

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Jana Ivana KEPIC

**VPLIV DODATKA HMELJA NA
MAŠČOBNOKISLINSKO SESTAVO MLEKA**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Jana Ivana KEPIC

**VPLIV DODATKA HMELJA NA MAŠČOBNOKISLINSKO SESTAVO
MLEKA**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij – 2. stopnja

EFFECT OF ADDED HOPS ON MILK FATTY ACID COMPOSITION

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2016

***»My grandfather used to say that once in your life
you need
a doctor, a lawyer, a policeman and a preacher
but every day,
three times a day,
you need
a farmer.«***

(Brenda Schoepp)

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje – Znanost o živalih. Delo je bilo opravljeno na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje Oddelka za zootehniko je za mentorja magistrskega dela imenovala prof. dr. Andreja Lavrenčiča in za somentorico asist. dr. Alenko Levart.

Recenzentka: doc. dr. Andreja ČANŽEK MAJHENIČ

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: doc. dr. Silvester ŽGUR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Andrej LAVRENČIČ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: asist. dr. Alenka LEVART

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: doc. dr. Andreja ČANŽEK MAJHENIČ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora: 28. 12. 2016

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 pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Jana Ivana KEPIC

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Du2
DK	UDK 636.2.084/.087:637.1(043.2)=163.6
KG	govedo/krave/molznice/prehrana živali/krmni dodatki/hmelj/mleko/sestava/ maščobne kisline
AV	KEPIC, Jana Ivana, dipl. inž. agr. in hort. (VS)
SA	LAVRENČIČ, Andrej (mentor)/ LEVART, Alenka (somentorica)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Magistrski študijski program 2.stopnje Znanost o živalih
LI	2016
IN	VPLIV DODATKA HMELJA NA MAŠČOBNOKISLINSKO SESTAVO MLEKA
TD	Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja)
OP	XI, 62 str., 5 sl., 22 pregl., 66 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Vključitev krmnih dodatkov v prehrano krav molznic lahko zaradi njihove vsebnosti bioaktivnih snovi pozitivno vpliva na fermentacijo v vampu in posledično na sestavo živil živalskega izvora, ki jih uporabljamo v prehrani ljudi. V raziskavo, v kateri smo proučevali vpliv v krmo dodanega hmelja na maščobnokislinsko sestavo mleka, je bilo vključenih 31 krav molznic črno-bele pasme. Poskus je trajal 30 dni. Živali smo razdelili v dve skupini. Prva skupina je poleg osnovnega obroka dnevno dobivala še 50 g hmelja. Drugo skupino smo uporabili kot kontrolno skupino, ki v obrok hmelja ni dobivala. V vzorcih mleka smo določili osnovno sestavo in maščobnokislinsko sestavo. V sklopu našega poskusa smo ugotovili, da hmelj ni statistično značilno vplival na osnovno sestavo mleka, manjši vpliv pa je imel na maščobnokislinsko sestavo mleka. Vpliv hmelja se je pokazal pri nekaterih NMK, kjer je pri kislinah C15:0 in C17:0 preprečil povečanje njenega deleža v mleku in pri kislini C18:0 preprečil zmanjšanje njenega deleža. Pri ENMK je dodatek hmelja pri kislini C17:1 n-7 preprečil povečanje njenega deleža, medtem ko se je delež VNMK C20:5 n-3 z dodatkom hmelja povečal. Vendar je bila razlika zelo majhna. Vsebnost omenjene kisline se je z dodatkom hmelja povečala z 0,03 % (O1) le na 0,04 % (O2). Prav tako pa je dodatek hmelja preprečil zmanjšanje deleža cis-9, trans-11 KLK v mleku. Na podlagi rezultatov naše raziskave sklepamo, da je bila količina dodanega hmelja v naši raziskavi premajhna, zato bi morali z nadaljnjimi raziskavami proučiti večje količine dodatka hmelja v obrok molznic.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2

DC UDC 636.2.084/.087:637.1(043.2)=163.6

CX Cattle/dairy cows/animal nutrition/feed additives/hops/milk/composition/fatty acids

AU KEPIC, Jana Ivana

AA LAVRENČIČ, Andrej (supervisor)/ LEVART, Alenka (co-advisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101

PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Department of Animal Science,
Master Study Programme in Animal Science

PY 2016

TI EFFECT OF ADDED HOPS ON MILK FATTY ACID COMPOSITION

DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)

NO XI, 62 p., 5 fig., 22 tab., 66 ref.

