino prehranske vlaknine. V surovem, nekuhanem ajdovem zrnju je prisotnega od 33 do 38 % rezistentnega škroba, po kuhanju pa ga ostane le še 7 do 10 % (Christa in Soral-Šmietana, 2008).

Ajdovo zrno vsebuje tudi od 0,7 do 0,8 g reducirajočih sladkorjev/100 g, od 0,8 do 1,2 g oligosaharidov/100 g in od 0,1 do 0,2 g ne-škrobnih polisaharidov/100 g (Mazza, 1993). Topni ogljikovi hidrati se nahajajo predvsem v kalčku. Ne-škrobni polisaharidi, kot so celuloza in ne-celulozni polisaharidi pa se nahajajo predvsem v delih zrna s tanjšo celično steno kot sta npr. alevronska plast in luska (Steadman in sod., 2001).

2.1.3.3 Maščobe

Kljub temu, da maščobe v žitih in psevdožitih predstavljajo manjši delež v sestavi, imajo pomembno fiziološko vlogo. Odvisno od sorte, ajda vsebuje med 1,5 in 4 g maščob/100 g, v ajdovi moki pa se nahaja okrog 3 g maščob/100 g (Steadman in sod., 2001). Iz preglednice 3 so razvidni deleži posameznih maščobnih kislin (m.k.) glede na skupne maščobe v navadni in tatarski ajdi. Prosti lipidi predstavljajo 2,5 g/100 g, vezani lipidi pa predstavljajo okrog 1,3 g/100 g (Christa in Soral-Šmietana, 2008).

Preglednica 3: Primerjava deležev maščobnih kislin (m.k.) v navadni in tatarski ajdi (Bonafaccia in sod., 2002).

Maščobna kislina	Delež posamezne maščobne kisline(%)	
	Navadna ajda	Tatarska ajda
Palmitinska (C16:0)	15,6	19,7
Stearinska (C18:0)	2,0	3,3
Oleinska (C18:1)	37,0	35,2
Linolna (C18:2)	39,0	36,6
Linolenska (C18:3)	1,0	0,7
Arahidonska (C20:0)	1,8	1,8
Eikozanojska (C20:1)	2,3	2,0
Behenojska (C22:0)	1,1	0,8
Nasičene m.k.	20,5	25,3
Nenasičene m.k.	79,3	74,5
Nasičene/nenasičene m.k.	3,9	2,9

Največ maščob se nahaja v kalčku (od 7 do 14 g/100 g) najmanj pa v plevi (od 0,4 do 0,9 g/100 g) (Bonafaccia in sod., 2003). Vsebnost maščobe v posameznih delih ajdovega zrna je razvidna iz preglednice 4. Oluščena zrna ajde v povprečju vsebujejo od 2,1 do 2,6 g/100 g maščob, od tega je od 81 do 85 % nevtralnih maščob, 8 do 11 % fosfolipidov in 3 do 5 % glikolipidov (Mazza, 1993).

Preglednica 4: Vsebnost maščobe v posameznih delih ajdovega zrna (Pomeranz, 1983)

Del zrna	Vsebnost maščob (g/100 g)
perikarp	0,3 - 0,9
testa	1,6 - 2,5
endosperm	0,2 - 0,6
kalček	6,4 - 13,6

Najpomembnejše frakcije maščob so trigliceridi, ki vsebujejo m.k. z 12 do 22 C atomi. Prevladujejo oleinska (C18:1), linolna (C18:2) in m.k. (C16:0) (Soral-Šmietana in sod., 1984). V zrnu se nahaja od 16 do 20 različnih nenasičenih m.k., od tega predstavlja m.k. (C18:1) od 30 do 45 % ter linolna m.k. (C18:2) od 31 do 41 %. Palmitinska (C16:0), oleinska (C18:1), linolenska (C18:3) in linolna (C18:2) m.k. predstavljajo kar 95 % vseh m.k. v ajdi (Pomeranz, 1983). Poleg že omenjenih m.k. se v ajdovem zrnu nahajajo še stearinska (C18:0), arahidonska (C20:0) in behenojska (C22:0) m.k.. Običajno se v vseh žitih nahajajo m.k. s 16 do 18 C atomi v verigi, m.k. z daljšo verigo, ki v ajdovem zrnu v povprečju predstavljajo 8 % skupnih m.k., pa so v ostalih žitih prisotne v majhnih količinah ali pa jih sploh ni (Mazza, 1993).

2.1.3.4 Prehranska vlaknina

Trowell in sod. so leta 1976 predlagali definicijo prehranske vlaknine, ki se nanaša na rastlinske polisaharide in lignin, ki se nahajajo v celičnih stenah in jih človek s svojimi prebavnimi encimi ne more prebaviti, prebavijo jih šele mikroorganizmi v debelem črevesu. K vlaknini spada tudi rezistentni škrob in rezistentne beljakovine. Vlaknina skozi tanko črevo prehaja skoraj neprebavljena, bakterijska razgradnja se začne šele v debelem črevesu.

V Pravilniku o spremembah Pravilnika o označevanju hranilne vrednosti živil (2009) skladno z Direktivo Komisije 2008/100/ES (2008) o spremembi Direktive Sveta 90/496/EGS (1990) je podana naslednja opredelitev snovi, ki predstavljajo prehransko vlaknino: Prehranska vlaknina so polimeri ogljikovih hidratov s tremi ali več monomernimi enotami, ki se ne prebavijo niti absorbirajo v tankem črevesu človeka in spadajo v naslednje kategorije: - užitni polimeri ogljikovih hidratov, naravno prisotni v živilih v obliki, v kateri se zaužijejo, - užitni polimeri ogljikovih hidratov, ki so bili pridobljeni iz surovine za živilo s fizikalnimi, encimskimi ali kemijskimi sredstvi in, ki imajo ugoden fiziološki učinek, dokazan s splošno sprejetim znanstvenim dokazom, - užitni sintetični polimeri ogljikovih hidratov, ki imajo ugoden fiziološki učinek, dokazan s splošno sprejetim znanstvenim dokazom.

Prehranska vlaknina je pomembna za uravnoteženo prebavo, vpliva tudi na presnovo glukoze in maščob ter na ravnotežje mikroelementov. Z omenjenimi lastnostmi v veliki meri pomaga pri preprečevanju pojavnosti sladkorne bolezni, debelosti, bolezni srca in ožilja ter pri preprečevanju raka debelega črevesa. Vlaknina vpliva na koncentracijo glukoze v krvi in posledično na izločanje inzulina. S povečano viskoznostjo vsebine tankega črevesa deluje na počasnejšo prebavo in absorpcijo ogljikovih hidratov v tankem črevesu. Povečanje koncentracije glukoze v krvi po zaužitju obroka bogatega s prehransko vlaknino ni tako veliko, kar je s stališča presnove zelo ugodno, saj se s tem možnost za nastanek inzulinske rezistence zmanjšuje. Inzulinska rezistenca je povezana tudi s pojavom srčno žilnih bolezni (Salobir J. in Salobir B., 2001). S pozitivnim vplivom na koncentracijo lipidov v krvi prehranska vlaknina zmanjšuje tudi nevarnost razvoja koronarne srčne bolezni. Učinek temelji na dejstvu, da topna prehranska vlaknina znižuje raven skupnega in LDL holesterola, s čimer izboljšuje razmerje med LDL/HDL holesterolom (Savaiano in Story, 2000).

V preglednici 5 so prikazane vsebnosti netopne, topne in skupne prehranske vlaknine v posameznih delih ajdovega zrna. Največ prehranske vlaknine se nahaja v plevi zrna (81,55 g/100 g vzorca), kjer večji del (90,67 %) predstavlja netopna prehranska vlaknina. Vsebnost skupne prehranske vlaknine, določene v luski ajdovega zrna (22,5 g/100 g), je primerljiva z vsebnostjo v luski pšeničnega zrna (Dziedzic in sod., 2012). Lee in sod.

(1992) so ugotovili, da luski pšeničnega oz. ovsenega zrna vsebujeta več topne prehranske vlaknine. V luski pšeničnega zrna so določili 4,3 g/100 g topne prehranske vlaknine, v luski ovsenega zrna 7,2 g/100 g, luska ajdovega zrna pa vsebuje 1,46 g/100 g topne prehranske vlaknine. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Bonafaccia in sod. (2002). V ajdovem zrnu so določili 26 g skupne prehranske vlaknine/100 g, od tega ajdovo zrno vsebuje največ netopne prehranske vlaknine (24,4 g/100 g).

Preglednica 5: Vsebnost skupne, netopne in topne prehranske vlaknine v posameznih delih ajdovega zrna (Dziedzic in sod., 2012)

Del zrna	Skupna prehranska vlaknina (g/100 g)	Netopna prehranska vlaknina (g/100 g)	Topna prehranska vlaknina (g/100 g)
celotno zrno	28,09 ± 0,73	26,67 ± 0,67	1,42 ± 0,06
pleva	91,18 ± 0,61	90,67 ± 0,55	0,51 ± 0,11
luska	22,45 ± 0,45	20,99 ± 0,49	1,46 ± 0,05

2.1.3.5 Vitamini

V primerjavi z večino ostalih žit, ajdovo zrno vsebuje večje koncentracije vitamina B1 (tiamin), B2 (riboflavin), B3 (niacin) ter vitamina E (tokoferol) (Becker, 1994). Iz preglednice 6 je razvidna vsebnost posameznih vitaminov v ajdi.

Preglednica 6: Vsebnost posameznih vitaminov v ajdi (Giménez-Bastida in sod., 2015)

Vitamini	Vsebnost (mg/100 g)
B1 (tiamin)	0,22 - 0,33
B2 (riboflavin)	1,06
B3 (niacin)	1,8
B5 (pantotenska kislina)	1,1
B6 (piridoksin)	0,15
C (askorbinska kislina)	0,01

V primerjavi z belo pšenično moko vsebuje ajdova moka bistveno več vitaminov B1, B2, B3 in vitamina B7 (piridoksin). Skupna vsebnost vitaminov skupine B je večja v tatarski kot v navadni ajdi, medtem ko je vsebnost vitamina E večja v navadni ajdi (Bonafaccia in sod., 2003). Porazdelitev vitaminov skupine B v različnih frakcijah ajde je razvidna iz preglednice 7.

Preglednica 7: Vsebnost vitaminov B1, B2, B3 v različnih frakcijah navadne in tatarske ajde (Bonafaccia in sod., 2003)

Navadna ajda			
Frakcija ajde	vitamin B1 (mg/100 g)	vitamin B2 (mg/100 g)	vitamin B6 (mg/100 g)
zrno	0,22±0,06	0,10±0,03	0,17±0,04
otrobi	0,31±0,08	0,21±0,03	0,58±0,06
moka	0,28±0,02	0,14± 0,05	0,15±0,04
Tatarska ajda			
Frakcija ajde	vitamin B1 (mg/100 g)	vitamin B2 (mg/100 g)	vitamin B6 (mg/100 g)
zrno	0,41±0,04	0,12±0,02	0,25±0,03
otrobi	0,61±0,08	0,32±0,04	0,61± 0,06
moka	0,40±0,07	0,28±0,02	0,18± 0,03

2.1.3.6 Mineralne snovi

Žitna zrna so bogat vir mineralov. Minerale in vitamine vsebujejo predvsem perikarp, kalček in alevronska plast, zato predvsem rafinirani žitni izdelki v primerjavi s celotnim zrnem vsebujejo manjše vsebnosti mineralnih snovi. V primerjavi z ostalimi žiti (pšenica, sirek, riž, proso...) je ajda najbogatejši vir mineralov, če izključimo kalcij. Vsebnost mineralov se zaradi različnih dejavnikov med vzorci znotraj vrste razlikuje. Vsebnosti posameznih mineralov so odvisne od analizne metode, od genetike rastline, največji vpliv pa ima letina in mineralna sestava tal na katerih rastlina raste. V celotnem ajdovem zrnju se nahaja od 2,0 do 2,5 g mineralov/100 g, v jedru zrna od 1,8 do 2,0 g/100 g, v zrnju brez pleve od 2,2 do 3,5 g/100 g, v moki okrog 0,9 g/100 g ter v plevi od 3,4 do 4,2 g mineralov/100 g (Li in Zhang, 2001).

Ajda vsebuje precej kalija, magnezija, kalcija in natrija. Makroelementi fosfor, kalij in magnezij se v vseh mlevskih frakcijah nahajajo v koncentracijah višjih od 100 mg/kg SS. Omenjeni makroelementi se večinoma nahajajo le v luski (Steadman in sod., 2001). Predvsem fosfor, kalij in magnezij se v zrnju nahajajo v obliki fitata. V zrelih zrnih se fitati nahajajo v alevronski plasti in v kalčku. Ajda je tudi odličen vir mikroelementov železa, mangana in cinka. Vsebuje tudi elemente v sledovih, kot sta krom in selen (Steadman in sod., 2001; Stibilj in sod., 2004). Vsebuje tudi cink, ki ga naš organizem nujno potrebuje, saj brez njega ne morejo delovati nekateri encimi, nujno pa je potreben tudi za nemoteno uravnavanje delovanja naših genov. Z dnevnim uživanjem 100 g navadne ajde bi lahko pokrili polovico dnevnih potreb po železu in bakru, medtem ko bi s 100 g dnevno zaužite tatarske ajde pokrili polovico dnevnih potreb po magneziju in 40 % priporočene dnevne vrednosti železa. Pri omenjenih pokritih potrebah je potrebno upoštevati, da imajo elementi zaradi vsebnosti oz. vezave na FK zmanjšano biološko dostopnost za absorpcijo (Hunt,

2003; Orožen in sod., 2012). 50 g luske tatarske ajde vsebuje 50 % minimalnega priporočenega dnevnega vnosa cinka in kroma, vendar samo 5 % priporočenega dnevnega vnosa selena (Bonafaccia in sod., 2003). V preglednici 8 so prikazane vsebnost mineralov v zrnu navadne in tatarske ajde.

Preglednica 8: Vsebnost mineralov v zrnu navadne in tatarske ajde (Orožen in sod., 2012)

Elementi		Vsebnost (µg/g)	
		navadna ajda	tatarska ajda
makroel.	fosfor	315±28	263±14
	žveplo	170±33	326±32
	kalij	1182±102	1356±94
	kalcij	233±16	440±37
mikroel.	krom	16±1,6	10,8±1,3
	mangan	9,52±0,57	10,9±1,3
	železo	56,6±3,2	52,6±5,2
	nikelj	6,46±0,32	3,9±0,12
	baker	4,24±0,37	2,69±0,27
	cink	15,7±1,0	17,6±2,3
el. v sledovih	titan	4,48±0,35	2,73±0,66
	brom	1,16±0,04	0,39±0,05
	svinec	1,45±0,12	0,83±0,17

Bonafaccia in sod. (2003) so analizirali vsebnost mineralov v različnih mlevskih frakcijah navadne in tatarske ajde. Ugotovili so, da je v luski vsebnost selena, cinka, kobalta, niklja in rubidija veliko večja v primerjavi z vsebnostjo v moki. Ob primerjanju vsebnosti omenjenih elementov v sledovih v rafinirani moki navadne ajde in tatarske ajde so ugotovili, da vsebuje moka tatarske ajde manjšo vsebnost elementov v sledovih.

2.1.4 Sestavine ajde s pozitivnim vplivom na zdravje

Ajda poleg že omenjenih sestavin vsebuje še druge skupine snovi, ki blagodejno vplivajo na zdravje: fenolne spojine (flavonoide, tanine in druge), fitosterole, fagopirine... Vsebnost in sestava omenjenih snovi je odvisna od vrste ajde in pogojev med rastjo. Običajno je vsebnost flavonoidov v tatarski ajdi okrog 40 mg/g, medtem ko je vsebnost flavonoidov v navadni ajdi okrog 10 mg/g (Li in Zhang, 2001; Chao in sod., 2002). Flavonoidi so spojine iz skupine naravnih antioksidantov. Izmed vseh izoliranih flavonoidov v ajdovem zrnu je bila določena največja vsebnost rutina (Kreft in sod., 1999). Kitabayashi in sod. (1995) poročajo, da se vsebnost rutina v ajdovem zrnu giblje od 12 do 36 mg/100 g SS. V luski zrna se nahajajo rutin, kvercetin, orientin, viteksin, isoviteksin in isoorientin (Christa in Soral-Smietana, 2008).

Predvsem tatarska ajda je poznana po visoki vsebnosti rutina in ostalih fenolnih spojin. Zrna tatarske ajde vsebujejo več rutina (0,8 do 1,7 g/100 g SS) v primerjavi z zrnji navadne ajde (0,1 g/100 g SS) (Fabjan in sod., 2003). V ajdovem zrnju se sicer v manjših količinah nahajajo tudi rastlinski steroli (fitosteroli), ki imajo pozitiven vpliv na nivo holesterola v krvi. Najmanj 70 % vseh sterolov predstavlja beta sitosterol, ki se nahaja v endospermu in v kalčku (Krkoškova in Mrazova, 2005). Določene so bile tudi nizke vrednosti fagopirina. Fagopirin se lahko uporablja pri zdravljenju sladkorne bolezni tipa II (Horbowicz in Obendorf, 2005). Poznan pa je tudi kot fototoksična spojina, ki pri ljudeh in živalih povzroča fagopirizem. Pri omenjenem pojavu se, ob uživanju velikih koncentracij fagopirina, na neporaščenih predelih kože, ki so izpostavljeni dnevni svetlobi, pojavljajo vnetja (rdečica, otekline). Fagopirin je v vodi slabo topna spojina, zato uživanje ajdovih izdelkov (kot so čaji) ni nevarno za človeka. Nevarne koncentracije za človeka bi predstavljalo uživanje cele rastline v obliki kuhane zelenjave. V ajdovih izdelkih, ki jih običajno uživamo pa so vsebnosti fagopirina veliko manjše in nenevarne za človeka (Tavčar Benković in Kreft, 2015).

S prehranskega vidika je ajda zanimiva tudi zaradi zelo nizke vsebnosti prolamina. Prav zaradi omenjenega dejstva je ajda oz. ajdova moka primerna v prehrani bolnikov s celiakijo (Christa in Soral-Smietana, 2008).

Préstamo in sod. (2003) so na poskusih s podganami proučevali vpliv uživanja ajdovih izdelkov na mikrobioto. Ugotovili so, da se ob uživanju ajdovih izdelkov poveča število aerobnih, mezofilnih in mlečnokislinskih bakterij. Opazili so rahlo znižanje števila *Enterobacteria* in patogenih bakterij. V študiji so potrdili, da lahko ajdove izdelke prištevamo med probiotike.

Kljub temu, da ajdova zrna sestavljajo beljakovine z ugodno aminokislinsko sestavo in visoko biološko vrednostjo, novejša raziskava kažejo, da lahko nekatere ajdove beljakovine izzovejo alergijske reakcije. V študijah je bilo ugotovljeno, da alergijske reakcije izzovejo nizko molekularne beljakovine z molekulsko maso med 15 in 29 kDa (Morita in sod., 2006).

2.2 FITINSKA KISLINA (FK)

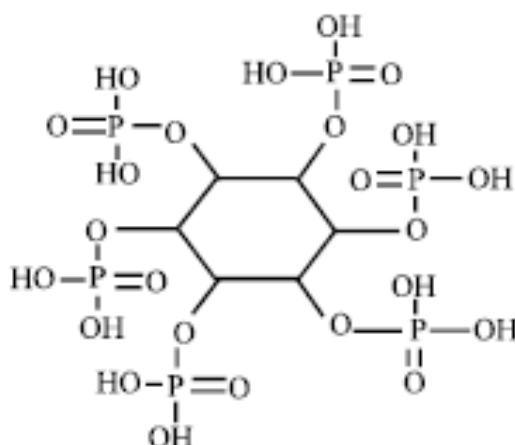
Prve objave o obstoju FK segajo v sredino 19. stoletja, ko je Hartig iz različnih semen izoliral, do takrat še neznane majhne delčke zrn, ki so se razlikovali od že poznanih škrobnih zrn. Predpostavil je, da predstavljajo pomemben vir zaloga, ki jih seme koristi med kaljenjem in zaloge, ki jih rastlina koristi v času rasti (Hartig, 1956, cit. Po: Rudolf Matičič, 1997)

FK, znana tudi kot mio-inozitol heksafosforna kislina (IP6) ali fitat kadar je v obliki soli, v semenih vseh žitaric in oljarih predstavlja zalogo fosforja (Jacela in sod., 2010). Prispevek FK k celotni količini fosforja variira od 50 do 80 %, odvisno od vrste žita. V mnogih semenih predstavlja glavni vir skladiščenega fosforja (Coulibaly in sod., 2011). V ajdovem zrnju predstavljaj FK od 60 do 90 % vsega fosforja (Steadman in sod., 2001).

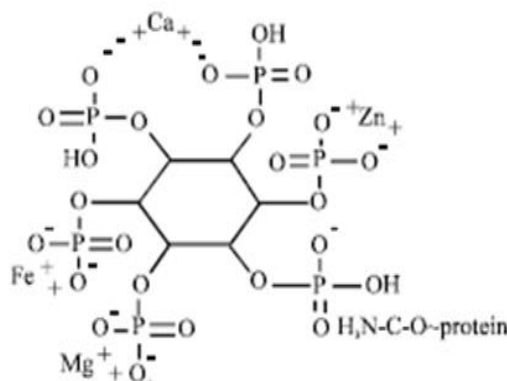
Molekulska formula FK je $C_6H_{18}O_{24}P_6$, njena molekulska masa znaša 660,03 g/mol (Coulibaly in sod., 2011).

Anderson je leta 1914 predlagal heksaortofosfatno strukturo FK (Anderson, 1914). Mnogo kasneje, leta 1969, pa sta tudi Johnson in Tate dokazala, da ima FK iz žitnih zrn mio-inozitol heksaortofosfatno strukturo, kot je predlagal Anderson (Johnson in Tate, 1969).

Na sliki 4 je prikazana struktura FK, na sliki 5 pa struktura FK s prikazanimi različnimi možnostmi povezave s kovinskimi kationi (minerali) in beljakovinami (Coulibaly in sod., 2011).



Slika 4: Struktura fitinske kisline (FK) (Coulibaly in sod., 2011)



Slika 5: Struktura fitinske kisline (FK) s prikazanimi različnimi možnostmi povezave s kovinskimi kationi (minerali) in beljakovinami (Coulibaly in sod., 2011)

2.2.1 Sinteza in viri fitinske kisline

Sinteza FK se začne v zrnatem endoplazmatskem retikulumu. Med postopkom zorenja se z zaporedno fosforilacijo mioinozitola sintetizira FK. Iz zrnatega endoplazmatskega retikuluma se FK v obliki globoidov akumulira v endospermu in/ali v alevronski plasti (Raboy, 1990).

Globoidna zrnca vsebujejo pretežno FK (25 do 70 %) v kompleksu s kovinskimi kationi. Med elementi prevladujeta kalij (2 do 20 %) in magnezij (1,5 do 12,0 %), v manjših količinah so prisotni še kalcij, železo, mangan, barij in natrij. Omenjena sestava kaže na to, da se fitat v žitih verjetno pojavlja v obliki kalij-magnezijeve soli. Globoidi vsebujejo malo (manj kot 2 %) beljakovin in ogljikovih hidratov, ter nimajo specifične lokacije za fitin (Lásztity R. in Lásztity L., 1990).

Fitati se v rastlinah akumulirajo med fazo zorenja. V dozorelem zrnju predstavljajo shranjevalno obliko fosforja, kationov in energijsko bogatih fosfatnih skupin. Soli FK in alkalijskih kovin (natrij, kalij) so večinoma topne, soli, ki se tvorijo z zemljoalkalijskimi kovinami in prehodnimi elementi pa so večinoma netopne. Med razvojem semena, predvsem semena žit, se v celicah tvorijo škrobna zrna in nastaja alevronska plast, ki je pretežno iz beljakovinskih telesc, ki vsebujejo FK (Coulibaly in sod., 2011). Akumulacijski mesti FK v semenih enokaličnic (riž, pšenica, ječmen, itn.) sta predvsem alevronska plast in kalček. Izjema je koruza, pri kateri se več kot 80 % FK nahaja v kalčku in le manjši del v endospermu (Hídvégi in Lásztity, 2003; Okazaki in Katayama, 2005).

FK in fitat se nahajata predvsem v semenih, zrnih, koreninah, gomoljih in v organski zemlji - humusu pa tudi v nukleotidnih eritrocitih pri pticah in želvah (Lásztity R. in Lásztity L., 1990). Prisotna je v fižolu, oreščkih, žitih in v manjših količinah tudi v

nekaterem sadju (jagodičasto sadje) (Marchner, 1997). Vsebnost FK v žitih variira od 0,5 g/100 g do 2,0 g/100 g (Okazaki in Katayama, 2005). Krompir vsebuje cca 0,2 g FK/100 g SS. Ajdova zrna v primerjavi s stročnicami vsebujejo več FK, vendar manj kot oreščki in ostala semena (Harland in Oberleas, 1986). Vsebnost FK v posameznih žitih in semenih je razvidna iz preglednice 9.

Preglednica 9: Vsebnost fitinske kisline (FK) v nekaterih žitih in semenih (Egli in sod., 2002)

Vrsta žita/semena	Vsebnost FK (g/100 g SS)
ječmen	1,01
koruza	1,15
proso	0,83
oves	0,88
riž	0,88
rž	0,79
sirek	1,08
sladka koruza	1,63
pšenica	1,03
amarant	1,39
ajda	1,42
kvinoja	0,97
sončnično seme	1,52
seme oljne repice	1,52

Produkti različnih stopenj mletja imajo različno vsebnost FK, saj se večina FK nahaja v zunanjih delih semena. Otrobi vsebujejo veliko FK, medtem, ko je njena vsebnost v moki precej nižja (Hídvégi in Lásztity, 2003). Vsebnosti FK v nekaterih žitnih izdelkih so razvidne iz preglednice 10.

Preglednica 10: Vsebnost fitinske kisline (FK) v različnih žitnih izdelkih (Lásztity R. in Lásztity L., 1990)

Žitni izdelek	Vsebnost FK (g/100 g SS)
pšenični otrobi iz mehke bele pšenice	5,03
pšenični otrobi iz trde rdeče pšenice	6,68
pšenični otrobi iz durum pšenice	2,80
pšenični otrobi	3,41
keksi	0,37-0,58
sladek ržen kruh	0,16
koruzni kruh	1,36
polnozrnati pšenični kruh	0,56
rženi kruh	0,41
bel kruh	0,03

Vsebnost FK je deloma odvisna tudi od klimatskih pogojev med rastjo, od namakanja, lokacije, vrste zemlje, tehnike obiranja oz. spravila, stopnje meljave, kultivarja, tehnoloških postopkov predelave in tudi od analitične metode. Vsebnost FK je veliko večja v poljščinah, ki so pridelane s pomočjo fosfatnih gnojil, kot pri poljščinah pridelanih na ekološki način (Okazaki in Katayama, 2005). Raziskave so pokazale, da pšenica ki je rasla v suhih klimatskih pogojih vsebuje manj FK kot tista, ki so jo med rastjo namakali (Lehrfeld, 1994).

Dnevni vnos FK je odvisen od prehrane posameznika. V primeru pretežnega uživanja nepredelanih živil rastlinskega izvora je lahko količina dnevno zaužitega fitata tudi večja kot 4500 mg. Pri vegetarijancih in prebivalcih revnih držav v razvoju je povprečni dnevni vnos fitatov od 2000 do 2600 mg, vnos pri posameznikih z običajno, mešano prehrano pa znaša od 300 mg do 1300 mg (Konietzny in Greiner, 2003).

Ocenjujejo, da povprečni Španec dnevno zaužije 224 g žit, od tega cca 151 g v obliki različnih kruhov. Glede na rezultate študije so ocenili, da je dnevni vnos FK zaužite z belim kruhom cca 159 mg. Z mešanim kruhom se dnevno zaužije cca 442 mg FK, s polnozrnatim kruhom cca 500 mg, z ovsenim kruhom cca 589 mg in s sojinim kruhom cca 604 mg FK (García-Esteba., 1999).

2.2.2 Prehranske lastnosti fitinske kisline

Zaradi vezave FK z večvalentnimi kovinskimi ioni (cink, kalcij, železo) in beljakovinami so fitati po večini poznani kot antinutritivna snov, saj zmanjšujejo absorpcijo mineralov ter beljakovin, poznani pa so tudi po nekaterih pozitivnih učinkih (Hídvégi in Lásztity, 2003; Coulibaly in sod., 2011).

Navert in sod. (1985) so ugotovili, da naše telo ob prisotnosti FK absorbira približno 20 % manj cinka in 60 % manj magnezija. V eni izmed študij so proučevali absorpcijo mineralov iz kruha z vsebnostjo FK in brez FK. Ugotovili so, da se iz kruha brez vsebnosti FK absorbira približno 30 % magnezija in cinka, iz kruha s FK pa se absorbira le 13 % magnezija in 23 % cinka (Egli in sod., 2002). Dokazali so tudi, da se v primeru odsotnosti FK, iz pšeničnih kosmičev poveča absorpcija železa za do 12 % (Hurrell, 2003).

Prehranska vrednost živila se poveča, če se v živilu razgradi FK in se poveča vsebnost prostega fosforja. Z zdravstvenega stališča mora biti vsebnost FK čim nižja, idealno do 25 mg ali manj na 100 g živila ali pa naj bi bila vsebnost FK približno 0,035 % vse zaužite hrane (Onomi in sod., 2004). Priporočen dnevni vnos (RDI) FK se med državami razlikuje, priporočeno pa je, da ne presežemo vnosa 800 mg FK na dan. Povprečen vnos FK v ZDA znaša med 631 in 746 mg/dan, na Finskem 370 mg/dan, v Italiji 219 mg/dan in na Švedskem le 180 mg/dan. Otroci pod šestim letom starosti, nosečnice ali ljudje s

posameznimi boleznimi se morajo izogibati živilom, ki vsebujejo FK (Coulibaly in sod., 2011).

Poleg negativnih lastnosti pa ima FK dokazano tudi blagodejne učinke kot je npr. antioksidacijski potencial. Je naravni antioksidant, saj inhibira oksidacijo lipidov, ki jo katalizirajo železovi ioni. Z železovimi ioni FK tvori katalitično neaktivne železove kelate, ki blokirajo regeneracijo hidroksilnih radikalov in tako zmanjšujejo oksidacijo maščob. FK pospeši oksidacijo dvovalentnega železa Fe^{2+} v feri obliko Fe^{3+} in ga v tem stanju tudi zadrži. Ravno Fe^{2+} ioni povzročijo nastanek hidroksilnih radikalov, Fe^{3+} ioni pa so relativno inertni. V primerjavi z ostalimi naravnimi antioksidanti, kot so npr. BHT, askorbat in EDTA, je FK veliko učinkovitejši antioksidant. Stopnja antioksidacijske učinkovitosti FK je odvisna od koncentracije in vrednosti pH (Lee, 1992). Dokazano je tudi, da prehrana obogatena s FK znižuje raven serumskega holesterola in nivo trigliceridov. Omenjeni pojav spremlja znižanje nivoja serumskega cinka in znižanje razmerja cink/baker (Konietzny in Greiner, 2003). FK preprečuje tudi pojav nastanka hiperholesterolemije, ki je glavni dejavnik za pojav srčnih bolezni in je odraz neuravnovešenega metabolizma cinka in bakra (Jariwalla in sod., 1990; Coulibaly in sod., 2011). FK preprečuje nastajanje ledvičnih kamnov, saj je glavni razlog za njihov nastanek premajhna količina zaužitih fitatov. Dieta z visoko koncentracijo fitata se uporablja za zdravljenje hiperkalciurije in ledvičnih kamnov (Konietzny in Greiner, 2003). Dokazali so, da prehrana obogatena s FK upočasni presnovo škroba in posledično upočasni povečanje koncentracije glukoze v krvi (Konietzny in Greiner, 2003). Ugotovili so tudi antikancerogeno delovanje FK. Kemoterapevtske lastnosti so bile izražene pri raku dojke, debelega črevesa, jeter in prostate (Fox in Eberl, 2002). Poleg omenjenega FK preprečuje tudi nastanek kariesa. Fitati preprečujejo raztapljanje kalcijevega fosfata, ki je glavna sestavina sklenine. Na tak način so zobje bolj zaščiteni pred kislinami in napadom bakterij oz. pred nastankom kariesa (Konietzny in Greiner, 2003).

2.2.3 Vpliv fitinske kisline na izkoristljivost mineralov

FK je poznana predvsem kot substanca, ki v odvisnosti od vrednosti pH v tankem črevesu s kationi tvori slabo topne komplekse. Kompleksi med FK in minerali so običajno topni v kislem pH območju, slabša pa je topnost pri fiziološkem pH (Zhou in Erdman, 1995). Na izkoristljivost mineralov vplivajo številni faktorji in sicer: vsebnost FK, koncentracija, velikost in valenca mineralov, povezovanje FK z beljakovinami, toplotni postopki priprave hrane, prisotnost drugih kovinskih anionov – sinergističen učinek in vrednost pH. Mol fitata lahko veže 6 molov Cu^{2+} ali Co^{2+} , 5 molov Ca^{2+} , 4 mole Fe^{3+} in 3,5 do 4 mole Zn^{2+} . Afiniteta FK do posameznih prehransko pomembnih kationov je naslednja: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Ca}^{2+}$ (Ryden in Salvendran, 1993).

Molekula FK vsebuje 12 disociranih protonov; šest močno disociranih protonov in šest šibko disociranih protonov. Tvorba različnih soli je odvisna od vrednosti pH (Hídvégi in Lásztity, 2003). Običajno dvovalentni kationi tvorijo netopne penta- in heksa-substituirane soli, redkeje pa pride do tvorbe mono-, di-, tri- in tetra substituiranih soli (Torre in sod., 1991). Na slabšo biološko razpoložljivost mineralov vplivata samo IP5 (mio-inozitol penta-fosfat) in IP6 (mio-inozitol heksa-fosfat), ostale komponente, ki nastanejo kot posledica hidrolize FK imajo manjšo afiniteto za vezavo mineralov oz. z minerali tvorijo bolj topne komplekse (Sandberg in sod., 1989).

Cink

Torre in sod. (1991) so ugotovili, da se reakcije med FK in Zn(II) ioni pojavijo po disociaciji prvih šestih protonov t.j. pri pH 3. Najstabilnejši kompleks med FK in Zn²⁺ ioni nastane pri fiziološki vrednosti pH. Ugotovili so tudi, da se maksimalno obarjanje pojavi pri molskem razmerju cink:FK = 5:1.

Železo

V hrani se železo nahaja v dveh oblikah, kot hemsko oz. kot nehemsko železo. V mesu (tudi v perutnini in ribah) se nahaja cca 40 % železa v obliki hemskega železa, preostalo pa je nehemsko železo. Večina železa v mlečnih izdelkih, jajcih in rastlinskih živilih je v nehemski obliki in predstavlja več kot 80 % skupnega železa v hrani (Plaami, 1997).

Glavna lastnost, ki definira absorpcijo železa v tankem črevesu je topnost železa. IP6 in IP5 vplivata na slabšo topnost in posledično na slabšo absorpcijo železa. Topnost železa je odvisna tudi od količine IP5 in FK. Že majhne količine FK (5 do 10 mg FK) povzročijo, da se absorpcija nehemskega železa zmanjša za polovico. Na boljšo topnost nehemskega železa vplivajo tudi fermentacijski procesi, saj se med fermentacijo tvorijo organske kisline, ki imajo pozitiven vpliv na njihovo topnost in absorpcijo (Plaami, 1997).

Kalcij

FK ima močan negativen vpliv na izkoristljivost kalcija. Kalcij-fitatnih kompleksov človeški organizem iz gastrointestinalnega trakta ne more absorbirati. Omenjeni kompleksi inhibirajo tudi absorpcijo železa in cinka, ki se vežeta na že formirane kalcij-fitatne komplekse v nove, še manj topne komplekse. Na vez med FK in kalcijevimi ioni vpliva vrednost pH, ionska jakost in konformacija IP6. Afiniteta FK do kalcijevih ionov narašča z vrednostjo pH in temperaturo. Pri pH med 4,6 in 6,9 se razmerje fosfor-kalcij v oborjeni soli ne spreminja (Torre in Rodrigez, 1991).

Baker in magnezij

FK reagira s 6 moli Cu(II) ionov. Reakcija poteče v območju pH med 2 in 6. Topni bakrovi (II)-fitatni kompleksi nastanejo pri pH med 2 in 3,4. Magnezijevi (II) ioni ne reagirajo s

FK pri vrednosti pH, nižji od 3, in ne pri vrednosti pH ,višji kot 7,5. Molekula FK veže štiri magnezijeve ione (Lásztity R. in Lásztity L., 1990).

2.2.4 Interakcije fitinske kisline z beljakovinami

FK se začenja povezovati z beljakovinami v fazi zorenja zrna, ko se akumulira v beljakovinsko bogati alevronski plasti žit in v beljakovinskih telescih stročnic (Hídvégi in Lásztity, 2003). Fitat–beljakovinski kompleksi nastanejo zaradi elektrostatičnih interakcij, ki vključujejo terminalno α -amino skupino in ε -amino skupino lizina, imidazolno skupino histidina in gvanidilno skupino arginina (Torre in Rodrigez, 1991).

Izkoristljivost fitat-beljakovinskih kompleksov je odvisna od lastnosti kompleksa, le te pa od vira beljakovin. Na nastanek kompleksa vplivajo tudi morebitna prisotnost mineralov ter drugih sestavin, sprememba temperature in vrednosti pH. Zaradi tvorbe fitat-beljakovinskih kompleksov se zmanjša topnost beljakovin, kar vpliva tudi na funkcionalne lastnosti beljakovin, kot so hidrodinamične lastnosti, sposobnost emulgiranja, penjenje in dispergiranoost v vodnem mediju (Lásztity R. in Lásztity L., 1990).

Pri nizki vrednosti pH, pod izoelektrično točko beljakovin, so terminalni amino konci, lizina, arginina in histidina pozitivno nabiti. Vsaka izmed omenjenih molekul lahko tvori kompleks z negativno nabitim fitatnim anionom. Molekula beljakovine lahko istočasno reagira z več fitatnimi anioni, odvisno je od števila pozitivno nabitih skupin in od konformacije. Pri nevtralnem pH-ju sta samo amino skupini arginina in lizina pozitivno nabiti, zato so možnosti za elektrostatske interakcije manjše (Hídvégi in Lásztity, 2003). Pri zelo visoki vrednosti pH pa so možnosti za interakcije med FK in beljakovinami minimalne (Cheryan, 1980; Reddy in sod., 1982; Coulibaly in sod., 2011). Pri vrednosti pH med 7 in 10 so tako fitat kot večina beljakovin negativno nabiti. V primeru prisotnosti kationov pride do tvorbe trojnih (ternarnih) kompleksov med beljakovino, FK in mineralom (Hídvégi in Lásztity, 2003).

V primeru tvorbe ternarnih kompleksov kationi oblikujejo mostiček med fitatnim anionom in negativno nabito skupino beljakovine, ki pri nevtralni in alkalni vrednosti pH omogoči interakcije oz. povezavo med FK in beljakovinami. Dokazali so tudi, da lahko pride do tvorbe ternarnih kompleksov beljakovin, FK in ogljikovih hidratov (škrob), kar kasneje vpliva na hitrost razgradnje škroba (Hídvégi in Lásztity, 2003).

Teoretično bi bila tudi možnost nastanka kompleksa med beljakovinami, FK in lipidi, vendar dokazov o tovrstnih kompleksih ni (Hídvégi in Lásztity, 2003).

2.2.5 Vpliv fitinske kisline na encime

FK zmanjšuje aktivnost encimov, ki v svojih aktivnih centrih vsebujejo Zn^{2+} ali Ca^{2+} ione. Med omenjene encime spadajo karboksipeptidaze, aminopeptidaze, amilaze in alkalna fosfataza (Ryden in Salvendran, 1993).

Strukturi FK in škroba omogočata, da se molekuli povežeta preko fosfatnih skupin. Omenjeni kompleks zmanjšuje prebavljivost škroba. FK lahko indirektno vpliva na prebavljivost škroba tudi tako, da reagira s prebavnimi encimi ali kalcijem, ki je znan kot aktivator amilaze. FK ovira presnovo beljakovin in maščob, saj zmanjšuje aktivnost proteolitičnih in lipolitičnih encimov (Plaami, 1997).

2.2.6 Metode za zmanjševanje vsebnosti fitinske kisline

2.2.6.1 Fitaze

FK z makromolekulami in kovinami tvori netopne komplekse, zato izkoristljivost makromolekul močno variira. Ljudje v svojem prebavnem traktu nimamo črevesnih fitaz in alkalnih fosfataz, ki bi lahko razgradile fitate. Hidroliza fitata poteka s pomočjo fitaz, ki jih zaužijemo s hrano (Plaami, 1997).

Fitaze so encimi, ki sodijo v skupino encimov, ki katalizirajo postopno odstranjevanje anorganskih ortofosfatov iz FK. Produkti razgradnje FK so potrebni za razvoj zorečega zrna. Fitaze ali mio-inozitol heksakisfosfat fosfohidrolaze hidrolizirajo FK na nižje inozitol fosfate in/ali mio-inozitol in anorganski fosfat. Na zmanjšano prehransko izkoristljivost železa in cinka pri ljudeh vplivata predvsem IP6 in IP5 (Egli in sod., 2003). Fitaze so encimi, ki so prisotni v vseh žitnih zrnih, v semenih stročnic, lahko pa so tudi mikrobiološkega izvora. Odvisno od vrste žita, se spreminja njihova lokacija v zrnju. V pšeničnem zrnju so fitaze razporejene med alevrsko plastjo, endospermom in kalčkom, v riževem zrnju so povezane z alevrsko plastjo, v ječmenovih zrnih so jih našli okrog beljakovinskih telescev alevrske plasti (Lásztity R. in Lásztity L., 1990; Egli in sod., 2003; Selle in sod., 2007).

Aktivnost fitaz v nekalečem zrnju je slaba. V zrnih in semenih se aktivirajo s pomočjo različnih procesov v živilih kot so npr. namakanje, kaljenje in fermentacija. Povečana aktivnost fitaze se odraža v zmanjšani vsebnosti FK oz. njeni hidrolizi v nižje inozitol fosfate (Raboy, 1990; Porres in sod., 2001). Fitaze delimo glede na mesto delovanja v dve skupini. Mednarodno znani (IUPAC-IUB, 1976) sta: 3-fitaza (EC 3.1.3.8), ki najprej hidrolizira estrsko vez in odstrani ortofosfat na mestu 3 mio-inozitol fosfata in nastane mio-inozitol 1,2,4,5,6-pentakisfosfat, ter 6-fitaza (EC 3.1.3.26), ki začne defosforilacijo FK na šestem položaju FK in nastane mio-inozitol-1,2,3,4,5-pentakisfosfat (Selle in sod.,

2007). Obe omenjeni fitazi popolnoma defosforilirata FK. Večinoma je v žitih prisotna 6-fitaza. Njen naravni substrat je fitat, katerega defosforilacija poteka postopoma in se odraža v mio-inozitol 2-fosfatu kot končnemu produktu. 3-fitaze so po lastnostih podobne fitazam, izoliranim iz *Aspergillus niger*, v *Peniophora lycii* in *Escherichia coli* pa so prisotne 6-fitaze (Baruah in sod., 2007).

Fitaze se lahko deli tudi glede na optimalno vrednost pH pri kateri delujejo, ločimo kisle fitaze in alkalne fosfataze. Prve optimalno delujejo pri vrednosti pH okrog 5, druge pa pri vrednosti pH okrog 8. Večinoma (z izjemo fitaze iz rodu *Bacillus*) fitaze mikrobiološkega in rastlinskega izvora spadajo v skupino kislifosfataz (Baruah in sod., 2007). Optimalni pogoji za delovanje fitaze, ki se nahaja v riževem zrnu, so pri vrednosti pH 5,5 in pri temperaturi okrog 55 °C (Greiner in sod., 1997). Fitaza v zrnu navadne pšenice in fitaza, ki se nahaja v zrnu ječmena imata optimalno delovanje pri vrednosti pH 4,5 in pri temperaturi 65 °C (Dionisio in sod., 2007). Za fitazo v ajdovem zrnu so ugotovili, da je najbolj aktivna pri vrednosti pH 5,0 in temperaturi 55 °C (Egli in sod., 2003).

2.2.6.2 Tehnološki postopki za zmanjševanje vsebnosti fitinske kisline

Kot že omenjeno, FK razgrajujejo encimi fitaze, ki fitate razgradijo v nižje inozitol fosfate in/ali inozitol. Nižji inozitol fosfati imajo slabšo sposobnost vezave in posledično manjši vpliv na dostopnost mineralov v človeškem organizmu (Sandberg in sod., 1999).

V nadaljevanju so opisani postopki za zmanjševanje vsebnosti FK, to so namakanje, kaljenje, fermentacija in toplotni postopki (kuhanje, sušenje, pečenje).

Namakanje

Prva stopnja procesa kaljenja je namakanje, ki se običajno vrši pri sobni temperaturi. S postopkom namakanja se zrna omočijo, kar omogoča optimalnejše respiratorne in metabolne aktivnosti (Coulibaly in sod., 2011). Trajanje namakanja stročnic in žitaric je odvisno od nadaljnjih postopkov obdelave in lahko traja od 15 oz. 20 min do 13 ur. Ker je FK topna v vodi, se med procesom namakanja izlužuje iz zrn. Poleg omenjenega se v žitaricah in stročnicah med procesom namakanja aktivirajo naravno prisotne fitaze (Kumar in sod., 2010). Kot optimalno temperaturo za delovanje rastlinskih fitaz, med postopkom namakanja, so pri vrednosti pH 5,0 določili 45 °C ter pri vrednosti pH 6,0, 65 °C (Greiner in Konietzny, 1999; Coulibaly in sod., 2011).

Kaljenje

Pri procesu kaljenja imajo okoljski faktorji, kot so, vsebnost vode, temperatura, svetloba in vsebnost kisika, pomembno vlogo pri intenziteti kaljenja. Za začetek kaljenja je potrebno, da vsebnost vode v zrnih naraste vsaj na 40 % (Ogushi in sod., 2002), potrebna pa je tudi primerna aeracija prostora, v katerem kalimo zrna. Na hitrost in kaljivost bistveno vpliva

tudi temperatura. Za nekatera semena je za pričetek kaljenja nujno potrebno, da so izpostavljena svetlobi (Coulibaly in sod., 2011). Med procesom kaljenja se zaradi delovanja intrinzične fitaze bistveno zniža vsebnost FK pri vseh žitih, poveča pa se dostopnost mineralov (Abdelrahman in sod., 2007; Coulibaly in sod., 2011).

Razgradni produkti FK služijo kot vir anorganskega fosforja. V eni izmed študij so ugotovili, da se v prosnem sladu po 72 urah kaljenja zmanjša vsebnost FK za 23,9 % ter po 96 urah kaljenja za 45,3% (Makokha in sod., 2002). Liang in sod. (2008) so ugotovili, da se s povišanjem temperature kaljenja prosa na 30 °C pospeši razgradnja FK s 4 na 60 %. V eni izmed študij so nakaljene vzorce zmleli in jih ponovno namakali. Ugotovili so, da se po opisanem postopku FK v stročnicah in žitaricah popolnoma razgradi (Kumar in sod., 2010). Poiana in sod. (2009) so poročali, da ima kaljenje največji vpliv na razgradnjo FK pri rižu, najmanj pa je razgradnja zaznana pri kaleči koruzi. V eni izmed raziskav so ugotovili, da pride do največje razgradnje FK pri piri v petem dnevu kaljenja in pri ječmenu v četrtem dnevu kaljenja (Konyetzný in sod., 1994). Agostini in sod. (2010) so dokazali, da ima fitaza največjo aktivnost v četrtem dnevu kaljenja, kar je povezano z najmanjšo vsebnostjo FK v tistem dnevu. Pet-dnevno kaljenje ovsa na 11 °C in nato namakanje za 17 ur na 50 °C odstrani 98 % fitatov (Larsson in Sandberg, 1992). V eni izmed študij so proučevali učinek kaljenja na vsebnost FK ter dostopnost mineralov v prosu. Ugotovili so, da se tekom postopka kaljenja vsebnost FK zmanjšuje, dostopnost različnih mineralov pa je odvisna od vrste prosa, pri nekaterih vrstah se dostopnost povečuje, pri drugih pa zmanjšuje (Abdelrahman in sod., 2007).

Fermentacija

Fermentacija je ena izmed najučinkovitejših in ekonomično najugodnejših metod za zmanjševanje vsebnosti anti-nutritivnih faktorjev, ter podaljšanje roka uporabe različnih živil. Študije so pokazale, da tako spontana fermentacija, kot fermentacija z dodatkom starterskih kultur občutno zmanjšata vsebnost FK (Murali in Kapoor, 2003; Kumar in sod., 2010).

Rastline kot so žita, stročnice in zelenjava pogosto uporabljamo v procesu fermentacije pri izdelavi različnih izdelkov. Mikroorganizmi in/ali encimi, ki izzovejo fermentacijo, so lahko naravno prisotni v živilu ali pa se jih doda kot startersko kulturo. Pri žitih, stročnicah, koruzi, soji in sirku je najpogostejša mlečno-kislinska fermentacija (Kumar in sod., 2010). Pri procesu mlečno-kislinske fermentacije nastane mlečna kislina, ki zniža vrednost pH v živilu in s tem aktivira delovanje fitaze. Raziskave so pokazale, da lahko mlečno-kislinska fermentacija koruze, sojinih semen in prosa vodi do popolne razgradnje fitata (Kumar in sod., 2010; Lopez in sod., 1983; Lopez in sod., 2000). Z znižanjem vrednosti pH med procesom fermentacije se ustvarijo optimalni pogoji za razgradnjo FK, ki je v žitih običajno povezana z večvalentnimi kationi (Zn, Fe, Mg, Ca, beljakovinami,...) (Reale in sod., 2007).

Med najpomembnejšimi faktorji za hidrolizo FK med fermentacijo kislega testa je vrednost pH testa. Optimalna pogoja za razgradnjo FK v pšeničnem testu sta temperatura 55 °C in vrednost pH 4,5 (Fretzdorff in Brummer, 1992). Na razgradnjo FK med pripravo testa vplivajo še ostali dejavniki, kot so aktivnost fitaze, vsebnost vode, trajanje fermentacije, dodatek encimov itd. (Penella in sod., 2008). Požrl in sod. (2009) so ugotovili, če pri postopku priprave kruha, dodamo 5 % kislega testa, se vsebnost FK zmanjša za do 0,10 g/100 g SS, medtem ko so pri 10 % dodatku kislega testa ugotovili zmanjšanje vsebnosti FK za do 0,50 g/100 g SS. Ob dodatku kislega testa se zmanjša vsebnost FK, saj z znižanjem vrednosti pH ustvarimo optimalnejše pogoje za delovanje fitaze, z dodatkom kislega testa pa se doda tudi fitaza mikrobiološkega izvora. V eni izmed študij so primerjali zmanjšanje vsebnosti fitata v kruhih, ki so vsebovali različne količine kislega testa. Najopaznejše zmanjšanje vsebnosti fitatov, 96 do 97 %, je bila določena pri kruhu, ki je vseboval 10 % kislega testa (vrednost pH 4,6) in pri kruhih, pri katerih so vrednosti pH prilagodili na 4,4 do 5,1 z dodatkom mlečne kisline. Do najučinkovitejše razgradnje fitatov v kruhih iz ovsene moke ali ovsenih otrobov, je prišlo pri kruhu, pripravljenem iz poparjene ovsene moke, ki je vseboval 20 do 36 % kislega testa. V teh kruhih z vrednostjo pH med 4,3 in 4,6 tako v testu kot v kruhu, je prišlo do 96 % redukcije fitatov (Sandberg, 1995).

Toplotni postopki

Do razgradnje FK prihaja tudi med postopkom kuhanja in/ali uparjevanja pri temperaturi cca 100 °C. V primerjavi z razgradnjo FK z aktivacijo encimov fitaz, razgradnja FK pri kuhanju sicer ni tako intenzivna (Bullock in sod., 1993). Kuhanje suhih semen ali zrn v vreli vodi vpliva na 16 do 32 % izgubo vsebnosti FK. Prav tako se kuhanje semen stročnic lahko odraža v zmanjšanju vsebnosti fitata. Nekatera semena stročnic potrebujejo daljši čas kuhanja, da se zmehčajo, kar je povezano z izgubo fitata. FK v koreninah je bolj labilna in se jo izgubi 35 % pri sušenju v pečici (Kumar in sod., 2010). Požrl in sod. (2009) so proučevali vsebnost FK v kruhih, pripravljenih z različnimi postopki in različnimi tipi mok (tip 500, tip 850 in polnozrnata moka). Poleg aktivacije encima fitaze med postopkom fermentacije, ter dodatka kislega testa je na zmanjšanje vsebnosti FK vplivala tudi visoka temperatura med peko kruha, saj so ugotovili, da skorja kruha vsebuje bistveno manj FK v primerjavi s sredico kruha.

2.2.7 Metode za določanje fitinske kisline

Za določanje FK obstajajo različne metode, pri katerih vsebnost FK določimo direktno v ekstraktu ali oborini ali pa indirektno preko rezidualnega fosforja ali železa v supernatantu. Obarjalna in ionsko-izmenjevalna metoda sta slabo specifični, saj z njima običajno pri določanju vsebnosti FK pri različnih živilih določimo večjo vsebnost, saj ne ločuje IP6 od nižjih inozitol fosfatov (Sandberg, 1995). Običajno se za določanje FK v predelanih živilih

uporablja HPLC metoda. V nepredelanih živilih se FK večinoma pojavlja v obliki IP6, tako da se običajno uporablja kar obarjalna metoda (Coulibaly in sod., 2011).

Metode z obarjanjem

Metode z obarjanjem delimo na: direktne metode, kjer se oborina železovega fitata odstrani in v njej določa fosfor ali inozitol, ali indirektne metode pri katerih se za obarjanje fitata doda presežek železovega klorida in se FK določi posredno preko prebitnega fosforja ali železa v supernatantu (Camire in Clydesdale, 1982; Reichwald in Hatzack, 2008). Glavna pomanjkljivost metod z obarjanjem je, da se poleg inozitol heksafosfatov oborijo še ostale sestavine, ki vsebujejo fosfor, tako da jih določimo kot FK. Ugotovili so, da vsi inozitol fosfati od di- do heksafosfata tvorijo železove komplekse. Poleg tega pa so mono-, di- in trifosfati precej bolj topni in se kvantitativno ne oborijo, zato se jih s to metodo ne določi (Sandberg in Ahderinne, 1986; Peng in sod., 2009).

Večina konvencionalnih kvantitativnih metod za določanje FK temelji na metodi po Heubner in Stadler-ju (Plaami, 1997). Pri omenjeni metodi poteka ekstrakcija vzorca s kislino (klorovodikovo ali triklorocetno kislino). Med ekstrahiranjem v kislino topne komponente in inozitol fosfati preidejo v raztopino, ostale komponente pa se oborijo. Z dodatkom Fe^{3+} ionov se obori FK v raztopini. Vsebnost fitata se direktno določi z izmerjeno vsebnostjo fosforja, inozitola ali železa v oborini. Za indirektno določanje se v raztopino FK doda prebitek standardne raztopine Fe^{3+} ionov, da nastanejo stabilni in netopni železo-fitatni kompleksi. Koncentracijo preostalih železovih ionov v supernatantu se določi spektrofotometrično preko ostanka neoborjenega železa v raztopini (Leherfeld, 1989; Plaami, 1997).

Princip metod, ki temeljijo na metodi McCance (1935) temelji na osnovi obarjanja FK kot železov fitat. McCance je bil prvi, ki je uporabil direktno metodo z določanjem fosforja v oborini. Oborino je raztopil v natrijevem hidroksidu in vsebnost fosforja določil kolorimetrično. V praksi se metoda redko uporablja, saj so modificirane indirektne metode veliko hitrejše. Haug in Lantzsch sta leta 1983 predstavila modificirano metodo Younga (1936) za določanje FK v žitih in žitnih izdelkih. V vzorec se doda presežek Fe^{3+} znane koncentracije. Po izmerjeni zmanjšani koncentraciji železa v supernatantu (spektrofotometrično z 2,2-bipirimidinom) se določi vsebnost FK v vzorcu (Haug in Lantzsch, 1983; Peng in sod., 2009).

Kromatografija

S kromatografskimi metodami se lahko določa zelo majhne vsebnosti FK ($< 0,2$ g/100 g). Harland in Oberleas (1977) sta poenostavila postopek obarjanja in FK direktno ekstrahirala z 1,2 % HCl. Prva sta začela uporabljati anionske izmenjevalne kolone z anorganskimi smolami kot stacionarno fazo. FK se na podlagi različnih porazdelitvenih koeficientov ločeno eluira od ostalih inozitol fosfatov in anorganskih fosfatov. Spiranje anorganskih

fosfatov in nižjih inozitol fosfatov poteka z raztopino 0,1 M NaCl in vode. Eluiranje inozitol heksafosfatov poteka z 0,7 M NaCl. Vsebnost FK se izračuna s pomočjo vsebnosti fosforja ali na druge načine (Ryden in Salvendran, 1993; Plaami, 1997). Leta 1986 je omenjena metoda po nekaterih modifikacijah obeh faz bila s strani AOAC sprejeta kot uradna metoda (Harland in Oberleas, 1986).

Ena izmed kromatografskih metod, HPLC (tekočinska kromatografija visoke ločljivosti), se je za določanje vsebnosti FK začela uporabljati leta 1980, prvi jo je uporabil Tangendjaja (Peng in sod., 2009). Metoda je primerna za določanje nižjih koncentracij FK predvsem v predelanih živilih. Uporablja se za separacijo in kvantitativno določanje nižjih inozitol fosfatov. Metoda vključuje ekstrakcijo inozitol fosfatov s HCl, separacijo inozitol fosfatov z anionsko izmenjevalno kromatografijo in HPLC analizo. Omenjena metoda in oprema za izvajanje analize je zelo draga in zahteva strokovno izobraženo osebje za izvajanje analize, zato se redko uporablja (Peng in sod., 2009).

Lehrfeld (1989) je razvil HPLC metodo za analizo FK na pH stabilni makroporozni polimerni koloni. Omenjena kolona omogoča določitev FK v več kot 60 vzorcih na dan. Čas ekstrakcije z ultrazvočnim valovanjem je le 1-3 min. Metoda omogoča določitev FK v samo 50 mg pšeničnih otrobov (Peng in sod., 2009).

Spektroskopija

Bližnja infrardeča spektroskopija (NIR) se uporablja za določanje FK in inozitol fosfatov z nižjim številom fosfatnih skupin. Primerna je za spremljanje hidrolize fitata med fermentacijo testa in za določanje fitata v kuhani ali kako drugače obdelani hrani (Plaani 1997; Peng in sod., 2009).

Sinhrona fluorescenčna spektrometrija

Chen in sod. so leta 2008 objavili novo sinhrono fluorescenčnometodo za določanje FK. Metoda temelji na oblikovanju ternarnih kompleksov fitata, 1,10-fenantrolina in Fe^{3+} . Metoda je enostavna, natančna, hitra in občutljiva, vendar slabo selektivna.

2.3 PROIZVODNJA AJDOVEGA SLADA

Ajdo uvršamo med brezglutenska žita, zato se vse pogosteje uporablja tudi kot surovina pri proizvodnji brezglutenskega piva. Industrijski postopek priprave slada zajema šest faz: skladiščenje žita, čiščenje, namakanje, kaljenje, sušenje zelenega slada ter končna obdelava in skladiščenje slada (Kreisz, 2009).

Wijngaard in sod. (2005a) so v študiji ugotovili, da je optimalni čas namakanja ajde od 7 do 13 ur, optimalni čas kaljenja pa je 4 do 5 dni (Wijngaard in sod., 2006). Med postopkom namakanja se v zrnju povečuje vsebnost vode, kar omogoča aktivacijo procesa kaljenja. Proces v zrnju se pričnejo odvijati, ko vsebnosti vode v zrnju doseže cca 30 %. Za aktivno kaljenje zrno potrebuje 40 % vode, za razgradnjo endosperma pa je v zrnju potrebna 44 do 48 % vsebnost vode (Schuster in sod., 1990; Kreisz, 2009). Optimalna vsebnost vode po namakanju je 35 do 40 % (Wijngaard in sod., 2005a). Učinkovitost namakanja je odvisna predvsem od temperature vode in časa namakanja, v manjši meri pa tudi od trdote vode in oblike zrna. Za namakanje ječmenovih zrn se uporablja temperatura vode med 12 in 20 °C, saj se pri omenjeni temperaturi volumen škrobnih zrn poveča za 1,4-krat (Evans in sod., 1997; Kreisz, 2009). Po 8-ih urah namakanja ajdovih zrn pri 20 °C je vsebnost vode v zrnih sorte Darja znašala 44,0 %, pri sorti Pyra pa 43,1 % (Mrak, 2014).

Kaljenje pri proizvodnji slada predstavlja najpomembnejšo tehnološko fazo. Kot posledica burnih biokemijskih sprememb v tej fazi iz osnovne surovine (ječmen, ajda, riž...) nastane slad. Cilji procesa kaljenja so: kontrolirana razgradnja celičnih sten, proizvodnje optimalnih količin hidrolitičnih encimov, hidroliza posameznih rezervnih snovi in proizvodnja dobro razgrajenega slada (Kreisz, 2009). Med biokemijskimi procesi se razgrajujejo beljakovine, ogljikovi hidrati in maščobe katerih razgradni produkti se porabljajo za rast kalčka (Wijngaard in sod., 2005b). Postopek zaslajevanja se konča s sušenjem zelenega slada. Pri omenjenem postopku se s povišano temperaturo prekinijo procese v kalečem zrnju in zmanjša vsebnost vode z namenom stabiliziranja slada (Kreisz, 2009). Običajno poteka sušenje s tokom suhega zraka temperature med 20 °C in 110 °C (Schuster in sod., 1990).

2.3.1 Encimi med kaljenjem

Med procesom kaljenja se v zrnju odvijajo biokemijske spremembe, prve spremembe se pojavijo v kalčku. Aktivacija encimov se prične že v procesu namakanja, kjer v zrno prodre voda, ki spodbudi dihanje in rast kalčka (Hughes in Baxter, 2001; McKay in sod., 2011). V kalčku se tvorijo giberelini, ki potujejo do receptorjev na površini protoplastov aleuronske plasti, ki obdaja endosperm. V alevranski plasti se sproščajo hidrolitični encimi, ki za potrebe rasti kalčka razgrajujejo molekule v endospermu. Za rast kalčka je potrebna razgradnja molekul ogljikovih hidratov, maščob, beljakovin in mineralov

(McKay in sod., 2011). Med kaljenjem je aktivnih veliko encimov. S stališča končne kakovosti slada so najpomembnejši naslednji encimi: α -amilaza, β -amilaza, β -glukanaze in proteaze. Najintenzivnejši so procesi citolitične, proteolitične in amilolitične razgradnje, pri katerih se polimeri β -glukana, beljakovin in škroba razgradijo do topnih produktov nizkih molekulskih mas (Kreisz, 2009; McKay in sod., 2011).

V eni izmed študij so ugotovili, da najintenzivnejša sinteza encimov poteka v tretjem do petem dnevu kaljenja. S sušenjem se aktivnost encimov znatno zmanjša. S povečevanjem stopnje namočenosti se sinteza encimov povečuje. Običajno se temperatura med kaljenjem giblje med 13 °C in 15 °C. Optimalna temperatura za delovanje encimov je 45 °C, optimalni vrednosti pH pa 5,5. Raven encimov se v času slajenja poveča za 2- do 3-krat (Schuster in sod., 1990; Evans in sod., 1997; Wijngaard in sod., 2005b).

Citolitični encimi

V skupino citolitičnih encimov, ki razgrajujejo polimere β -glukana, spadajo β glukanaze. Pri razgradnji celične stene sodelujejo tudi endoksilanaze, eksoksilanaze, ksilobiazе in arabinozidaze, ki razgradijo pentozan. Citolitični encimi razgrajujejo celično membrano endosperma, ki je sestavljena iz 75 % glukana, 20 % pentozana in 5 % beljakovin. Prav zaradi kompleksnosti celične membrane je za razgradnjo celične stene potrebnih več encimov. Aktivnost omenjenih encimov je zelo pomembna predvsem pri proizvodnji piva, saj vpliva na viskoznost sladice (Briggs in sod., 1981; Evans in sod., 1997, McKay in sod., 2011).

Amilolitični encimi

Amilolitične encime uvrščamo med najpomembnejše encime slada. Molekule škroba razgrajujejo do dekstrinov in sladkorjev, ki so osnovna sestavina sladice (Schuster in sod., 1990). Med amilolitične encime uvrščamo encime α -amilaze in β -amilaze.

α -amilaza

Encim α -amilaza se sintetizira v alevronski plasti z delovanjem giberelinske kisline. α -amilaza cepi α -1,4 vez v sredini molekule amiloze in amilopektina. Začetni produkti razgradnje so oligosaharidni dekstrini, ki imajo 6 do 7 glukoznih enot, končni produkt pa je maltoza. Največjo aktivnost encim doseže med drugim in tretjim dnem kaljenja. V primerjavi z ječmenovim sladom je pri ajdovem sladu nižja α -amilazna aktivnost, kar bi lahko pripisali škrobni sestavi zrna (Schuster in sod., 1990; Nelson in Cox, 2005). Podobno kot aktivnost ostalih encimov, je tudi aktivnost α -amilaze odvisna od časa zaslajevanja, vsebnosti vode in temperature zaslajevanja. Pri večji vsebnosti vode, je večja tudi sinteza encimov. Kaljenje naj bi potekalo minimalno štiri dni. α -amilaza je v primerjavi z β -amilazo toplotno stabilnejša. V eni izmed študij je bilo ugotovljeno, da optimalno kaljenje poteka pet dni pri temperaturi 19 °C in s sušenjem na 40 °C (Nelson in Cox, 2005; Wijngaard in sod., 2005a; Phiarais in sod., 2005; Wijngaard in sod., 2006; McKay in sod.,

2011). Muralikrishna in Nirmala (2005) navajata, da je encim α -amilaza pri vrednosti pH pod 4 in pri temperaturi nad 78 °C popolnoma inaktiviran, kot optimalni pH za delovanje encima pa navajata območje vrednosti med 4,5 in 5,5. Glede na to, da je α -amilaza v ječmenovem sladu toplotno najstabilnejši encim, so tudi pri ajdovem sladu uporabili omenjeni encim za določanje optimalnih pogojev slajenja. Ugotovljeno je bilo, da je najvišja aktivnost α -amilaze v ajdovem sladu dosežena pri temperaturi 50 °C. Z naraščajočo temperaturo, se znižuje aktivnost α -amilaze, največji padec aktivnosti α -amilaze je zaznati v temperaturnem območju 72 °C do 78 °C. Pri temperaturi, ki je višja od 78 °C je aktivnost α -amilaze zelo nizka (Wijngaard in sod., 2006).

V eni izmed študij so ugotovili, da je α -amilazna aktivnost večja pri ajdovem sladu, ki je bil namočen več kot 13 ur. Ugotovili so, da je aktivnost α -amilaze v ječmenovem sladu dvakrat višja kot v ajdovem sladu. Manjša aktivnost še ne pomeni, da se razgradi manj škroba pač pa, da je struktura škrobnih zrn v ajdi in ječmenu različna. Škrobna zrna v ajdovem zrnju so manjša (4 do 6 μ m) v primerjavi s škrobnimi zrni ječmena (6 do 12 μ m), zato imajo encimi večjo površino na katero lahko delujejo. Razmerje amiloza:amilopektin v ajdovem škrobu je nižje kot v ječmenovem, kar ima tudi vpliv na encimsko razgradnjo škrobne molekule (Wijngaard in sod., 2005b). Molekule amilopektina so veliko lažje razgradljive kot molekule amiloze (Briggs in sod., 1981). Iz naštetega lahko sklepamo, da je za razgradnjo škrobne molekule v ajdovem zrnju potrebna nižja amilolitična encimska aktivnost kot za razgradnjo ječmenovega škroba. Pri slajenju sirkovega slada je bila določena optimalna temperatura za delovanje α -amilaze med 50 °C in 60 °C, občutno zmanjšanje aktivnosti pa je zaznati pri temperaturi višji od 70 °C (Jani in sod., 1999).

β -amilaza

β -amilaza je eksoencim, ki cepi molekule škroba iz nereducirajočih koncev amiloze in amilopektina. Je toplotno labilen encim, ki je v nenakaljenem ječmenu prisoten v vezani (povezave preko disulfidnih mostičkov) in v prosti obliki. Razgrajuje molekule škroba. Encimi so pogosto preko mostičkov povezani z netopnimi beljakovinami. Z razgradnjo beljakovin se aktivnost encima tekom kaljenja poveča, saj proteolitični encimi cepijo disulfidno vez in aktivirajo encim (Evans in sod., 1997; Grime in Briggs, 1996).

Razgradnja molekule škroba, ki je sestavljena iz 25 % amiloze in 75 % amilopektina, poteka v večji meri s pomočjo encima β -amilaza. Encim deluje kot eksoglikozidaza, saj začne z razgradnjo molekule iz konca in odcepi vedno dve zadnji glukozni enoti -maltozo. Amiloza se skoraj popolnoma hidrolizira, amilopektin pa nekako do polovice, saj na kraju razvejanja encim preneha delovati. Nastanejo tako imenovani visokomolekularni mejni dekstrini. Fosforna kislina, ki je nekje vgrajena v molekulo škroba, deluje kot inhibitor encimov (Schuster in sod., 1990; Nelson in Cox, 2005).

Optimalna temperatura med procesom kaljenja ječmena za delovanje encima je 15 °C. Inaktivacija encima v vodni raztopini se pojavi pri 70 °C. S povečevanjem vsebnosti vode v ječmenu se povečuje tudi aktivnost encima. Encim je brez prisotnosti α -amilaze neučinkovit, saj α -amilaza cepi vezi makromolekule v sredini in β -amilazi pripravlja substrat, ki ga razgradi predvsem v maltozo (Phiarais in sod., 2005).

Nenamočena ajda ima za 90 % manjšo β -amilazno aktivnost v primerjavi s posušenim ajdovim sladom. Poročajo tudi, da v primerjavi s posušenim ječmenovim sladom, posušen ajdov slad vsebuje približno 40 % manj β -amilaze. Glede na to, da je β -amilaza toplotno labilen encim, so ugotovili, da na njegovo aktivnost pomembno vpliva temperatura sušenja slada (Phiarais in sod., 2005). Največja vsebnost β -amilaze v ajdovem sladju je bila določena peti dan kaljenja, pri temperaturi višji od 20 °C (Evans in sod., 1997; Wijngaard in sod., 2006).

Proteolitični encimi

V ječmenovem zrnju so dušikove snovi v največji meri v obliki visokomolekularnih beljakovin albuminov, globulinov, prolaminov in glutelinov. V času kaljenja proteolitični encimi razgradijo omenjene molekule do aminokislin. Razgradni produkti, ki preidejo v kalček, se porabljajo za gradnjo novih tkiv. Med pomembnejše proteolitične encime spadajo endo-peptidaze, ki hidrolizirajo beljakovinske verige na sredini in ekso-peptidaze, ki hidrolizirajo beljakovinske verige iz konca. Med kaljenjem razgradnja beljakovin dosega bistveno večji delež kot razgradnja škroba. S povečevanjem temperature se zmanjšuje aktivnost proteolitičnih encimov. Ker endosperm ajde vsebuje le 35 % vseh beljakovin, ječmenov pa od 80 do 90 %, proteolitična aktivnost v ajdi ni tako pomembna (Schuster in sod., 1990; Wijngaard in sod., 2005a; Phiarais in sod., 2005; Wijngaard in Arendt, 2006; McKay in sod., 2011).

Ostali encimi

H končnim lastnostim slada največ prispeva razgradnja celične stene, rezervnih beljakovin ter škroba. V času zaslajevanja se razgrajujejo tudi organski fosfati s pomočjo encimov fosfataz. Fosfataze so nespecifični encimi, ki delujejo na različne estre fosforjeve kisline. Fosfataze so prisotne v nativnem ječmenu, tekom kaljenja do šestega dne pa njihova aktivnost narašča (Schuster in sod., 1990; McKay in sod., 2011).

V ječmenu je prisotnih tudi okoli 2 % maščob, predvsem v obliki trigliceridov. V času kaljenja se njihova vsebnost zmanjšuje zaradi aktivnosti lipaz. Sinteza lipaz se povečuje s stopnjo namočenosti, daljšim časom kaljenja in višjo temperaturo kaljenja (Schuster in sod., 1990; Evans in sod., 1997; McKay in sod., 2011).

3 MATERIAL IN METODE

Magistrsko delo smo opravljali na Biotehniški fakulteti v Ljubljani na Katedri za tehnologije, prehrano in vino, Oddelka za živilstvo. Namen magistrskega dela je bil določiti vsebnost FK v dveh različnih sortah ajde (Darja in Pyra), ter v ajdovem sladu v različnih fazah procesa priprave ajdovega slada (namakanje ajdovih zrn, kaljenje ajdovih zrn in sušenje ajdovega slada).

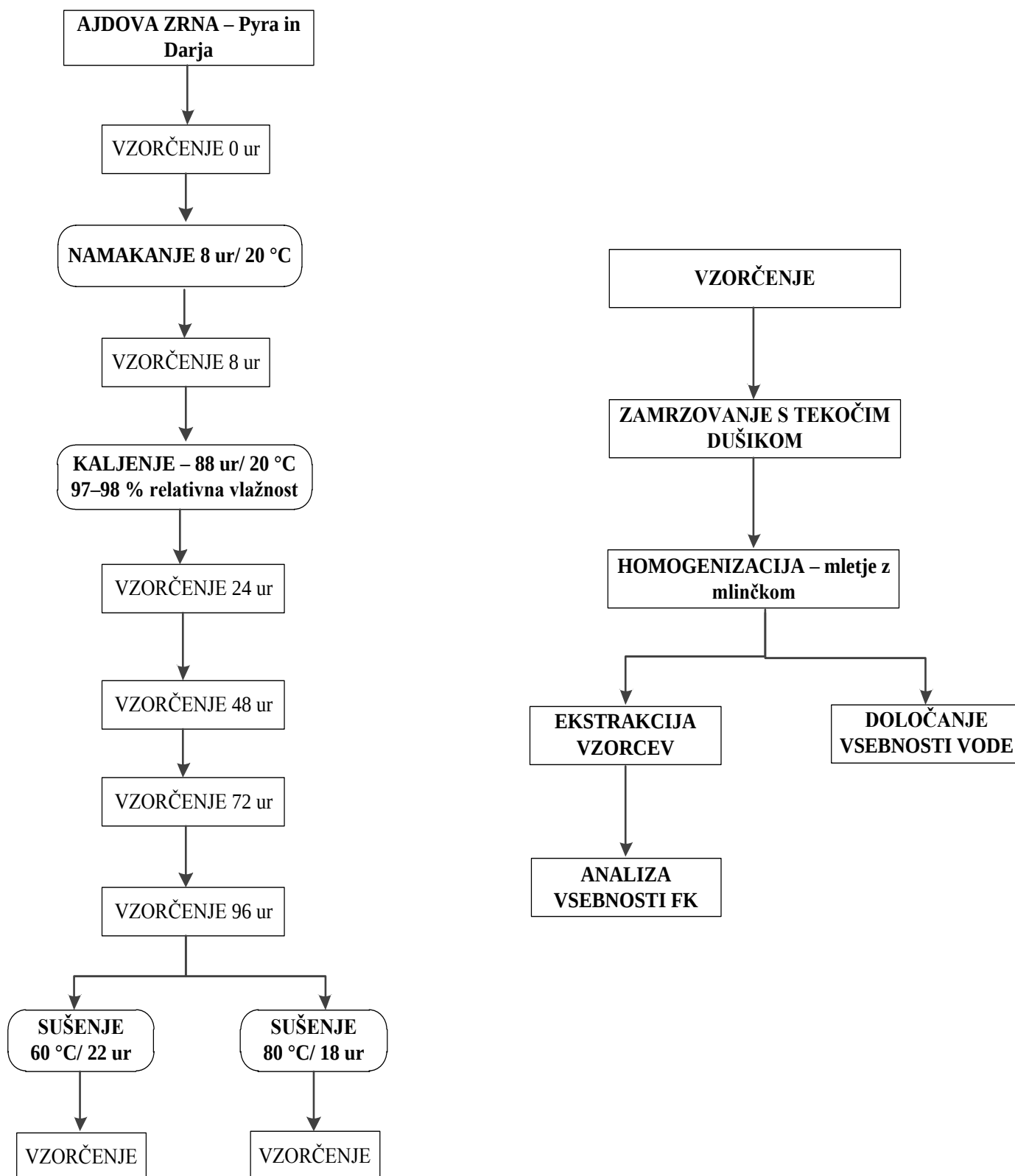
3.1 MATERIAL

Pri poskusu smo kot primarno surovino uporabili semena navadne ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench). Analizirali smo dve različni sorti ajde (Darja in Pyra). Semena sorte Darja smo kupili v Semenarni Ljubljana, semena sorte Pyra pa nam je podaril prof. dr. Ivan Kreft. Pred pričetkom poskusa so bila zrna ročno prebrana (odstranitev prisotnih nečistoč).

3.2 METODE DELA

Eksperimentalno delo smo razdelili na predposkus, v katerem smo optimizirali metodo za določanje FK, ter na glavni poskus, v katerem smo trikrat ponovili poskus priprave ajdovega slada.

Postopek priprave ajdovega slada smo pričeli z namakanjem ajdovih zrn, katera smo kasneje kalili v termostatisirani komori. Postopek kaljenja smo prekinili s sušenjem ajdovega slada. Poleg določanja vsebnosti FK smo v vzorcih določali še vsebnost vode, ter med kaljenjem z merjenjem dolžine kalčkov opazovali intenziteto kaljenja. Prve analize smo opravili na neobdelanih vzorcih ajdovih zrn, sledile so analize vzorcev po namakanju zrn, analize med postopkom kaljenja v različnih časovnih intervalih in analize v posušeni vzorcih ajdovega slada, ki smo jih posušili pri dveh različnih temperaturah. Na sliki 6 je shematsko prikazan potek našega poskusa.



Slika 6: Shema poskusa

3.2.1 Namakanje vzorcev

Pred namakanjem smo natehtali cca 500 g vsake sorte ajde in jo stresli v plastično posodo ter jo namakali v 4-kratni količini vode. Za namakanje smo uporabljali vodovodno vodo s temperaturo 20 °C. Faza namakanja je trajala 8 ur, z vmesnim vsako urnim prezračevanjem semen in menjavanjem vode.

Oprema in pribor:

- namizna tehtnica,
- plastična posoda za namakanje semen,
- plastično cedilo,
- termometer.

3.2.2 Kaljenje vzorcev

Po 8-ih urah smo vsako sorto namočene ajde razporedili na 2 perforirana kovinska pladnja in ju položili v termostatisirano komoro (slika 7), kjer smo vzdrževali temperaturo 20 °C in relativno vlago 97 do 98 %. Vsakih 24 ur smo pred vzorčenjem ajdo oz. slad na pladnjih previdno premešali in zamenjali pozicijo pladnjev v komori, da smo na vseh pladnjih čim bolj izenačili pogoje kaljenja. Pri vzorčenju smo preverili nastavljeno temperaturo v komori in izmerili dolžino kalčkov. Po vzorčenju smo preostalo ajdo oz. slad na pladnjih navlažili (popršili z vodo), da smo čim bolj optimizirali pogoje za kaljenje.

Oprema in pribor:

- perforirani kovinski pladnji,
- termostatisirana komora,
- žlička za mešanje vzorca,
- pršilka z vodo.



Slika 7: Vzorci ajde, pripravljeni za kaljenje

3.2.3 Sušenje ajdovega slada

Po 96-ih urah od začetka poskusa smo s sušenjem slada prekinili postopek kaljenja. Slad na vsakem pladnju smo razpolovili in polovično količino slada dali v sušilnik na temperaturo 60 °C za 22 ur, drugo polovico pa smo sušili na 80 °C 18 ur (slika 8). Po končanem sušenju smo na posušenih vzorcih opravili analize.

Oprema in pribor:

- sušilna omara Termoproc Sob 5250.135 PID.



Slika 8: Sušenje ajdovega slada

3.2.4 Vzorčenje ajde oz. slada med kaljenjem

3.2.4.1 Časovna razporeditev vzorčenja

Tekom našega poskusa smo ajdo oz. ajdov slad vzorčili 8-krat v naprej načrtovanih časovnih intervalih in sicer:

- **prvo vzorčenje:** ob času 0 h od začetka poskusa; vzorčenje neobdelane ajde pred namakanjem,
- **drugo vzorčenje:** po času 8 h od začetka poskusa; vzorčenje po 8-ih urah namakanja,
- **tretje vzorčenje:** po času 24 h od začetka poskusa; vzorčenje po 16-ih urah kaljenja,
- **četrto vzorčenje:** po času 48 h od začetka poskusa; vzorčenje po 40-ih urah kaljenja,

- **peto vzorčenje:** po času 72 h od začetka poskusa; vzorčenje po 64-ih urah kaljenja,
- **šesto vzorčenje:** po času 96 h od začetka poskusa; vzorčenje po 88-ih urah kaljenja,
- **sedmo vzorčenje:** vzorčenje posušenega slada na 60 °C/22 ur,
- **osmo vzorčenje:** vzorčenje posušenega slada na 80 °C/18 ur.

3.2.4.2 Vzorčenje

Material na vsakem pladnju smo pred vzorčenjem rahlo premešali, da smo zagotovili čim bolj homogen vzorec. S kovinsko žličko smo iz celotne površine pladnja v 50 ml čašo odvzeli cca 50 g vzorca in zaprli termostatisirano komoro. Po odvzemu vzorca smo izmerili dolžino kalčkov in čašo pokrili s parafilmom, da smo med nadaljnjo pripravo vzorca preprečili izhlapevanje vode iz vzorca. Slad na pladnjih smo po vzorčenju enakomerno poškropili z vodo in zaprli komoro.

3.2.5 Priprava (homogenizacija) vzorca za nadaljnje analize

3.2.5.1 Homogenizacija – mletje

Za lažjo homogenizacijo vzorca smo cca 25 g vzorca prenesli v terilnico in prelili s tekočim dušikom. Med zamrzovanjem smo vzorec ves čas mešali, da smo preprečili sprijemanje zrn in omogočili bolj učinkovito zamrzovanje. Ko je vzorec zamrznil, smo polovico vzorca prenesli v kavni mlinček in ga zmleli. Vzorec smo mleli 20 s, ustavili mlinček, vzorček v mlinčku rahlo pretresli in mleli še 5 s (slika 9). Zmlet vzorček smo prenesli v PE vrečko in jo zaprli, da smo preprečili izhlapevanje vode. Postopek homogenizacije smo ponovili še s preostalo količino vzorca. Del zmletega vzorca smo porabili za analizo določanja vsebnosti vode, preostali del pa za določanje vsebnosti FK.

Oprema in pribor:

- terilnica,
- žlička,
- kavni mlinček MKM6000 BOSCH®,
- PE vrečke.



Slika 9: Zamrzovanje in mletje vzorcev

3.2.6 Kemijske analize

3.2.6.1 Določanje vsebnosti vode

Pri nalogi smo tekom poskusa v vzorcih analizirali vsebnost FK. Za izražanje vrednosti na suho snov (SS) je bilo potrebno določiti tudi vsebnost vode v vzorcih, saj se je vsebnost vode v posameznih fazah priprave ajdovega slada precej razlikovala.

Princip metode: Vsebnost vode v ajdi in ajdovem sladu smo določali s sušenjem zmletega vzorca v sušilniku ter s tehtanjem vzorca pred in po sušenju.

Postopek: Vsebnost vode smo določali z gravimetrično metodo. V vnaprej pripravljene tehtnice (stehtane in čiste tehtnice, ki so bili pred tehtanjem vsaj za uro sušeni na 130 °C ter ohlajeni v eksikatorju), smo zatehtali cca 5 g homogeniziranega vzorca. Vzorce za določanje vsebnosti vode smo pripravljali v dveh paralelkah. Tehtnice z vzorci smo prenesli v sušilnik, odprli pokrovčke in jih 3 ure sušili na 105 °C. Posušene vzorce smo ohladili v eksikatorju in jih ponovno stehtali. Iz razlike v masi smo s pomočjo enačbe 1 določili delež vode w_{vode} (g/100 g) v vzorcu.

$$w_{\text{vode}} = \frac{m_{\text{vode}}}{m_{\text{vzorca}}} \times 100 \quad \dots (1)$$

w_{vode} vsebnost vode (g/100 g)

m_{vode}masa vode (g)

m_{vzorca}masa vzorca (g)

Oprema in pribor:

- analitska tehtnica AEA 220A Mettler Toledo,
- sušilna omara Termoproc Sob 5250.135 PID,
- stekleni tehtiči,
- spatula za tehtanje vzorca,
- klešče za prijemanje tehtičev.

3.2.6.2 Določanje fitinske kisline

Princip metode: Ekstrakcija FK iz vzorcev poteka s pomočjo klorovodikove kisline. Sledi obarjanje FK v razredčeni kisli raztopini. Metoda določanja FK temelji na indirektnem določanju, pri kateri se za obarjanje FK doda presežek raztopine železovega klorida, pri čemer nastanejo stabilni in netopni železo-fitatni kompleksi. Prebitek železovih ionov določamo spektrofotometrično. Vsebnost FK določimo posredno preko prebitnega železa v supernatantu.

Oprema in pribor:

- tehtnica AEA 220A (Mettler Toledo),
- tehtnica AB 204-S (Mettler Toledo),
- ultrazvočna kopel OMNILAB 950,
- centrifugirke (50 mL) (Eppendorf),
- centrifuga (Eppendorf 5810),
- centrifuga Eppendorf 5415C (Eppendorf),
- parafilm,
- stresalnik za epruvete – mini Vortexer VWR,
- vodna kopel,
- ependorfke (1,5 mL) (Eppendorf),
- spektrofotometer (Cecil CE 2021),
- avtomatske pipete Transferpette-Brand (Brand),
- steklene bučke, čaše, steklene epruvete, puhalke, kivete in druga orodja.

Reagenti in kemikalije:

- 0,2 M HCl,
- raztopina FeCl_3 v HCl,
 - 0,01 g FeCl_3 (Iron (III) chloride anhydrous for synthesis) (Merck),
 - dopolnimo do 100 mL z 0,2 M HCl,
- raztopina bipirimidina v HCl,
 - 1 g bipirimidina (2,2' bipyridine) (Merck),
 - 130 μL tioglikolne kisline (Merck),
 - dopolnimo do 100 mL z 0,2 M HCl
- standard fitinske kisline $\text{C}_6\text{H}_{16}\text{O}_{24}\text{P}_6\text{K}_2$ (Sigma-Aldrich).

Postopek:

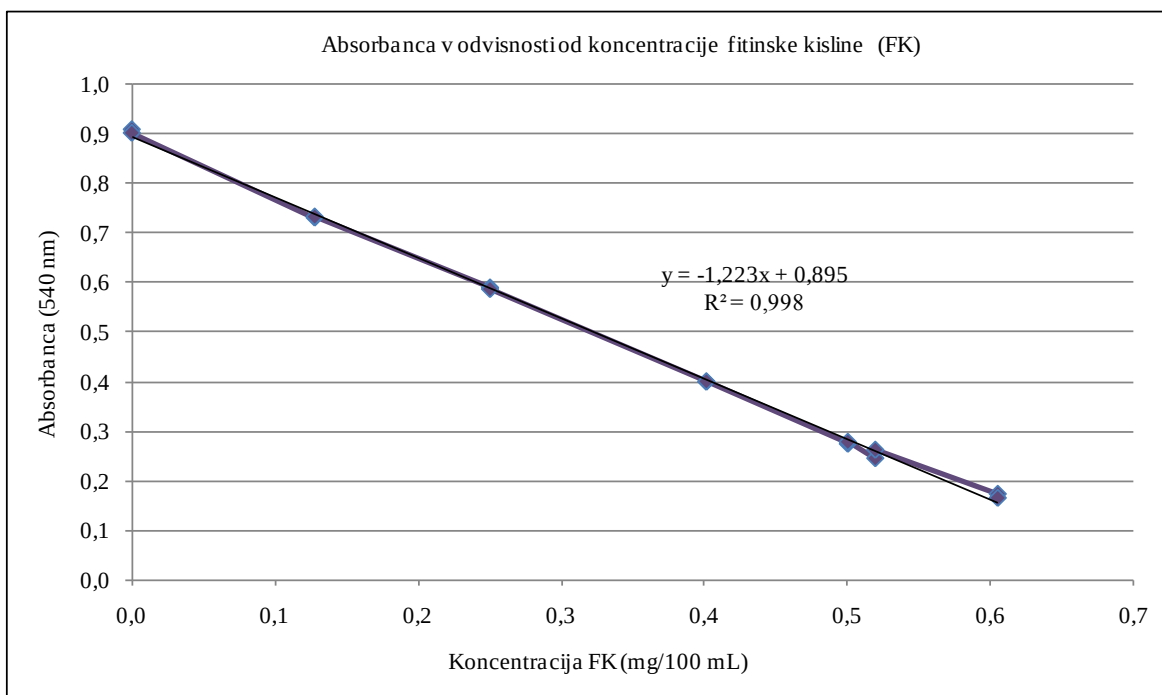
V 50 ml bučko smo odtehtali 2,5 g zmletga vzorca, dodali cca 25 mL 0,2 M HCl, zmes dobro premešali in dopolnili do oznake z 0,2 M HCl. Vzorce smo 2 uri ekstrahirali v ultrazvočni kopeli in jih vsakih 30 min rahlo pretresli, da smo izboljšali učinkovitost ekstrakcije. Vsak vzorec smo ekstrahirali v dveh paralelkah. Po končani 2-urni ekstrakciji smo vzorce prelili v 50 mL centrifugirke in centrifugirali 10 min pri 4.000 obratih/min. Po končanem centrifugiranju smo supernatant odlili v čašo in čašo zaradi preprečevanja izparevanja pokrili s parafilmom. Iz vsakega vzorca smo v stekleno epruveto odpipetirali 0,5 mL supernatanta, 2,0 mL destilirane vode in 5 mL raztopine železovega klorida. Vsebino epruvete smo pokrili s plastičnim zamaškom in dobro premešali s stresalcem za epruvete. Vzorčke smo s stojalom postavili v predhodno ogreto vodno kopel in jih segrevali 45 min na 100 °C. Po končanem segrevanju smo vzorce 15 min hladili na ledu. Ohlajene vzorce smo ponovno dobro premešali in vsebino s puhalkami prenesli v 1,5 mL ependorfke. Iz vsake epruvete smo vzorec prenesli v dve ependorfki. Vzorce smo centrifugirali 5 min pri 10.000 obratih/min. Po koncu centrifugiranja smo 0,4 mL supernatanta prenesli v novo ependorfko in dodali še 0,8 mL bipirimidina. Ependorfke smo dobro zaprli, premešali in jih pustili na sobni temperaturi 15 min. Po 15 min smo vzorce prelili v kivete in izmerili absorbanco pri 540 nm.

S pomočjo dobljenih vrednosti absorbance in iz enačbe umeritvene krivulje smo izračunali koncentracijo FK v vzorcu. Končni rezultat smo izrazili v g/100 g SS.

3.2.6.2.1 Priprava umeritvene krivulje

Prvi dan poskusa smo pripravili vse potrebne raztopine in s pripravljenimi reagenti pripravili umeritveno krivuljo za določanje FK.

V 25 mL bučkah smo pripravili standard FK sedmih različnih koncentracij FK. Različne koncentracije smo pripravljali s tehtanjem točno določene količine standarda FK (ekstrahirane iz riža) nato pa smo do oznake dopolnili z 0,2 M HCl. V steklene epruvete smo odpipetirali 0,5 mL standarda, 2,0 mL destilirane vode in 5,0 mL raztopine železovega klorida. Nadalje smo postopali enako kot pri postopku za določanje FK. Za vsako koncentracijo standarda smo pripravili dve paralelki.



Slika 10: Umeritvena krivulja za določanje vsebnosti FK

3.2.7 Vizualno spremljanje kaljivosti

Pri vsakem vzorčenju smo tudi vizualno spremljali kaljivost ajde ter z ravnilom izmerili dolžino kalčkov (slika 11). Povprečna dolžina kalčkov je podana na osnovi 10 izmerjenih dolžin kalčkov.



Slika 11: Merjenje dolžine kalčka

3.2.8 Statistična analiza

Rezultate v nalogi smo uredili z računalniškim programom Excel. S pomočjo programa smo podatke numerično prikazali kot povprečne vrednosti s standardnimi deviacijami. S programom smo rezultate prikazali tudi grafično in tabelarično.

4 REZULTATI

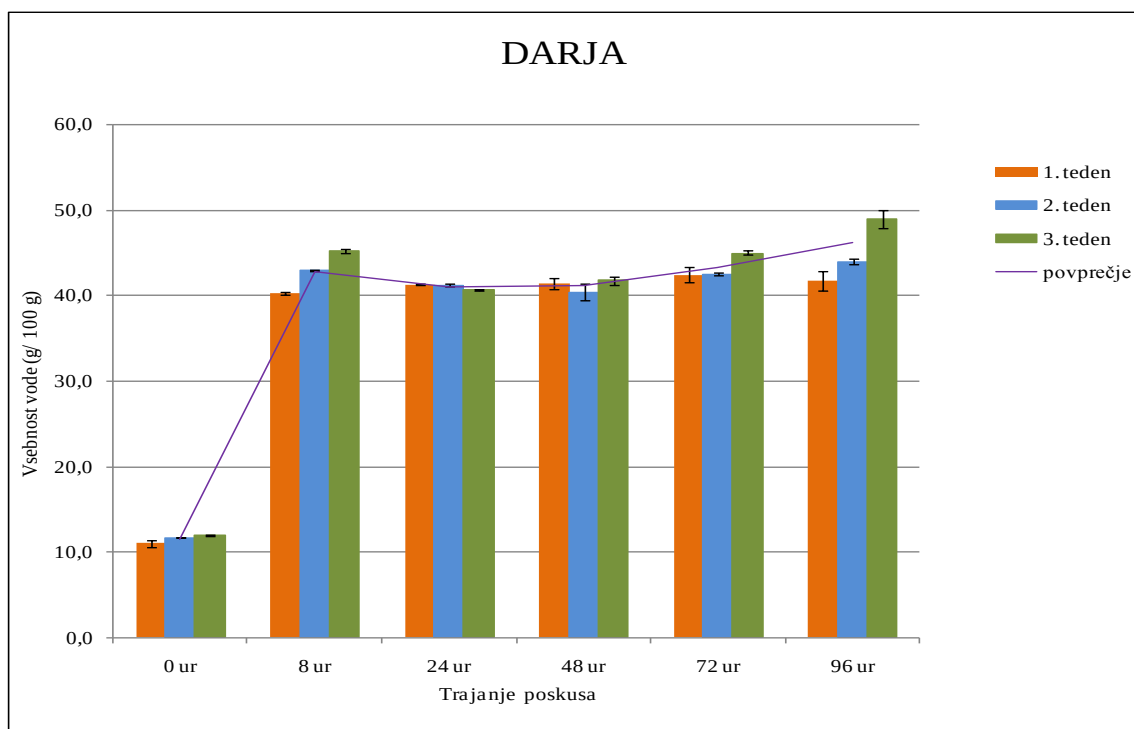
Eksperimentalni del magistrske naloge je obsegal analize vsebnosti vode in FK ter merjenje dolžine kalčkov med poskusom priprave ajdovega slada. Kot primarni surovini smo uporabljali dve sorti ajde.

V prvem delu našega poskusa smo želeli čim bolj optimizirati metodo za določanje FK in posledično s primernimi koncentracijami pridobiti čim bolj linearno premico umeritvene krivulje.

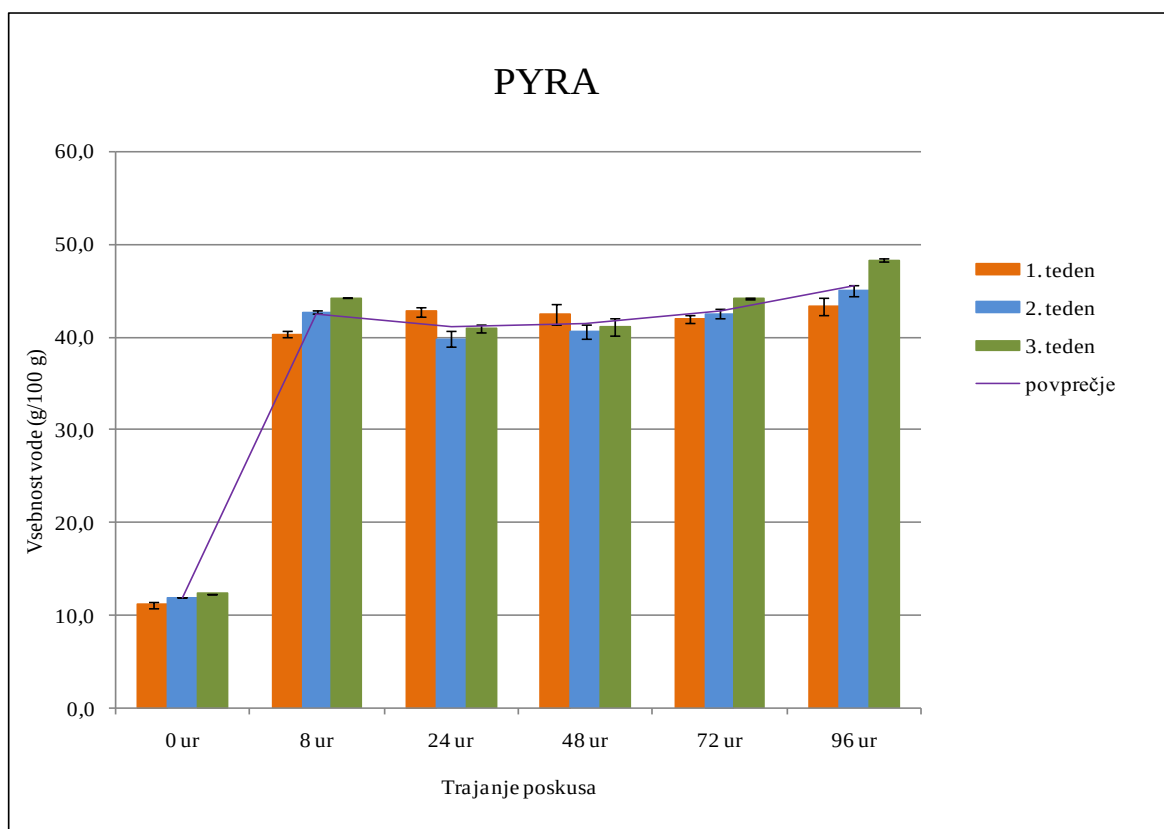
Poskus kaljenja ajde in določanja vsebnosti FK v različnih fazah priprave ajdovega slada smo ponovili štirikrat. V prvem poskusu priprave ajdovega slada smo zaradi spremenljivih pogojev izvedbe in odstopanj pri pripravi vzorcev dobili neustrezne rezultate. Poskus smo nato izvedli še trikrat (tri ponovitve) pri optimiziranih pogojih izvedbe in priprave vzorcev. Vse faze priprave ajdovega slada so skupaj trajale približno en teden. V nalogi so predstavljeni rezultati treh ponovitev oz. treh tednov poskusov.

4.1 VSEBNOST VODE V AJDI IN AJDOVEM SLADU

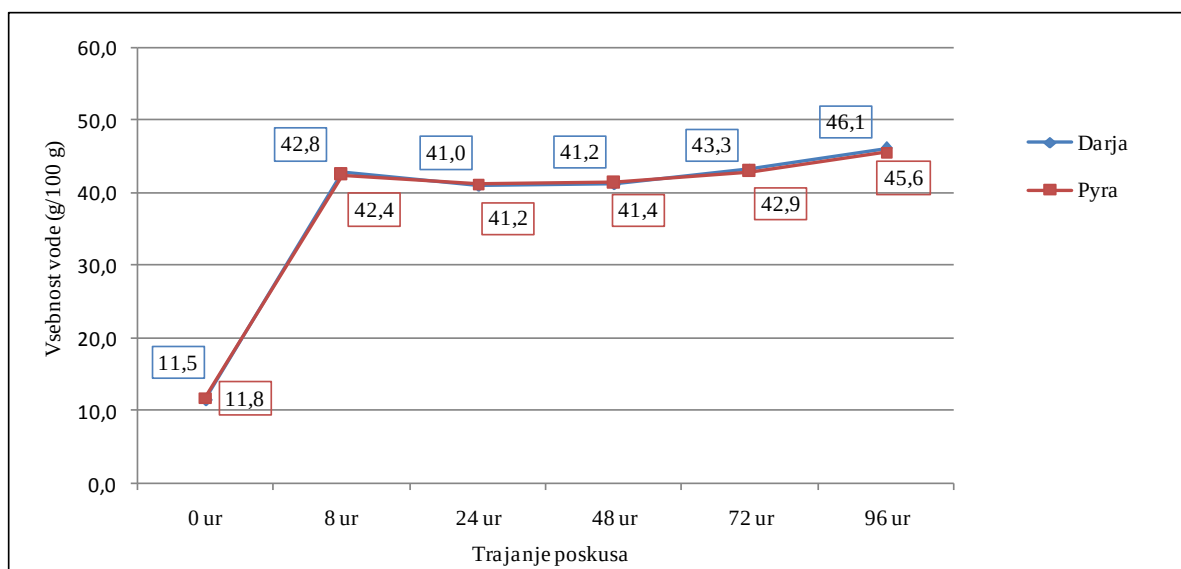
Za izražanje vsebnosti FK v g/100 g SS smo morali v vseh vzorcih, v vseh fazah poskusa določiti vsebnost vode. Na slikah 12 do 14 so prikazane vsebnosti vode v vseh treh tednih med postopkom priprave ajdovega slada (brez zadnje faze, faze sušenja).



Slika 12: Vsebnost vode (g/100 g) med poskusom priprave ajdovega slada pri sorti Darja



Slika 13: Vsebnost vode (g/100 g) med poskusom priprave ajdovega slada pri sorti Pyra

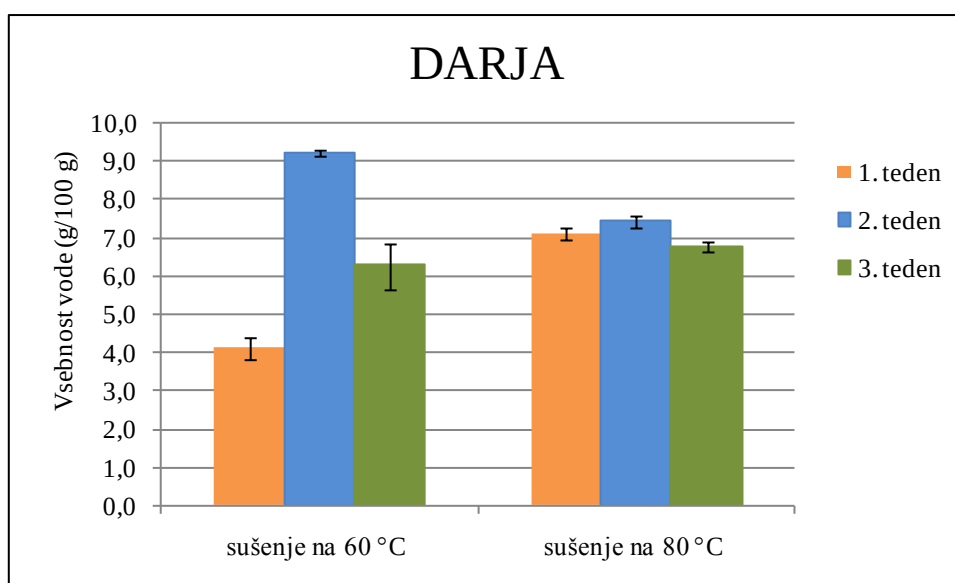


Slika 14: Prikaz povprečnih vsebnosti vode (g/100 g) obeh sort ajde med poskusom priprave ajdovega slada

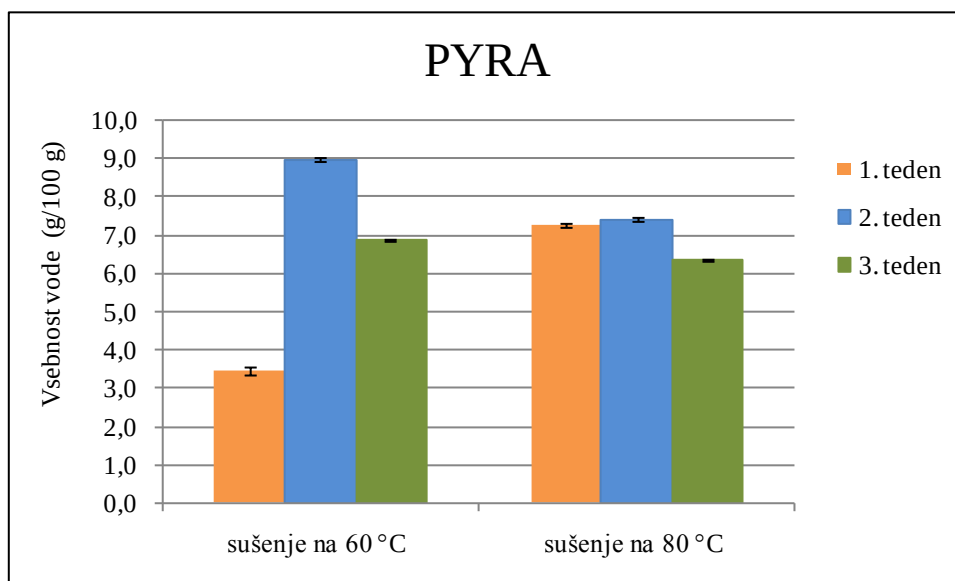
Na sliki 12 oz. sliki 13 so prikazane vsebnosti vode v sorti Darja oz. Pyra v posameznih fazah poskusa priprave ajdovega slada. Trije stolpci pri vsaki časovni enoti prikazujejo povprečne vsebnosti vode v treh tednih poskusa. Za obe sorti je na sliki 14 prikazana tudi povprečna vsebnost vode v vseh treh tednih poskusa.

Najmanjša vsebnost vode določena v obeh sortah ajde je bila določena v neobdelanih zrnih ajde, na začetku poskusa. Povprečna vsebnost vode v ajdi sorte Darja je znašala 11,5 g/100 g, v ajdi sorte Pyra pa 11,8 g/100 g. Pričakovano je vsebnost vode po 8-urnem namakanju na 20 °C, narasla na 42,8 g/100 g v ajdi sorta Darja, oz. na 42,4 g/100 g v ajdi sorte Pyra. Po prestavitvi ajdovih zrn v termostatisirano komoro se je vsebnost vode rahlo zmanjšala, kar je razvidno tudi s slike 14. Po 72-ih urah od začetka poskusa je bila povprečna vsebnost vode v obeh sortah primerljiva povprečni vsebnosti vode v ajdi po namakanju, slad sorte Darja je v povprečju vseboval 43,3 g vode/100 g, slad sorte Pyra pa 42,9 g/100 g. V nadaljevanju poskusa, po 96-ih urah od začetka poskusa, se je vsebnost vode v sladuh obeh sort še nekoliko povečala, slad sorte Darja je v povprečju vseboval 46,1 g vode/100 g, slad sorte Pyra pa 45,6 g/100 g. Vsebnost vode v kalečih zrnih je med poskusom nekoliko nihala, najverjetneje zaradi vlaženja s pršenjem z vodo po vsakem vzorčenju. S slike 14 je razvidno, da se povprečne vsebnosti vode tekom poskusa priprave ajdovega slada med sortama ajde niso bistveno razlikovale.

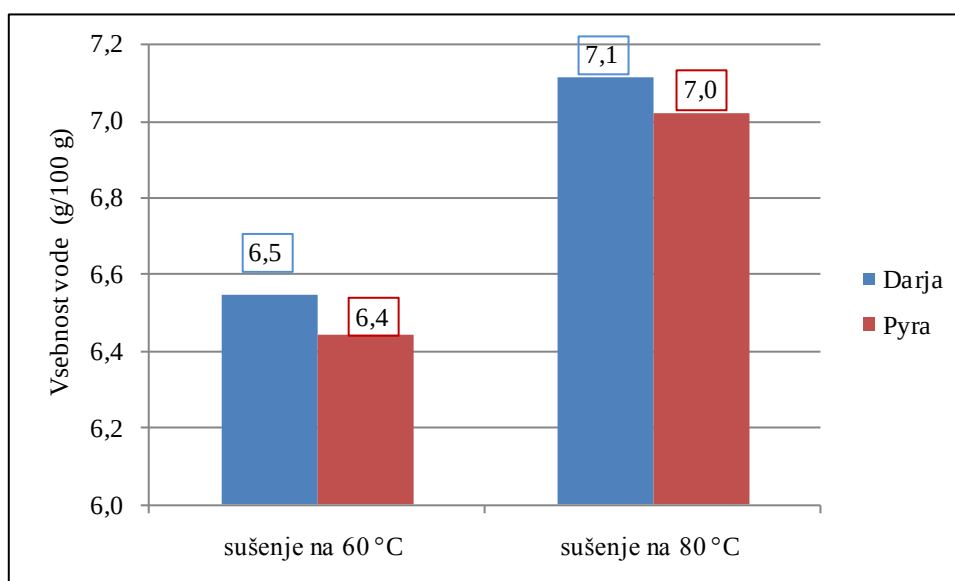
Postopek kaljenja smo prekinili s sušenjem ajdovega slada na 60 °C oz. na 80 °C. Z namenom doseganja vsebnosti vode okrog 6 g/100 g smo ajdov slad sušili pri dveh različnih temperaturah in različnih časih in sicer, 18 ur na 80 °C oz. 22 ur na 60 °C. Med sušenjem pri različnih temperaturah smo opazovali kako sušenje vpliva na vsebnost FK v ajdovem sladuh. S slik 15, 16 in 17 so razvidne vsebnosti vode v posušenem ajdovem sladuh.



Slika 15: Vsebnost vode (g/100 g) v ajdovem sladuh sorte Darja po sušenju



Slika 16: Vsebnost vode (g/100 g) v ajdovem sladu sorte Pyra po sušenju

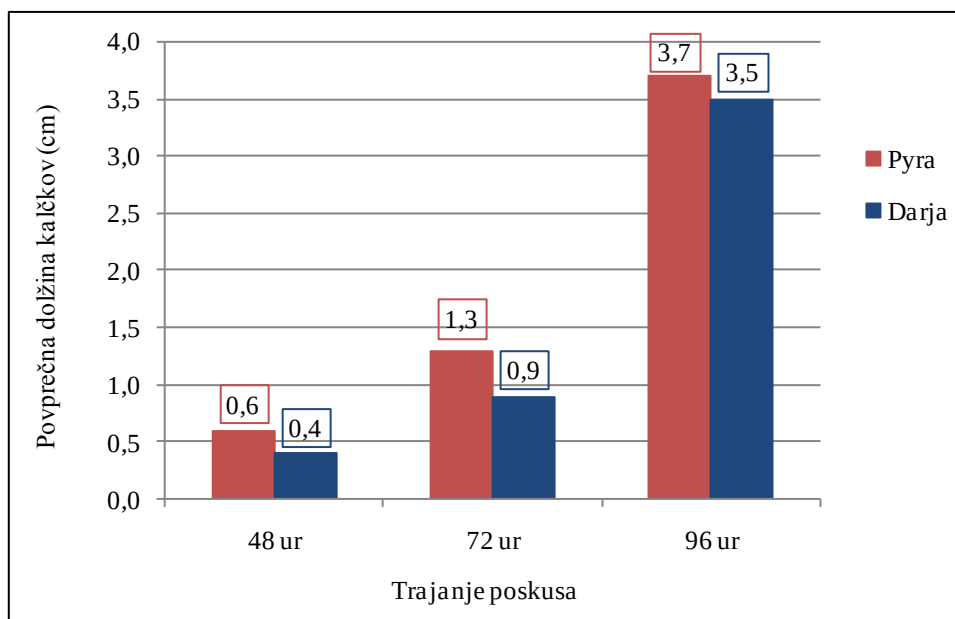


Slika 17: Povprečne vsebnosti vode (g/100 g) v ajdovem sladu sorte Pyra in Darja po sušenju

S slike 17 je razvidno, da sta tudi po sušenju na 60 °C oz. 80 °C ajdova slada obeh sort ajde vsebovala primerljive vsebnosti vode. Ajdov slad sorte Darja je po sušenju na 60 °C v povprečju vseboval 6,5 g vode/100 g, ajdov slad sorte Pyra pa 6,4 g/100 g. Podobno je po sušenju na 80 °C ajdov slad sorte Darja vseboval zanemarljivo večjo povprečno vsebnost vode v primerjavi z ajdovim sladom sorte Pyra, in sicer 7,1 g/100 g, medtem ko je ajdov slad sorte Pyra v povprečju vseboval 7,0 g vode/100 g.

4.2 DOLŽINA KALČKOV

Postopek kaljenja ajdovih zrn smo izvajali v termostahirani komori pri 20 °C. Zrna ene sorte ajde so bila razporejena na dveh pladnjih. Ob vsakem vzorčenju za analizi smo zrna še vizualno pregledali, od prvih opaženih kalčkov pa smo dolžine kalčkov tudi merili. Povprečne dolžine kalčkov obeh sort ajde so razvidne s slike 18.



Slika 18: Povprečna dolžina kalčkov (cm) med kaljenjem za obe sorti ajde

Po 20-ih urah kaljenja na 20 °C so se pri obeh vrstah ajde pri nekaterih zrnih pojavile razpoke (slika 19). Prvi kalčki na zrnih obeh sort ajde so bili opaženi po 48-ih urah od začetka poskusa (slika 20). Pri sorti Pyra je bila dolžina kalčka od 0,5 cm do 0,7 cm, pri sorti Darja pa so bili kalčki nekoliko krajši, in sicer od 0,3 cm do 0,5 cm. Dolžina kalčkov po 72-ih urah (slika 21) od začetka poskusa pri sorti Darja je znašala od 0,5 cm do 1,0 cm, pri sorti Pyra pa je znašala dolžina kalčkov do 1,5 cm. Po 96-ih urah od začetka poskusa (slika 22) smo pri sorti Darja izmerili dolžino kalčkov od 3,0 do 3,5 cm pri sorti Pyra pa so bili kalčki dolgi do 4,0 cm.



Slika 19: Ajdova zrna po 24-ih urah od začetka poskusa



Slika 20: Prvi opaženi kalčki po 48-ih urah od začetka poskusa



Slika 21: Ajdov slad po 72-ih urah od začetka poskusa



Slika 22: Ajdov slad po 96-ih urah od začetka poskusa (poleg kalčkov vidna tudi plesen)

4.3 VSEBNOST FITINSKE KISLINE

4.3.1 Predposkus

Pri pregledu literature smo ugotovili, da različni avtorji za analizo vsebnosti FK, navajajo različne koncentracije raztopine HCl in raztopine FeCl₃.

Namen prvega dela našega poskusa je bil, s pomočjo umeritvene krivulje, določiti optimalne koncentracije omenjenih reagentov.

Iz preglednice 11 je razvidno kakšne koncentracije raztopine FeCl₃ smo uporabljali za pripravo umeritvene krivulje. Kot topilo smo uporabljali 0,20 M HCl oz. 0,40 M HCl.

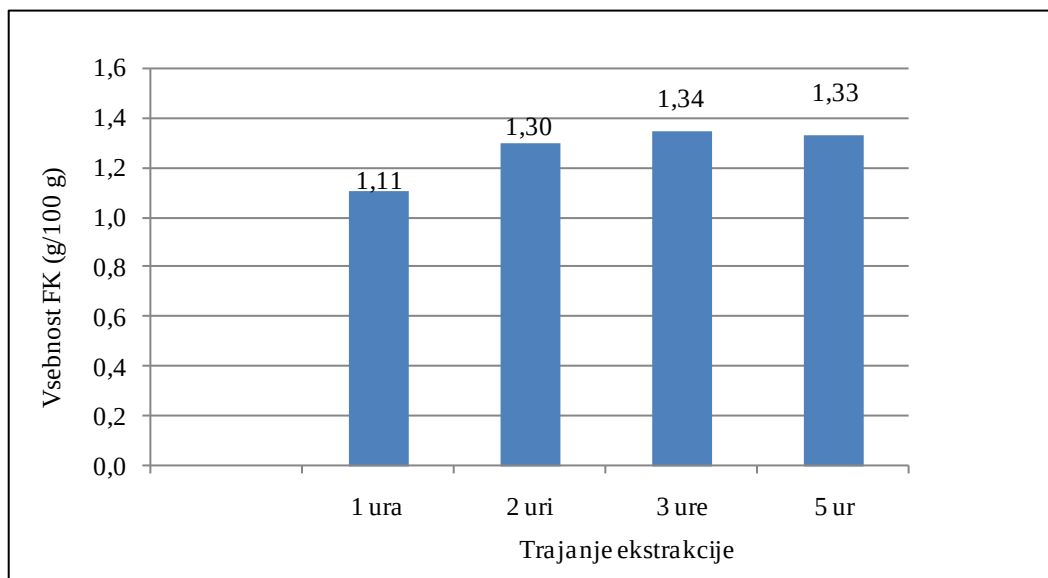
Preglednica 11: Podatki za pripravo posameznih raztopin FeCl₃

Zatehta FeCl₃ (g/100 ml topila)	Topilo HCl (M)
0,0025	0,20
0,01	0,20
0,02	0,20
0,02	0,20
0,03	0,20
0,04	0,20
0,05	0,20
0,10	0,20
0,01	0,40

Kot najprimernejša koncentracija za raztopino FeCl₃ se je izkazala zatehta 0,01 g FeCl₃/100 ml 0,2 M HCl. Pri ostalih zatehtah ni bilo zaznati ustreznega obarvanja, saj so bili vzorci kljub različnim koncentracijam standarda podobno obarvani. Omenjeno smo potrdili tudi z merjenjem absorbance pri 540 nm, kjer kljub različnim koncentracijam standarda, ni bilo zaznati bistvenih razlik v vrednosti absorbance oz. so bile izmerjene absorbance nesmiselne glede na koncentracije standarda. Po določenih optimalnih koncentracijah reagentov in izdelavi natančne umeritvene krivulje smo pričeli z določanjem FK v različnih vzorcih. Ker smo imeli največ izkušenj z izdelki iz pšenice – moka in kruh, smo pričeli analize izvajati na omenjenih vzorcih. Po dobljenih rezultatih, ki so bili primerljivi z vrednostmi v literaturi je sledilo določanje FK v vzorcih ajde.

Po pregledu literature smo ugotovili, da različni avtorji uporabljajo različne čase ekstrakcije, zato smo si zastavili plan, da poskusimo z 1-urno, 2-urno, 3-urno in 5-urno ekstrakcijo vzorcev ajdovih zrn sorte Darja. Vzorce smo pripravljali po enakem postopku, le časi ekstrahiranja v ultrazvočni kopeli so bili različni. Kot je razvidno s slike 23, smo po

opravljenih analizah ugotovili, da smo po 1-urni ekstrakciji določili manjše vsebnosti FK, vsebnosti FK določene po 2-urni, 3-urni oz. 5-urni ekstrakciji pa se niso bistveno razlikovale. Iz ugotovljenega smo zaključili, da bomo v postopku naše analize izvajali 2-urne ekstrakcije vzorcev, saj nam zaradi časovno zamudne analize določanja FK ne bi uspelo ustrezno časovno izvesti poskusa, če bi se odločili za daljše ekstrahiranje.

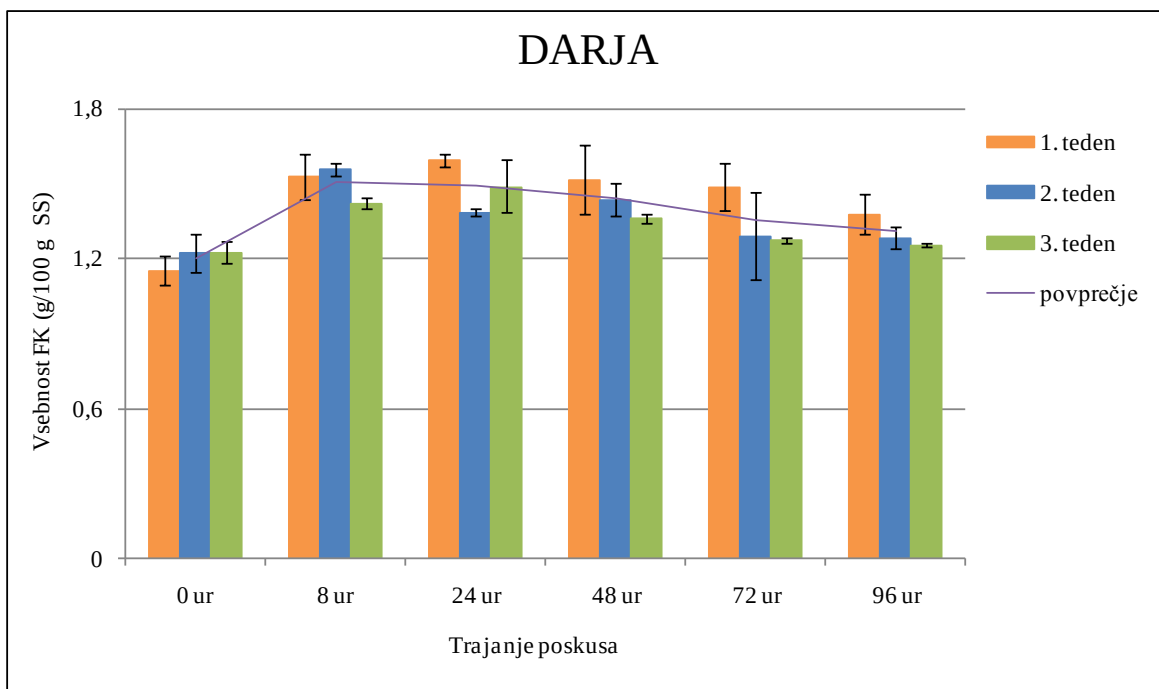


Slika 23: Vsebnost FK v ajdi sorte Darja pri različnih časih ekstrakcije

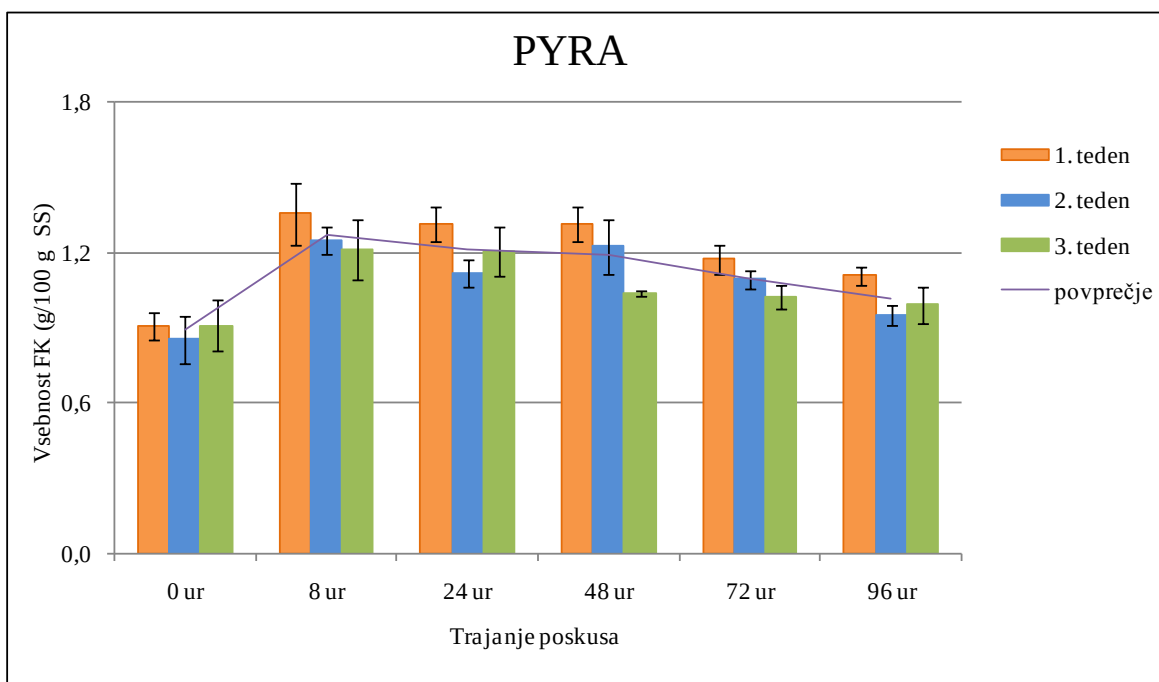
Po predposkusu smo nadaljevali z načrtovanim poskusom in analizami v različnih fazah zaslajevanja ajde.

4.3.2 Glavni poskus - določanje vsebnosti fitinske kisline

Vsebnost FK v obeh sortah ajde smo določali pred namakanjem, po 8-ih urah namakanja, v različnih fazah kaljenja (po 24-ih urah, 48-ih urah, 72-ih urah in 96-ih urah od začetka poskusa) in po sušenju pri dveh temperaturah (60 °C in 80 °C). Vsebnost FK smo določali spektrofotometrično in jo izrazili v g/100 g suhe snovi. Rezultati določanja vsebnosti FK so prikazani na slikah 24 do 31.

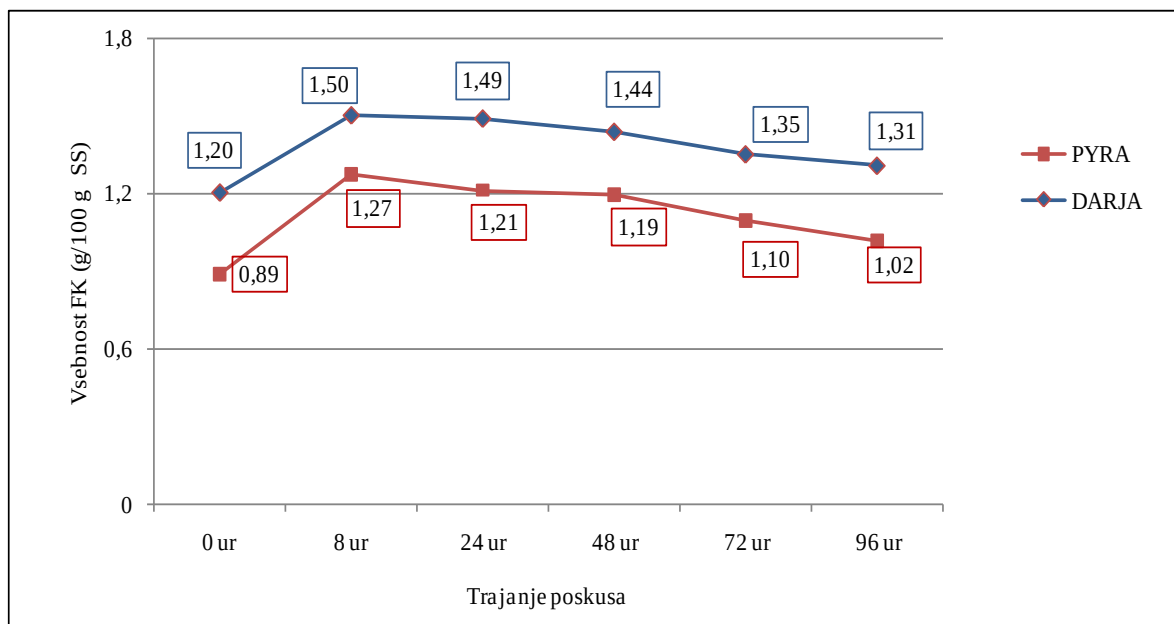


Slika 24: Vsebnost FK (g/100 g SS) v ajdi sorte Darja tekom celotnega poskusa



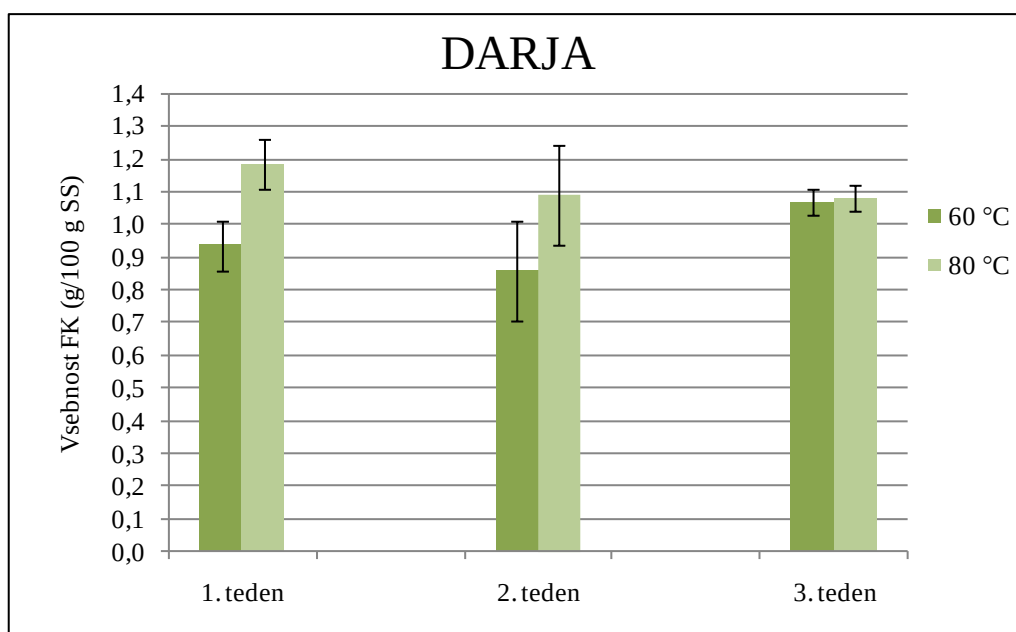
Slika 25: Vsebnost FK (g/100 g SS) v ajdi sorte Pyra tekom celotnega poskusa

Na slikah 24 in 25 so prikazane povprečne vsebnosti FK v vseh treh tednih poskusa priprave ajdovega slada. S slik je razvidno, da je bila tako v sorti Darja kot v sorti Pyra, najmanjša vsebnost FK (če ne upoštevamo faze sušenja) določena v neobdelanih zrnih ajde. V ajdovih zrnih sorte Darja in sorte Pyra je bila največja vsebnost FK določena po 8-urnem namakanju zrn v vodi s temperaturo 20 °C.

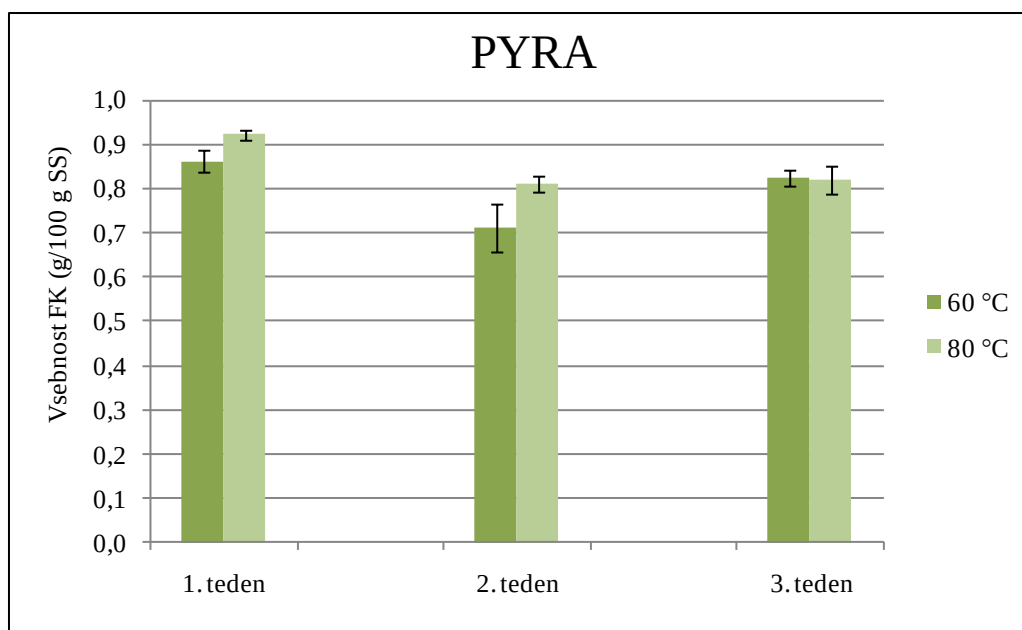


Slika 26: Primerjava povprečnih vsebnosti FK (g/100 g SS) v obeh sortah ajde tekom poskusa

S slike 26 so razvidne povprečne vsebnosti FK v vseh treh tednih poskusa. Kot že rečeno, je bila največja vsebnost FK v obeh sortah ajde določena po 8-ih urah namakanja, nato pa se je vsebnost FK tekom postopka kaljenja zmanjševala. Na sliki 26 je prikazano, da se je vsebnost FK v sorti Darja iz povprečne začetne vsebnosti 1,20 g FK/100 g SS po namakanju povečala na 1,50 g FK/100 g SS, kar predstavlja 25 % povečanje vsebnosti FK (slika 30). V ajdi sorte Pyra smo v neobdelanih zrnih ajde določili povprečno vsebnost FK 0,89 g/100 g SS. S slike 26 je razvidno, da se je po namakanju povprečna vsebnost FK povečala na 1,27 g/100g SS, kar je za 43 % več kot v neobdealnih vzorcih (slika 31). V nadaljevanju poskusa se je zaradi delovanja fitaze vsebnost FK do prekinitve kaljenja nekoliko zmanjševala. Po 16-ih urah kaljenja (po 24-ih urah poskusa) se, glede na vsebnost FK po namakanju, vsebnost FK v obeh sortah ajde skoraj ni spremenila. V ajdi sorte Darja smo določili povprečno vsebnost 1,49 g FK/100 g SS, v ajdi sorte Pyra pa 1,21 g FK/100 g SS. V nadaljevanju poskusa, po 40-ih urah kaljenja (po 48-ih urah poskusa), se je vsebnost FK v obeh sortah ajde zmanjševala. Ajda sorte Darja je v povprečju vsebovala 1,44 g FK/100 g SS, ajda sorte Pyra pa 1,19 g FK/100 g SS. Po 64-ih urah kaljenja (po 72-ih urah od začetka poskusa) smo v ajdi sorte Darja določili povprečno vsebnost 1,35 g FK/100 g SS, v ajdi sorte Pyra pa 1,10 g FK/100 g SS. Pred prekinitvijo procesa kaljenja, po 88-ih urah kaljenja (po 96-ih urah od začetka poskusa) je ajdov slad sorte Darja v povprečju vseboval 1,31 g FK/100 g SS, ajdov slad sorte Pyra pa 1,02 g FK/100 g SS.

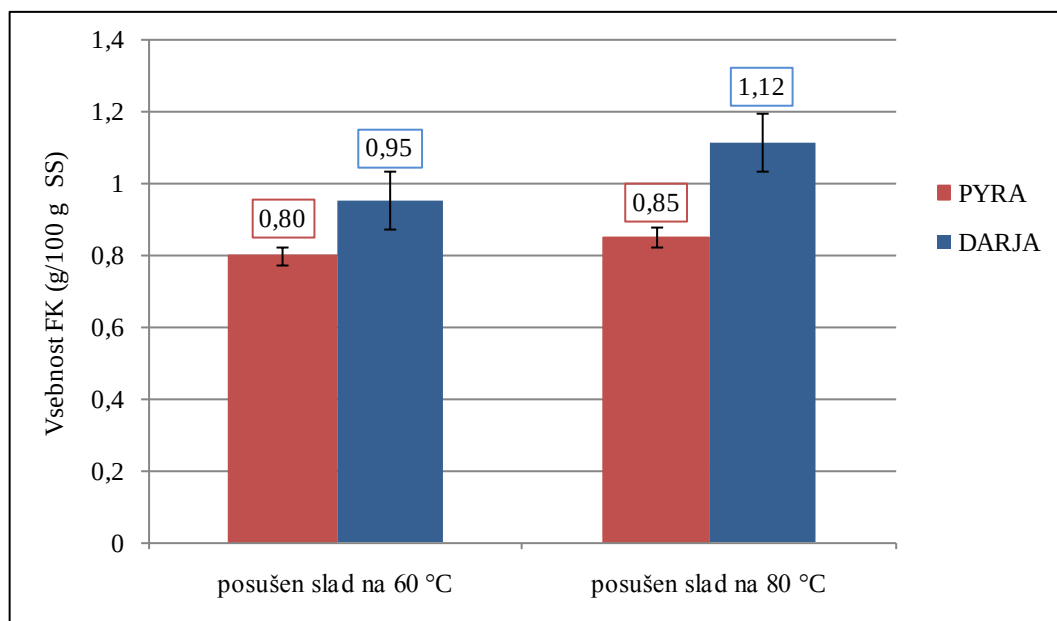


Slika 27: Vsebnost FK (g/100 g SS) v posušenem ajdovem sladu sorte Darja



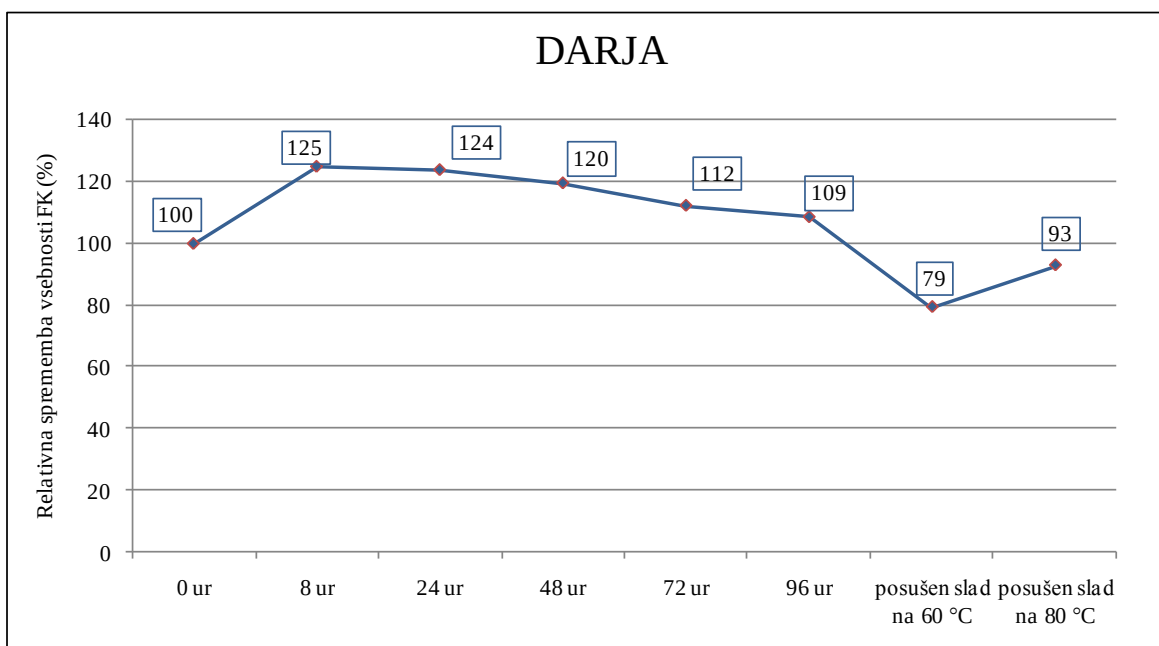
Slika 28: Vsebnost FK(g/100 g SS) v posušenem ajdovem sladu sorte Pyra

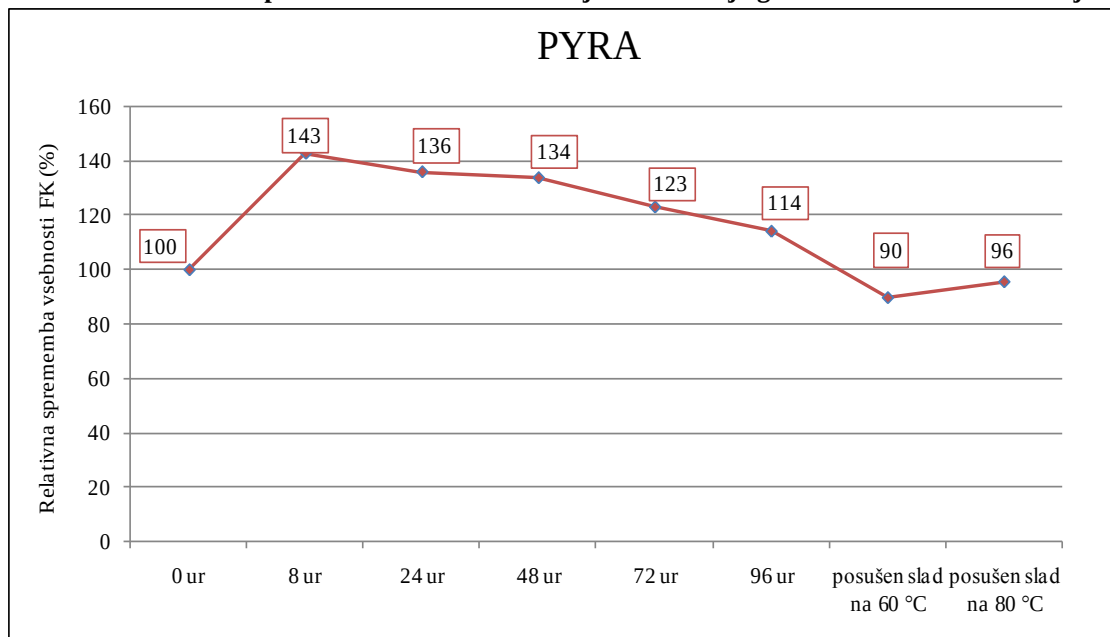
Na slikah 27 in 28 so prikazane povprečne vsebnosti FK v ajdovem sladu po postopku sušenja.



Slika 29: Povprečne vsebnosti FK v posušenem ajdovem sladu obeh sort ajde pri obeh temperaturah sušenja

S slike 29 so razvidne povprečne vsebnosti FK v ajdovem sladu po 22-urnem sušenju na 60 °C oz. po 18-urnem sušenju na 80 °C. V našem poskusu je bila najmanjša vsebnost FK določena v posušenem ajdovem sladu, ki se je sušil 22 ur na 60 °C. Povprečna vsebnost je znašala 0,95 g FK/100 g SS za slad sorte Darja, kar je za 21 % (slika 30) manj kot v neobdelanih zrnih ajde, oz. 0,80 g FK/100 g SS za slad sorte Pyra, kar je za 10 % (slika 31) manj kot v neobdelanih zrnih ajde na začetku poskusa. Po sušenju na 80 °C je ajda sorte Darja v povprečju vsebovala 1,12 g FK/100 g SS, ajda sorte Pyra pa 0,85 g FK/100 g SS.



Slika 30: Relativna sprememba vsebnosti FK v ajdi sorte Darja glede na vsebnost v surovi ajdi**Slika 31: Relativna sprememba vsebnosti FK v ajdi sorte Pyra glede na vsebnost v surovi ajdi**

Na slikah 30 in 31 so prikazane povprečne relativne spremembe vsebnosti FK, glede na vsebnost FK v neobdelanih zrnih ajde. Med celotnim postopkom kaljenja se je, glede na vsebnost FK po namakanju, v našem poskusu vsebnost FK zmanjšala za 13 % v ajdi sorte Darja in za 20 % v ajdi sorte Pyra.

S slike 26, kjer so prikazane povprečne vsebnost FK v ajdi obeh sort, je razvidno, da je ajda sorte Darja v primerjavi z ajdo sorte Pyra skozi celoten poskus vsebovala od 18 % do 30 % večje vrednosti FK.

5 RAZPRAVA

Z raziskavo smo želeli ugotoviti kako zaslajevanje vpliva na vsebnost FK v ajdi oz. ajdovem sladu. Med procesom kaljenja se zaradi aktivacije encimov v zrnju žita dogajajo biokemijske spremembe. Poleg ostalih skupin encimov (citolitični encimi, amilolitični encimi, proteolitični encimi in drugi) so med kaljenjem aktivne tudi fitaze, ki razgrajujejo FK. S postopnim odstranjevanjem anorganskih ortofosfatov iz molekule FK, hidrolizirajo FK na nižje inozitol fosfate.

Pričakovali smo, da bo največja vsebnost FK določena v neobdelanih vzorcih, vendar je naš poskus pokazal drugače.

5.1 VSEBNOST VODE V AJDI IN AJDOVEM SLADU

Na absorpcijo vode vpliva več dejavnikov, med drugim tudi velikost zrna, oblika zrna, vsebnost dušika in vsebnost vode pred začetkom namakanja (Brookes in sod., 1976). Ogushi in sod. (2002) so ugotovili, da na količino absorbirane vode med procesom namakanja vpliva struktura endosperma, vsebnost škroba, vsebnost beljakovin in lastnosti celične stene.

V našem poskusu (ob neupoštevanju faze sušenja ajdovega slada) je bila pričakovano najmanjša vsebnost vode določena v neobdelanih zrnih ajde, na začetku poskusa. Ajda sorte Darja je vsebovala 11,5 g vode/100 g, ajda sorte Pyra pa 11,8 g vode/100 g. Določena vsebnost vode v obeh sortah ajde je primerljiva z rezultati študije, ki so jo objavili Winjgaard in sod. (2005b), kjer so v navadni ajdi določili vsebnost vode 11,73 g /100 g, po 13-ih urah namakanja pa se je vsebnost vode povečala na 40,02 g/100 g. V eni izmed študij so Winjgaard in sod. (2006) po 96-ih urah kaljenja v navadni ajdi določili 41,4 g vode/100 g. Rezultati naše študije so primerljivi z rezultati nekaterih prej objavljenih študij. Mrak (2014) je po 8-ih urah namakanja pri 20 °C v ajdi sorte Pyra določila vsebnost vode 43,1 g/100 g in v ajdi sorte Darja 44,0 g/100 g. Omenjene vsebnosti vode so primerljive z našimi rezultati, kjer smo za ajdo sorte Darja po 8-ih urah namakanja določili povprečno vsebnost vode 42,8 g/100 g ter za ajdo sorte Pyra 42,4 g/100 g. Dosežena vsebnost vode v namočeni ajdi obeh vrst je primerna za nadaljnji proces kaljenja, saj je objavljeno, da je za aktivno kaljenje potrebna vsebnost vode vsaj 38 g/100 g (Schuster in sod., 1990). Podobno ugotavljajo Winjgaard in sod. (2005a), da je za kakovosten slad ustrezna vsebnost vode od 35 do 40 g/100 g.

Količina absorbirane vode je odvisna tudi od velikosti zrna (Schuster in sod., 1990). V manjših semenih se hitreje povečuje vsebnost vode. Omenjena trditev je dokazana s poskusom določanja vsebnosti vode v ajdovem in ječmenovem zrnju. V študiji so za končno vsebnost vode 45 g/100 g pri zrnih ajde potrebovali 80-urno namakanje, kar je 10-

krat daljši čas v primerjavi z našim poskusom. Za enako vsebnost vode v ječmenu so potrebovali 120-urno namakanje zrn. Ajdova zrna so v primerjavi z ječmenovimi zrnji manjša, saj dosegajo velikosti od 4 do 6 mm, ječmenova zrna pa so velikosti od 6 do 12 mm in posledično počasneje absorbirajo vodo (Winjgaard in sod., 2005b). Z omenjenimi dejstvi lahko obrazložimo nekoliko večjo vsebnost vode tekom celotnega poskusa v sorti Darja, saj so ajdova zrna sorte Darja manjša od zrn sorte Pyra.

V nadaljevanju poskusa, med postopkom kaljenja, smo z vsakodnevnim pršenjem po vzorčenju, vzdrževali dokaj konstantno vsebnost vode. Postopek kaljenja smo prekinili s sušenjem ajdovega slada. Po 22-urnem sušenju na 60 °C je ajdov slad sorte Darja vseboval 6,5 g vode/100 g, slad sorte Pyra pa 6,4 g vode/100 g. Po 18-urnem sušenju na 80 °C je slad vseboval nekoliko več vode, in sicer je slad sorte Darja v povprečju vseboval 7,1 g vode/100 g, slad sorte Pyra pa je v povprečju vseboval 7,0 g vode/100 g. Določene vsebnosti vode so primerljive z vrednostmi, določenimi v študiji Phiarais in sod. (2005), kjer so pri 48-urnem sušenju ajdovega slada na 40 °C, določili vsebnost vode 5 g/100 g. Nekoliko večjo vsebnost vode v sladu, sušenem na 80 °C, lahko pripišemo nekoliko krajšemu času sušenja, saj smo slad na 80 °C sušili 18 ur, na 60 °C pa 22 ur.

5.2 DOLŽINA KALČKOV AJDOVEGA SLADA

Ajda spada med dvokaličnice saj vsebuje dva klična lista. V kličnih listih dvokaličnic so shranjena hranila, ki se porabljajo med in po postopku kaljenja (Briggs in sod., 1981). V eni izmed študij je bilo ugotovljeno, da je dolžina kalčka ajdovega slada odvisna od vsebnosti vode v zrnju po namakanju, pred postopkom kaljenja. Za merjenje dolžine kalčka so si izbrali vzorec stotih kalečih zrn, z merilom so izmerili dolžino kalčka in izračunali povprečje. Po 60-ih urah kaljenja je bila povprečna dolžina kalčka v zrnju s 35 g vode/100 g pred začetkom kaljenja 1,34 cm, v zrnju s 40 g vode/100 g je bila dolžina kalčka 1,72 cm medtem ko je bila v zrnju s 45 g vode/100 g pred začetkom kaljenja, povprečna dolžina kalčka 2,94 cm (Winjgaard in sod., 2005b).

Najprimernejša dolžina kalčka svetlega ječmenovega slada je približno 75 % dolžine zrna. Primerjava dolžine kalčka z dolžino zrna pri ajdovih zrnih je pokazala, da je razmerje med dolžino kalčka in semena pri ječmenu drugačno kot pri ajdi. Dolžina kalčka pri ajdovem zrnju doseže nekajkratno dolžino zrna, medtem ko dolžina kalčka pri ječmenu ne presega dolžine celotnega zrna (Schuster in sod., 1990).

Med postopkom kaljenja smo prve kalčke opazili po 40-ih urah kaljenja. V ajdi sorte Darja je bila izmerjena dolžina kalčkov od 0,3 cm do 0,5 cm, v ajdi sorte Pyra pa od 0,5 cm do 0,7 cm. Po 64-ih urah kaljenja so ajdovi kalčki sorte Darja merili od 0,5 cm do 1,0 cm, kalčki sorte Pyra pa do 1,5 cm. Ob koncu kaljenja, po 88-ih urah smo, v ajdi sorte Darja izmerili dolžino kalčkov 3,0 cm do 3,5 cm ter v ajdi sorte Pyra do 4,0 cm. Naši rezultati so

primerljivi z rezultati študije ajdovega slada, opravljene na Biotehniški fakulteti, saj je bila izmerjena dolžina kalčkov ajde sorte Pyra pri temperaturi kaljenja 20 °C po 24-ih urah kaljenja 0,5 cm, po 48-ih urah 1,3 cm, po 72-ih urah 2,9 cm in po 96-ih urah 3,5 cm. Dolžine kalčkov ajde sorte Darja so bile nekoliko drugačne, po 24-ih urah kaljenja je bila izmerjena dolžina 0,3 cm, po 48-ih urah 1,4 cm, po 72-ih urah 2,7 cm in po 96-ih urah 4,7 cm (Mrak, 2014).

5.3 VSEBNOST FITINSKE KISLINE V AJDOVEM SLADU

V neobdelanih zrnih ajde smo v ajdi sorte Darja določili povprečno vsebnost 1,20 g FK/100 g SS, v ajdi sorte Pyra pa 0,89 g FK/100 g SS. Dobljeni rezultati so primerljivi s študijo Egli in sod. (2002, 2003), ki so v navadni ajdi določili 1,42 g FK/100 g SS oz. 1,00 g FK/100 g SS. Tako lahko potrdimo hipotezo 1, ki pravi, da bo vsebnost FK v različnih sortah ajde različna. Skozi celoten poskus priprave ajdovega slada je ajda sorte Darja v primerjavi z ajdo sorte Pyra vsebovala (od 18 do 30 %) več FK.

Po 8-ih urah od začetka poskusa, to je po namakanju, se je povprečna vsebnost FK, glede na vsebnost v neobdelanih vzorcih, v ajdi sorte Darja povečala za 25 %, v ajdi sorte Pyra pa za 43 %. Manjšo določeno vsebnost FK v neobdelanih vzorcih ajde (v primerjavi z namočenimi zrnji ajde), bi lahko razložili z manj učinkovito ekstrakcijo v zrnih pred namakanjem, saj smo domnevali, da je bila FK v zrnju z manjšo vsebnostjo vode drugače vezana kot v namočenem zrnju, zato je ekstrakcija manj učinkovita. Kot smo že omenili, smo v predposkusu poskusili tudi z daljšo, 5-urno ekstrakcijo, vendar se dobljeni rezultati niso bistveno razlikovali od določenih vsebnosti FK po 2-urni ekstrakciji. Do podobnih ugotovitev, to je rahlega povečanja vsebnosti FK v namočenih zrnih koruze in pšenice, so prišli tudi Egli in sod. (2002), ki so med drugim proučevali tudi fitazno aktivnost in vsebnost FK v vzorcih ajde tekom postopka priprave ajdovega slada. Po 16-ih urah namakanja so v zrnih ajde določili 1,30 g FK/100 g SS, kar je za 8 % manj kot v neobdelanih zrnih ajde. Določena vsebnost FK je primerljiva z vrednostmi, določenimi v našem poskusu. Egli in sod. (2002) so fitazno aktivnost in vsebnost FK določali v različnih vzorcih žit, psevdožit, stročnic in oljaric v različnih fazah procesa slajenja. Ugotovili so, da se med postopkom namakanja fitazna aktivnost v vseh žitih in psevdožitih zmanjšuje. V analiziranih vzorcih ajde se je po 16-ih urah namakanja fitazna aktivnost glede na fitazno aktivnost pred namakanjem vzorca zmanjšala za 49 %.

Traoré in sod. (2004) so ugotovili, da se vsebnost FK med 8-urnim namakanjem prosa, 14-urnim namakanjem sirka in 25-urnim namakanjem koruze, glede na začetno vrednost, ni spremenila. Omenjeni podatki se razlikujejo od podatkov Mahgoub in Elhag (1998), ki sta ugotovila, da se je med namakanjem vsebnost FK v štirih različnih sortah sirka zmanjšala za 8 do 14 % (12 ur namakanja) oz. za 16 do 21 % (24 ur namakanja). Svanberg in sod. (1993) so ugotovili, da je 24 do 48 urno namakanje koruze vplivalo na zmanjšanje

vsebnosti FK za cca 59 %. Lestienne in sod. (2005) poročajo, da se je med 24-urnim namakanjem na 30 °C v prosu, soji, koruzi, sirku in fižolu zmanjšala vsebnost FK za 4 do 51 %. Hotz in sod. (2001) pa navajajo, da 1-urno namakanje koruze zmanjša vsebnost FK za 51 %. V študiji Egli in sod. (2002) se je v rižu vsebnost FK po 16-urnem namakanju zmanjšala na 71 % začetne vrednosti, po 16-urnem namakanju rži na 79 % in po 16-urnem namakanju pšenice na 81 % začetne vrednosti.

Zaradi topnosti fitatov v vodi, se med postopkom namakanja FK izlužuje v vodo in posledično se zmanjša vsebnost FK v zrnju (Kumar in sod., 2010). Traoré in sod. (2004) ugotavljajo, da bi lahko bil razlog za nespremenjeno vsebnost FK po postopku namakanja, nezadosten čas namakanja. Iz omenjenega lahko sklepamo, da je namakanje oz. bistveno večja vsebnost vode v zrnih ajde po namakanju in med kaljenjem omogočila boljšo ekstrakcijo FK.

Egli in sod. (2002) poročajo, da je po 24-ih urah kaljenja fitazna aktivnost v ajdi za 25 % manjša kot v neobdelanih vzorcih ajde, po 48-ih urah se je fitazna aktivnost zmanjšala za 31 %, ter po 72-ih urah kaljenja za 46 % v primerjavi z neobdelanimi vzorci ajde. Po 24-ih urah kaljenja so namreč v ajdovih zrnih določili vsebnost 1,44 g FK/100 g SS, kar predstavlja za 2 % večjo vsebnost kot v neobdelanih zrnih, po 48-ih urah so določili 1,46 g FK/100 g SS, kar je za 3 % večja vsebnost kot v neobdelanih vzorcih, ter po 72-ih urah 1,44 g FK/100 g SS, kar je za 2 % več kot v netretiranih zrnih ajde. Ugotovili so, da imata namakanje in kaljenje skoraj neopazen učinek na vsebnost FK. Omenjena procesa imata najizrazitejši učinek na vsebnost FK v rižu, rži in pšenici, kjer se je vsebnost FK zmanjšala na 71 %, 79 % oz. 81 % začetne vsebnosti FK. V analiziranih vzorcih ovsa in ajde pa so, podobno kot kažejo rezultati naše raziskave, po postopku namakanja in kaljenja določili večjo vsebnost FK kot v netretiranem vzorcu. Rezultati naše študije se sicer nekoliko razlikujejo od rezultatov ostalih študij, vendar so si tudi podatki v literaturi nasprotujoči, saj so v različnih vrstah in kultivarjih žit in psevdožit opazili drugačne spremembe v vsebnosti FK med procesom namakanja in kaljenja.

Ker predvidevamo, da smo v neobdelanih zrnih ajde določili premajhno vsebnost FK, bomo v nadaljevanju razprave vsebnosti FK med kaljenjem primerjali na vsebnosti FK po 8-urnem namakanju. Po 16-ih urah kaljenja (po 24-ih urah od začetka poskusa) smo v ajdi sorte Darja določili za približno 1 % manjšo vsebnost FK, medtem, ko smo v ajdi sorte Pyra določili skoraj 5 % manjšo povprečno vsebnost FK v primerjavi z vsebnostjo FK v vzorcih po namakanju. V nadaljevanju poskusa, po 40-ih urah kaljenja (po 48-ih urah od začetka poskusa), se je vsebnost FK zmanjševala, zrna ajde sorte Darja so v povprečju vsebovala za 4 % manj FK, zrna ajde sorte Pyra pa so vsebovala za skoraj 7 % manj FK glede na vzorce po namakanju. Po 64-ih urah kaljenja (po 72-ih urah od začetka poskusa) je ajda sorte Darja v povprečju vsebovala za 11 % manj FK, ajda sorte Pyra pa je vsebovala za dobrih 15 % manj FK. V zadnji fazi, pred prekinitvijo kaljenja, po 88-ih urah

kaljenja (po 96-ih urah od začetka poskusa), je ajda sorte Darja vsebovala za dobrih 15 % manj FK, ajda sorte Pyra pa je vsebovala za dobrih 24 % manj FK glede na vsebnosti po namakanju. Tako lahko potrdimo tudi hipotezo 2, ki pravi, da se bo vsebnost FK med procesom zaslajevanja spreminjala.

Traoré in sod. (2004) so v študiji prišli do zaključka, da se med 74-urnim kaljenjem sirka vsebnost FK zmanjša za 53 %, med 62-urnim kaljenjem prosa za 67 % ter med 66-urnim kaljenjem koruze za 27 %. V študijah navajajo, da je po 72-ih urah kaljenja riž vseboval le 34 % začetne vsebnosti FK, proso 44 % in pira 50 % (Egli in sod., 2002; Chen in Pan 1977). Liang in sod. (2008) poročajo, da se je vsebnost FK med 72-urnim kaljenjem rjavega riža zmanjšala za 14 do 28 %.

V naši raziskavi je bila najmanjša vsebnost FK določena v posušenem ajdovem sladu, ki se je sušil 22 ur na 60°C. Vsebnost je znašala 0,95 g FK/100 g SS za ajdo sorte Darja oz. 0,80 g FK/100 g SS za ajdo sorte Pyra. Omenjena podatka nista presenetljiva, ker proces razgradnje FK po končanem postopku kaljenja ni bil končan in se je nadaljeval še v sušilni komori, kjer so bili še vedno ugodni pogoji za delovanje fitaze. Optimalni pogoji za delovanje fitaze v ajdi so pri vrednosti pH 5,0 in temperaturi 55 °C (Egli in sod., 2003).

Vsebnosti FK v vzorcih ajde, sušenih 18 ur na 80 °C sta znašali 1,12 g FK/100 g SS za ajdo sorte Darja oz. 0,85 g FK/100 g SS za ajdo sorte Pyra. Za ajdo sorte Darja je določena vsebnost FK nekoliko večja v primerjavi z vsebnostjo FK določeno v vzorcih sušenih na 60 °C. Večjo vsebnost v ajdi sorte Darja bi lahko razložili z velikostjo zrn, zrna ajde sorte Darja so namreč manjša v primerjavi z zrni ajde sorte Pyra. V manjših zrnih je središčna temperatura hitreje dosegla višjo vrednost in je posledično hitreje prišlo do inaktivacije encimov. Na večjo vsebnost FK v ajdi sorte Darja po sušenju pa vpliva tudi že v neobdelanih zrnih določena večja vsebnost FK.

Potrdimo lahko tudi 3. hipotezo, ki pravi, da bo vsebnost FK v ajdovem sladu manjša kot v nekaljeni ajdi. Ob koncu procesa kaljenja (po 96-ih urah poskusa) je bila vsebnost FK v kalečih ajdovih zrnih sorte Darja za dobrih 15 % manjša v primerjavi z vsebnostjo FK po namakanju. Vsebnost FK po končanem procesu kaljenja v ajdi sorte Pyra je bila za 24 % manjša kot v namočenih zrnih.

Ajda v primerjavi z ostalimi žiti in stročnicami vsebuje manj FK. Zaradi vseh omenjenih pozitivnih učinkovin v ajdovih zrnih (pa tudi pozitivnih lastnosti FK), FK ne sme biti razlog za črtanje tega starodavnega živila iz naših jedilnikov. Kljub negativnemu vplivu na zmanjšanje absorpcije mineralov, se ni potrebno popolnoma izogibati živilom, ki v manjših količinah vsebujejo FK, saj je le-ta poznana tudi po pozitivnih učinkih. Pomembno pa je, da se več pozornosti pri uživanju živil, ki vsebujejo FK, posveča pri kritičnih skupinah ljudi, kot so otroci pod šestim letom starosti, nosečnice in bolniki z resnimi boleznimi.

6 SKLEPI

- Glede na rezultate našega dela lahko zaključimo z naslednjimi sklepi:
- V neobdelanih zrnih ajde sorte Darja smo v povprečju določili 1,20 g FK/ 100 g SS, v zrnih ajde sorte Pyra pa 0,89 g FK/100 g SS.
- Zrna obeh sort ajde so med 8-urnim postopkom namakanja podobno absorbirala vodo in dosegla potrebno vsebnost vode za nadaljnje kaljenje.
- Prve kalčke v obeh sortah ajdovih zrn smo opazili po 40-ih urah kaljenja. V ajdi sorte Darja smo ob koncu kaljenja izmerili nekoliko krajše kalčke kot v ajdi sorte Pyra. Kalčki v ajdi sorte Darja so bili dolgi do 3,5 cm, v ajdi sorte Pyra pa do 4,0 cm.
- Največjo vsebnost FK v obeh sortah ajde smo določili po 8-ih urah namakanja, ko so zrna ajde sorte Darja v povprečju vsebovala 1,50 g FK/100 g SS, zrna ajde sorte Pyra pa 1,27 g FK/100 g SS, nato pa se je količina FK med postopkom kaljenja ajdovega slada zmanjševala.
- Vsebnost FK po sušenju ajdovega slada se je še nekoliko zmanjšala, predvsem pri 22-urnem sušenju ajdovega slada na 60 °C, kjer smo tekom poskusa, določili najmanjšo vsebnost FK v obeh sortah ajde.
- Vsebnosti FK v obeh sortah navadne ajde se nekoliko razlikujeta. Skozi celoten poskus je ajda sorte Darja v primerjavi z ajdo sorte Pyra vsebovala od 18 do 30 % več FK.
- Ajda se med postopkom kaljenja obnaša nekoliko drugače kot ostala žita, kjer prihaja med kaljenjem do bistveno intenzivnejše razgradnje FK.

7 POVZETEK

Navadna in tatarska ajda iz rodu *Fagopyrum* in družine *Polygonaceae* se zaradi ugodne sestave uvrščata med funkcionalna živila. Ker spadata med žitom podobne surovine brez vsebnosti glutena, postaja ajda s prehranskega vidika vedno bolj priljubljena, saj je primerna za bolnike, obbolele za celiakijo. Poleg vedno pogostejše uporabe v kulinariki bi se ajda lahko uporabljala tudi kot surovina za brezglutensko pivo.

Ajda zaradi ugodne aminokislinske sestave vsebuje beljakovine z visoko biološko vrednostjo. Poleg že omenjene odsotnosti gliadinov in gluteninov imajo ajdove beljakovine dokazano pozitivne učinke na zdravje. Poleg beljakovin z visoko biološko vrednostjo ajda vsebuje tudi naravne antioksidante, sterole in še nekatere učinkovine s pozitivnim vplivom na zdravje.

Poleg vseh omenjenih pozitivnih sestavin pa ajda vsebuje tudi antinutritivno snov FK, ki v semenih vseh žitaric in oljarič predstavlja zalogo fosforja. V semenih enokaličnic se FK nahaja predvsem v alevronski plasti in v kalčku. Omenjena snov je poznana predvsem po vplivu na zmanjšanje izkoristljivosti mineralov in zmanjševanju topnosti beljakovin. Za zmanjševanje vsebnosti FK v posameznih živilih je poznanih več metod, kot so npr. razgrajevanje FK med procesom namakanja, kaljenja ter fermentacije, inaktivacija fitaz s segrevanjem,...

V našem poskusu smo želeli ugotoviti, kakšen je vpliv zaslajevanja na vsebnost FK v ajdi. V predposkusu smo z različnimi koncentracijami reagentov in različnimi časi ekstrakcije optimizirali metodo za določanje FK. FK smo določali v netretiranih zrnih ajde in v pšenični moki. Ugotovili smo, da po različnem času ekstrakcije v vzorcih ne določimo bistveno različnih vsebnosti FK, zato smo se odločili, da bomo v nadaljevanju poskusa uporabili 2-urno ekstrakcijo vzorcev.

V drugem delu poskusa smo štirikrat ponovili postopek priprave ajdovega slada in v različnih fazah procesa v ajdovih zrnih določali vsebnost vode oz. SS, dolžino kalčkov in vsebnost FK. Analize smo opravljali na dveh sortah ajde (Pyra in Darja).

Pred pričetkom postopka priprave ajdovega slada smo določili vsebnost vode in FK v neobdelanih zrnih ajde. Proces priprave ajdovega slada smo pričeli z 8-urnim namakanjem zrn v vodi z 20 °C. Po namakanju je sledilo kaljenje zrn v termostatisirani komori, kjer smo skozi celoten poskus vzdrževali konstantne pogoje (20 °C in 97 do 98 % relativne vlage). Med 88-urnim kaljenjem smo v vnaprej določenih časovnih intervalih vzorčili in analizirali ajdov slad. Po končanem kaljenju smo polovico vzorcev ajdovega slada 22 ur sušili v sušilni komori na 60 °C, drugo polovico pa smo sušili 18 ur na 80 °C.

Vsebnost vode v obravnavanih sortah ajde se tekom celotnega poskusa ni bistveno razlikovala. V neobdelanih vzorcih, na začetku poskusa, smo v ajdi sorte Darja določili 11,5 g vode/100 g, v ajdi sorte Pyra pa 11,8 g vode/100 g. Pričakovano je bila vsebnost vode po 8-urnem namakanju večja in sicer smo v ajdi sorte Darja določili povprečno vsebnost vode 42,8 g/100 g ter v ajdi sorte Pyra 42,4 g/100 g. Po končanem kaljenju smo v vzorcih, ki so se sušili 22 ur na 60 °C v ajdi sorte Darja določili 6,5 g vode/100 g in v ajdi sorte Pyra 6,4 g vode/100 g. V vzorcih, ki so se sušili 18 ur na 80 °C, je v ajdi sorte Darja znašala vsebnost vode 7,1 g/100 g in v ajdi sorte Pyra 7,0 g vode/100 g.

V ajdi obeh sort so bili prvi kalčki opaženi po 48-ih urah od začetka poskusa (to je po 40-ih urah kaljenja). Ob koncu kaljenja, po 88-ih urah kaljenja, je v ajdi sorte Darja znašala dolžina kalčkov od 3,0 do 3,5 cm (povprečno 3,2 cm), v ajdi sorte Pyra pa so bili kalčki dolgi do 4,0 cm.

Nekoliko proti našim pričakovanjem smo v obeh sortah ajde v neobdelanih ajdovih zrnih (pred pričetkom namakanja) določili manjšo vsebnost FK kot v namočenih zrnih. V ajdi sorte Darja smo določili povprečno vsebnost 1,20 g FK/100 g SS, v ajdi sorte Pyra pa smo določili povprečno vsebnost 0,89 g FK/100 g SS. Največja vsebnost FK je bila določena po 8-ih urah namakanja. Ob koncu procesa kaljenja se je, glede na vsebnost FK po namakanju, v ajdi sorte Darja vsebnost FK znižala za približno 15 %, v ajdi sorte Pyra pa za 24 %.

Vsebnosti FK, določene v posušenem ajdovem sladu, so bile najmanjše. V vzorcih, ki so se sušili na 60 °C, je vsebnost FK v ajdi sorte Darja znašala 0,95 g FK/100 g SS, v ajdi sorte Pyra pa 0,80 g FK/100 g SS. Nekoliko večje so bile vsebnosti v vzorcih, sušenih na 80 °C, in sicer je bila v ajdi sorte Darja določena vsebnost FK 1,12 g FK/100 g SS, v ajdi sorte Pyra pa 0,85 g FK/100 g SS.

8 VIRI

- Abdelrahman S.M., Elmaki H.B., Idris W.H., Hassan A.B., Babiker E.E., El-Tinay A.H. 2007. Antinutritional factor content and hydrochloric acid extractability of minerals in pearl millet cultivars as affected by germination. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58: 6-17
- Agostini J.D.S., Nogueira R.B., Ida E.I. 2010. Lowering of phytic acid content by enhancement of phytase and acid phosphatase activities during sunflower germination. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53: 975-980
- Anderson R.J. 1914. A contribution to the chemistry of phytin. *Journal of Biological Chemistry*, 17: 171-190
- Aubrecht E., Biacs P.A. 2001. Characterization of buckwheat grain proteins and its product. *Acta Alimentaria*, 30, 1: 71-80
- Baruah K., Sahu N.P., Pal A K., Jain K K., Debnath D., Yengkokpam S. 2007. Interactions of dietary microbial phytase, citric acid and crude protein level on mineral utilization by Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), Juveniles. *Journal of World Aquaculture Society*, 38, 2: 238-249
- Becker H.G. 1994. Buchweizen, Dinkel, Gerste, Hafer, Hirse und Reis – die Schäli und Spelzgetreide und ihre Bedeutung für die Ernährung. *AID-Verbrauchdienst*, 39, 6: 122-130
- Bonafaccia G., Marocchini M., Kreft I. 2002. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry*, 80: 9-15
- Bonafaccia G., Gambelli L., Fabjan I., Kreft I. 2003. Trace element in flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry*, 83: 1-5
- Boyer R. 2005. Temelji biokemije. Ljubljana, Študentska založba: 634 str.
- Briggs D.E., Stevens R., Young Tom W., Hough J.S. 1981. Malting and brewing science. Vol. 1, Malt and sweet wort. 2nd ed. London, Chapman and Hall: 388 str.
- Brookes P.A., Lovett D.A., MacWilliam I.C. 1976. The steeping of barley: a review of the metabolic consequences of water uptake, and their practical implications. *Journal of the Institute of Brewing*, 82: 14-26
- Bullock J.I., Duffin P.A., Nolan K.B. 1993. *In vitro* hydrolysis of phytate at 95 °C and influence of metal ion on the rate. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 63: 261-263
- Camire A.L., Clydesdale F.M. 1982. Analysis of phytic acid in foods by HPLC. *Journal of Food Science*, 47: 575-578
- Campbell C.G. 1997. Buckwheat *Fagopyrum esculentum* Moench. Rome, International Plant Genetic Resources Institute: 93 str.
- Chao P.L., Hsiu S., Hou Y. 2002. Flavonoids in herbs: biological fates and potential interactions with xenobiotics. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 219-228
- Chen L.H., Pan S.H. 1977. Decrease of phytates during germination of pea seeds (*Pisum sativum*). *Nutrition Reports*, 16, 1: 125-125

- Chen Y., Chen J., Luo Z., Ma K., Chen X. 2008. Synchronous fluorescence analysis of phytate in food. *Microchimica Acta*, 2: 1-5
- Christa K., Soral-Šmietana M. 2008. Buckwheat grains and buckwheat products – nutritional and prophylactic value of their components – a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 26: 153-162
- Cheryan M., Joseph J.R. 1980. Phytic acid interactions in food system. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 13, 4: 297-355
- Coulibaly A., Kouakou B., Chen J. 2011. Phytic acid in cereal grains: structure or harmful ways to reduce phytic acid in cereal grains and their effects on nutritional quality. *American Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology*, 1, 1: 1-22
- Dionisio G., Holm P., Brinch-Pedersen H. 2007. Wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.) multiple inositol polyphosphates (MINPPs) are phytases expressed during grain filling and germination. *Plant Biotechnology Journal*, 5: 325-338
- Dziedzic K., Górecka D., Kucharska M., Przybylska B. 2012. Influence of technological process during buckwheat groat production on dietary fibre content and sorption of bile acids. *Food Research International*, 47: 279-283
- Eggum B.O. 1980. The protein quality of buckwheat in comparison with other protein sources of plant or animal origin. V: Buckwheat. 3rd meeting on genetics and plant breeding. Symposium on Buckwheat, 1.-3. september 1980. Kreft I., Javornik B., Dolinšek B. (eds.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, VTOZD za agronomijo: 115-121
- Egli I., Davidsson L., Juillerat M.A., Barclay D., Hurrell R.F. 2002. The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feeding. *Journal of Food Science*, 67, 9: 3484-3487
- Egli I., Davison L., Juillerat M.A., Barclay D., Hurrell R. 2003. Phytic acid degradation in complementary foods using phytase naturally occurring in whole grain cereals. *Journal of Food Science*, 68, 5: 1855-1859
- Evans D.E., Wallace W., Lance R.C.M., Macleod L.C. 1997. Measurement of β -amylase in malting barley (*Hordeum vulgare* L.). II. The effect of germination on kilning. *Journal of Cereal Science*, 26, 2: 241-250
- Fabjan N., Rode J., Košir I. J., Wang Z., Zang Z., Kreft I. 2003. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 22: 6452-6455
- FAOSTAT. 2014. Production: buckwheat. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations: baza podatkov
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
(september 2014)

- Fretzdorff B., Brummer J.M. 1992. Reduction of phytic acid during breadmaking of whole-meal breads. *Cereal Chemistry*, 69: 266-270
- Fox C.H., Eberl M. 2002. Phytic acid (IP6), novel broad spectrum anti-neoplastic agent: a systematic review. *Complementary Therapies in Medicine*, 10: 229-234
- García-Esteva R.M., Guerra-Hernández, García-Villanova. 1999. Phytic acid content in milled cereal product and breads. *Food Research International*, 32: 217-221
- Giménez-Bastida J.A., Piskula M., Zieliński H. 2015. Recent advances in development of gluten-free buckwheat products. *Trends in Food Science and Technology*, 44: 58-65
- Greiner R., Konietzny U., Jany K-D. 1997. Isolierung und Charakterisierung einer phytase aus rogen. *Getreide, Mehl und Brot*: 51, 2: 79-84
- Greiner R., Konietzny U. 1999. Improving enzymatic reduction of myo-inositolphosphates with inhibitory effects on mineral absorption in black beans (*Phaseolus vulgaris* var Preto). *Journal of Food Processing and Preservation*, 23: 249-261
- Grime K.H., Briggs D.E. 1996. The release of bound β -amylase by macromolecules. *Journal of the Institute of Brewing*, 102: 261-270
- Harland B.F., Oberleas D. 1977. A modified method for phytate analysis using an ion-exchange procedure: application to textured vegetable proteins. *Cereal Chemistry*, 54: 827-832
- Harland B.F., Oberleas D. 1986. Anion-exchange method for determination of phytate in foods: Collaborative study. *Journal of the AOAC*, 69: 667-670
- Hartig T. 1956. Weitere Mitteilungen über Klebermehl. *Botanische Zeitung*, 14: 257-261. Cit. po: Rudolf Matičič M. 1997. Fitinska kislina v izdelkih iz žit. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 65 str.
- Haug W., Lantzsch H.J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34: 1423-1426
- Hídvégi M., Lásztity R. 2003. Phytic acid content of cereals and legumes and interaction with proteins. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 46, 1-2: 59-64
- Horbowicz M., Obendorf R.L. 2005. Fagopyritol accumulation and germination of buckwheat seeds matured at 15, 22, 30 °C. *Crops Science*, 45: 1-11
- Hotz C., Gibson R.S., Temple L. 2001. A home-based method to reduce phytate content and increase bioavailability in maize-based complementary diets. *International Journal of Food Science in Nutrition*, 52: 133-142
- Hughes P.S., Bxter E.D. 2001. Beer quality, safety and nutritional aspect. Cambridge, Royal Society of Chemistry: 4-7
- Hunt J.R. 2003. Bioavailability of iron, zink, and other trace minerals from vegetarians diets. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 633-369
- Hurrell R.F. 2003. Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *Journal of Nutrition*, 133: 2973S-2977S

- Ikeda K., Sakaguchi T., Kusano T., Nishimura A. 1990. Changes in the functional properties of buckwheat protein on heating. *Fagopyrum*, 11: 11-14
- Jacela J.Y., DeRouchey J.M., Tokach M.D., Goodband R.D., Nelssen J.L., Renter D.G., Dritz S.S. 2010. Feed aditives for swine: Fact sheets-prebiotics and probiotics and phytogenics. *Journal of Swine Health and Production*, 18: 87-91
- Jani M., Annemüller G., Schildbach R. 1999. Studies on optimisation of a mash program for obtaining extracts from sorghum malt. *Brewing Science – Monatsschrift für Brauwissenschaft*, 9, 1: 157-163
- Jariwalla R.J., Sabin R., Lawson S., Herman Z.S. 1990. Lowering of serum cholesterol and triglycerides and modulation of divalent cations by dietary phytate. *Journal of Applied Nutrition*, 42: 18-28
- Johnson L.F., Tate M.E. 1969. Structure of »phytic acid«. *Canadian Journal of Chemistry*, 47: 63-73
- Kato N., Katayashita J. Tomotake H. 2001. Nutritional and physiological functions of buckwheat protein. *Recent Research Development Nutrition*, 4: 113-119
- Kitabayashi H., Ujihara A., Hirose T., Minami M. 1995. On genotypic defferences for rutin content in tatary buckwheat, *Fagopyrum tataricum* Gaertn. *Breeding Science*, 45: 189-194
- Konietzny U., Greiner R., Jany K.D. 1994. Purification and characterization of a phytase from spelt. *Journal of Food Biochemistry*, 18: 165-183
- Konietzny, U., Greiner, R. 2003. Phytic acid: nutritional impact. V: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Vol. 7. 2nd ed. Caballero B., Trugo L.C., Finglas P.M. (eds.). Amsterdam, Academic Press: 4555-4563
- Kozmus P., Smodiš Škerl M.I., Nakrst M. 2011. Čebelarjenje za vsakogar. Ljubljana, Kmečki glas: 128 str.
- Kreft I. 1995. Ajda. Ljubljana, Kmečki glas: 112 str.
- Kreft I. 1999. Rastlina meseca septembra. *Proteus*, 62, 1: 39-41
- Kreft I., Plestenjak A., Golob T., Škrabanja V., Rudolf M., Drašlak K. 1999. Functional value of buckwheat as affected by the content of inositol, phosphate, minerals, dietary fiber and protein. V: *Bioactive inositol phosphates and phytosterols in foods: second workshop*, Göteborg, Sweden 23 to 25 october 1997 : COST 916. Sandberg, A.S., Andersson H., Amadó R., Schlemmer U., Serra F. (eds.). Luxemburg, European Communities: 69-72
- Kreisz S. 2009. Malting. V: *Handbook of brewing processes, technology, markets*. Esslinger H.M. (ed.). Weinheim, Willey-VCH & Co.: 157-158
- Krkoškova B., Mrazova Z. 2005. Prophylactic components of buckwheat. *Food Research International*, 38: 561-568
- Kumar V., Sinha A.K., Makkar H.P.S., Becker K. 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition. *Food Chemistry*, 120: 945-959
- Larsson M., Sandberg A.S. 1992. Phytate reduction in oats during malting. *Journal of Food Science*, 57: 994-997

- Lásztity R., Lásztity L. 1990. Phytic acid in cereal technology. V: Advances in cereal science and technology. Vol. 10. Pomeranz Y. (ed.). St. Paul, American Association of Cereal Chemistry: 309-371
- Lee S. C., Prosky L., DeVries J. W. 1992. Determination of total soluble and insoluble dietary fibre in foods – enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: collaborative study. Journal of AOAC International, 75: 395-416
- Lehrfeld J. 1989. High-performance liquid chromatography analysis of phytic acid on a pH-stable, macroporous polymer column. Cereal Chemistry, 66: 510-515
- Lehrfeld J. 1994. HPLC Separation and quantitation of phytic acid and some inositol phosphates in foods: problems and solutions. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 12: 2726-2731
- Lestienne I., Icard-Vernière C., Mouquet C., Picq C., Trèche S. 2005. Effect of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. Food Chemistry, 89, 3: 421-425
- Li S., Zhang Q.H. 2001. Advantages in development of functional foods from buckwheat. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 41: 451-464
- Liang J., Han B.Z., Nout M.J.R., Hamer R.J. 2008. Effect of soaking, germination and fermentation on phytic acid, total and *in vitro* soluble zinc in brown rice. Food Chemistry, 110: 821-828
- Lin R., Tao Y., Li X. 1992. Preliminary division of cultural and ecological regions of Chinese buckwheat. Fagopyrum, 12: 48-55
- Lopez Y., Gordon D.T., Field L. 1983. Release of phosphorus from phytate by natural lactic acid fermentation. Journal of Food Science, 48: 952-954
- Lopez H.W., Ouvry A., Bervans E., Guy C., Messenger A., Demigne C., Remesy C., 2000. Strains of lactic acid bacteria isolated from sour doughs degrade phytic acid and improve calcium and magnesium solubility from whole wheat flour. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 2281-2285
- Mahgoub S.E.O., Elhag S.A. 1998. Effect of milling, soaking, malting, heat-treatment and fermentation on phytate level of four Sudanese sorghum cultivars. Food Chemistry, 61: 77-80
- Majzoobi M., Radi M., Farahnaky A., Jamaljan J., Tongdang T., Mesbahi G. 2011. Physicochemical properties of pre-gelatinized wheat starch produced by a twin drum drier. Journal of Agricultural Science and Technology, 13: 193-202
- Makokha A.O., Oniang'o R.K., Njoroge S.M., Kamar O.K. 2002. Effect of traditional fermentation and malting on phytic acid and mineral availability from sorghum (*Sorghum bicolor*) and finger millet (*Eleusine caracana*) grain varieties grown in Kenya. Food and Nutrition Bulletin, 23: 241-245
- Marchner H. 1997. Mineral and nutrition of higher plants. 2nd ed. San Diego, Academic Press: 272-275
- Mazza G. 1993. Storage, processing, and quality aspects of buckwheat seed. V: New crops. Janick J., Simon J.E. (eds.). New York, Wiley: 251-254

- McCance R.S., Widdowson E.M. 1935. Phytin in human nutrition. *Biochemical Journal*, 29: 2694-2694
- McKay M., Buglass A.J., Gook Lee C. 2011. Fermented beverages: beer, ciders, wines and related drinks: Beer. V: *Handbook of alcoholic beverages*. Vol. 1. Buglass A.J. (ed.). Chichester, John Wiley & Sons: 132-210
- Mishra S., Rai T. 2006. Morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches. *Food Hydrocolloids*, 20: 557-566
- Morita N., Maeda T., Sai R., Miyake K., Yoshioka H., Urisu A., Adachi T. 2006. Studies on distribution of protein and allergen in graded flours prepared from whole buckwheat grains. *Food Research International*, 39: 782-790
- Mrak J. 2014. Priprava ajdovega slada. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 69 str.
- Murali A., Kapoor R. 2003. Effect on nutritional and pure culture fermentation of finger millet on zinc availability as predicted from HCl extractability and molar ratios. *Journal of Food Science and Technology*, 40: 112-114
- Muralikrishna G., Nirmala M. 2005. Cereal α -amylases: an overview. *Carbohydrate Polymers*, 60: 163-173
- Nagai T., Sakai M., Inoue R., Inoue H., Suzuki N. 2001. Antioxidative activities of some commercial honeys, royal jelly and propolis. *Food Chemistry*, 75: 237-240
- Navert B., Sandstrom B., Cederblad A. 1985. Reduction of the phytate content of bran by leavening in bread and its effect on zinc absorption in man. *British Journal of Nutrition*, 53: 47-53
- Nelson L.D., Cox M.M. 2005. *Leninger principles of biochemistry*. 4th ed. New York, W.H. Freeman and Company: 249-249
- Nikolić N., Sakač M., Mastilović J. 2011. Effect of buckwheat flour addition to wheat flour on acylglycerols and fatty acids composition and rheology properties. *LWT - Food Science and Technology*, 44: 650-655
- Ogushi K., Lim P., Barr A.R., Takahashi S., Asakura T., Ito K. 2002. Japanese barley meets Australia: quality performance of malting barley grown in different countries. *Journal of the Institute of Brewing*, 108: 303-309
- Okazaki Y., Katayama T. 2005. Reassessment of the nutritional function of phytic acid, with special reference to myo-inositol function. *Journal of Japan Society of Nutrition and Food Science*, 58: 151-156
- Onomi S., Okazaki Y., Katayama T. 2004. Effect of dietary level of phytic acid on hepatic and serum lipid status on rat fed a high sucrose diet. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68: 1379-1381
- Orožen L., Vogel-Mikuš K., Likar M., Nečemer M., Kump P., Regvar M. 2012. Elemental composition of wheat, common buckwheat, and tartary buckwheat grains under conventional production. *Acta Biologica Slovenica*, 55, 2: 13-24

- Penella J.M., Collar C. 2008. Effect of wheat bran and enzyme addition on doughfunctional performance and phytic acid levels in bread. *Journal of Cereal Science*, 48: 715-721
- Peng W., Ji-Chun T., Walker C.E., Wang F.-C. 2009. Determination of phytic acid in cereals – a brief review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 1671-1676
- Phiarais N.B.P., Wijngaard H.H., Arendt E.K. 2005. The impact of kilning on enzymatic activity of buckwheat malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 111, 3: 290-298
- Phiarais N.B.P., Mauch A., Schehl B.D., Zarnkow M., Gastl M., Herrmann M., Zannini E., Arendt K.E. 2010. Processing of a top fermented beer brewed from 100 % buckwheat malt with sensory and analytical characterisation. *Journal of the Institute of Brewing*, 116, 3: 265-274
- Plaami S. 1997. Myoinositol phosphates: analysis, content in food and effect in nutrition. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*, 30: 633-647
- Poiana M.A., Alexa E., Bragea M. 2009. Studies concerning the phosphorus bioavailability improvement of some cereals used in nourishment. *Roumanian Biotechnological Letters*, 14: 4467-4473
- Pomeranz Y. 1983. Buckwheat: structure, composition, and utilization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 19, 3: 213-258
- Porres J.M., Etcheverry P., Miller D.D., Lei X.G. 2001. Phytase and citric acid supplementation in whole-wheat bread improves phytate-phosphorus release and iron dialyzability. *Journal of Food Science*, 66, 4:614-619
- Požrl T., Kopjar M., Kurent I., Hribar J., Janeš A., Simčič M. 2009. Phytate degradation during breadmaking: the Influence of flour type and breadmaking procedures. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 1: 29-38
- Pravilnik o spremembah Pravilnika o označevanju hranilne vrednosti živil. 2009. Uradni list Republike Slovenije, 11, 87: 11789-11789
- Préstamo G., Pedrazuela A., Peñas E. Lasunción M.A., Arroyo G. 2003. Role of buckwheat diet on rats as prebiotic and healthy food. *Nutrition Research*, 23: 803-814
- Qian J., Kuhn M. 1999. Physical properties of buckwheat starches from various origins. *Starch*, 51: 81-85
- Qin P., Wang Q., Shan F., Hou Z., Ren G. 2010. Nutritional composition and flavonoids content of flour from different buckwheat cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 45: 951-958
- Raboy V. 1990. The biochemistry and genetics of phytic acid synthesis. V: Inositol metabolism in plants. Mppre D.J., Boss W., Loewus F.A., Alan R.L. (eds.). New York, Wiley: 52-73
- Reale A., Konietzny U., Coppola R., Sorrentino E., Greiner R. 2007. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 2993-2997

- Reddy N.R., Sathe S.K., Salunkhe D.K. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Advances in Food Research*, 28: 1-92
- Reichwald K., Hatzack F. 2008. Application of modified haug and lantzsch method for the rapid and accurate photometrical phytate determination in soybean, wheat, and maize meals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2888-2891
- Rudolf Matičič M. 1997. Fitinska kislina v izdelkih iz žit. Diplomsko naloga. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 130 str.
- Ryden P., Salvendran R.R. 1993. Phytic acid: properties and determination. V: *Encyclopedia of food science food technology and nutrition*. Vol. 6. 2nd ed. Macrae R., Robinson R.K., Sadler M.J. (eds.). London, Academic press: 3582-3590
- Salobir J., Salobir B. 2001. Funkcionalnost prehranske vlaknine. V: *Funkcionalna hrana: 40 let živilstva*. 21. Bitenčevi dnevi, Portorož, 8. in 9. november 2001.. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 51-56
- Sandberg A.S., Ahderinnne R. 1986. HPLC Method for determination of inositol tri-, penta-, hexaphosphates in foods and intestinal contents. *Journal of Food Science*, 51: 847-550
- Sandberg A.S., Carlsson N.G., Svanberg U. 1989. Effect of inositol tri-, tetra-, penta-, hexaphosphates on *in vitro* estimation of iron availability. *Journal of Food Science*, 54: 159-186
- Sandberg A.S. 1995. Determination of phytic acid. V: *Recent progress in the analysis of dietary fibre*. Luxemburg, European Comission, COST, 92: 92-103
- Sandberg A.S., Brune M., Carlsson N.G., Ilallberg L., Skoglund E., Rossander – Ilulthen L. 1999. Inositol phosphates eith different numbers of phosphate groups influence iron absorbtion in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 2: 240-246
- Savaiano D.A., Story J.A. 2000. Cardiovascular disease and fiber: is insulin resistance the missing link? *Nutritional Review*, 58: 321-326
- Schuster K., Weinfurtner F., Narziss L. 1990. Tehnologija proizvodnje slada. Beograd, Jugoslovansko udruženje pivara: 439-453
- Selle P.H., Gill R.J., Scott T.A. 2007. Effects of pre-pelleted wheat and phytase supplementation on broiler growth performance and nutrient utilisation. *Proceedings of Australian Poultry Science Symposium*, 19: 182–185
- Semenarna Ljubljana. 2013. Krmne rastline in poljščine. Ljubljana, Semenarna Ljubljana: 28 str.
<http://www.semenarna.si/pridelava-semen> (december 2013)
- Soral-Smietana M., Fornal L., Fornal J. 1984. Characteristics od lipids in buckwheat grain and isolated starch and their changes after hydrothermal processing. *Nahrung* 28, 483-492
- Steadman K. J., Burgoon M., Lewis B., Edwardson S., Obendorf R. 2001. Buckwheat seed milling fraction: description, macronutrient composition and dietary fibre. *Journal of Cereal Science*, 33: 271-278

- Stibilj V., Kreft I., Smrkolj P., Osvald J. 2004. Enhanced selenium content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds by foliar fertilisation. *European Food Research Technology*, 219: 142-144
- SURS. 2015. Pridelava poljščin (ha, t, t/ha). Slovenija, letno. Ljubljana, Statistični urad Republike Slovenije: baza podatkov
http://pxweb.stat.si/pxweb/Dialog/varval.asp?ma=1502402S&ti=&path=../Database/Okolje/15_kmetijstvo_ribistvo/04_rastlinska_pridelava/01_15024_pridelki_povrsina/&lang=2 (april 2015)
- Svanberg U., Lorri W., Sandberg A.S. 1993. Lactic fermentation of non-tannin cereals: Effect on *in vitro* estimation of iron availability and phytate hydrolysis. *Journal of Food Science*, 58: 408-412
- Tajnšek T. 1988. Pšenica. Ljubljana, Kmečki glas: 19-21
- Tavčar Benković E., Kreft S. 2015. Fagopyrins and protofagopyrins: detection, analysis, and potential phototoxicity in buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63: 5715-572
- Tomotake H., Shimaoka I., Kayashita J., Yokoyama F., Nakajoh M., Kato N. 2000. A buckwheat protein product suppresses gallstone formation and plasma cholesterol more strongly than soy protein isolate in hamsters. *Journal of Nutrition*, 130: 1670-1674
- Tomotake H., Shimaoka I., Kayashita J., Yokoyama F., Nakajoh M., Kato N. 2001. Stronger suppression of plasma cholesterol and enhancement of the fecal excretion of steroids by a buckwheat protein product than by a soy protein isolate in rats on a cholesterol-free diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65: 1412-1414
- Tomotake H., Shimaoka I., Kayashita J., Nakajoh M., Kato N. 2002. Physico-chemical and functional properties of buckwheat protein product. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2125-2129
- Torre M., Rodrigues A.R., Saura-Calixto F. 1991. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30, 1: 1-22
- Traoré T., Mouquet C., Icard-Vernière C., Traoré A.S., Trèche S. 2004. Changes in nutrient composition, phytate and cyanide contents and α -amylase activity during cereal malting in small production units in Ouagadougou (Burkina Faso). *Food Chemistry*, 88: 105-114
- Trowell H., Southgate D.A., Wolver T.M.S., Leeds A.R., Gassull M., Jenkins D.J.A. 1976. Dietary fibre redefined, *Lancet* 307, 7966: 967-970
- Wenhao L., Fang C., Jing F., Shaohui O., Qingui L., Jianmei Z. 2014. Physically modified common buckwheat starch and their physicochemical and structural properties, *Food Hydrocolloids*, 40: 237-244
- Wijngaard H.H., Ulmer H.M., Arendt E.K. 2005a. The effect of germination temperature on the malt quality of buckwheat. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 63, 1: 31-36

- Wijngaard H.H., Ulmer H.M., Neumann M., Arendt E.K. 2005b. The effect of steeping time on the final malt quality of buckwheat. *Journal of the Institute of Brewing*, 111, 3: 275-281
- Wijngaard H.H., Ulmer H.M., Arendt E.K. 2006. The effect of germination time on the final malt quality of buckwheat. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 64, 4: 214-221
- Wijngaard H.H., Arendt E.K. 2006. Buckwheat. *Cereal Chemistry*, 83, 4:391-401
- Young L. 1936. The determination of phytic acid. *Biochemistry*, 17, 252-257
- Zhou J.R., Erdman J.W. 1995. Phytic acid in health and disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35: 495-508
- Zhu F. 2016. Buckwheat starch: structures, properties, and applications. *Trends in Food Science and Technology*, 49: 121-135

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju doc. dr. Tomažu Požrlu za strokovno pomoč in potrpežljivost, predvsem pa vzpodbudne besede kadar je bilo najbolj potrebno.

Hvala recenzentki doc. dr. Jasni Bertoncelj za strokoven pregled in nasvete.

Hvala Lini Burkan Makivić, uni. dipl. inž. in Barbari Slemenik, univ. dipl. bibl. za tehnični pregled naloge.

Hvala prof. dr. Tatjani Košmerl za motivacijske nasvete in pogovore med praktičnim delom, ko je bilo najtežje.

Hvala staršema, sestrama in bratu za moralno podporo med študijem, hvala ker ste verjeli vame in mi pomagali da sem prišla do zastavljenega cilja.

Nejc, hvala za pomoč pri oblikovanju naloge in vse vzpodbudne besede med celotnim študijem in med pisanjem magistrske naloge.

Hvala tudi krasnim sodelavcem, ki ste bili z mano v vseh lepih in malce manj lepih trenutkih mojega študija ter za pomoč ob moji odsotnosti.

Iskrena hvala vsem!