LA sl

AL sl/en

AB Feed additives contain bioactive substances. Their inclusion in a feed of dairy cows can positively affect rumen fermentation and consequently affect of the composition of products that are used in human nutrition. In our research we studied the effect of hops supplementation on milk fatty acids composition. Thirty-one dairy cows of black and white breed was used in experiment. The experiment lasted 30 days. We divided the dairy cows in to two groups. The first group received the basic meal, supplemented with 50 g of hops, the second group was used as a control group and did not receive addition of hops. In the milk samples basic composition and fatty acid composition were determined. As part of our experiment, we found that hops were no statistically significant effect on the basic milk composition. It had less impact on the fatty acid composition of milk. The influence of hops has been shown in some of NMK. It prevented an increase of the amounts acids C15:0 and C17:0 and the reduction of the acid C18:0. In the MUFA hops prevented the increase of the acid C17: 1 n-7, while the proportion of PUFA C20:5 n-3 increased with the addition of hops. However, the difference was very small. This acid increased with the addition of hops from 0.03 % (O1) to 0.04 % (O2). Also, the addition of hops prevented the reduction of cis-9, trans-11 CLA in milk. Based on the results from our studied we conclude that the quantity of hops used in our research was too low. Further studies, where greater amounts of hops is supplementes, should be conducted.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VII
KAZALO SLIK.....	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	X
SEZNAM GESEL	XI
1 UVOD.....	1
2 PREGLED LITERATURE	3
2.1 MAŠČOBE V OBROKU PREŽVEKOVALCEV IN NJIHOVA PREBAVA.....	3
2.1.1 Presnova maščob, hlapnih maščobnih kislin in biosinteza maščobnih kislin.....	5
2.1.1.1 Presnova maščob	5
2.1.1.2 Biosinteza maščobnih kislin	5
2.1.1.3 Presnova hlapnih maščobnih kislin (HMK)	5
2.1.2 Maščobe mleka.....	6
2.2 MAŠČOBNE KISLINE.....	8
2.2.1 Delitev maščobnih kislin	11
2.2.2 Hlapne maščobne kisline.....	15
2.2.3 Esencialne maščobne kisline	15
2.2.4 Vakcenska kislina.....	16
2.2.5 Konjugirana linolna kislina	16
2.3 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA MLEKA IN OPISI MAŠČOBNIH KISLIN	17
2.4 MAŠČOBA MLEKA IN MAŠČOBNE KISLINE V PREHRANI LJUDI	19
2.5 HMELJ (<i>HUMULUS LUPULUS</i> L.)	21
2.5.1 Alfa in beta kisline	23
2.6 DODATEK HMELJA V OBROK PREŽVEKOVALCEV	24
2.6.1 Vpliv hmelja na fermentacijo v vampu	25
3 MATERIAL IN METODE.....	31
3.1 MATERIAL	31
3.2 METODE DELA	31

3.2.1	Določanje sestave mleka.....	32
3.2.2	Priprava metilnih estrov maščobnih kislin	32
3.2.3	Določitev maščobnokislinske sestave mleka s plinsko kromatografijo.....	33
3.3	STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	34
4	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	36
4.1	REZULTATI	36
4.1.1	Analiza variance	36
4.1.2	Ocenjene srednje vrednosti za osnovno sestavo mleka in deleže MK med skupinama in obdobjema	40
4.2	RAZPRAVA.....	47
4.2.1	Vpliv skupine in obdobja na osnovno sestavo mleka in maščobne kisline.....	47
4.2.2	Razlike ocenjenih srednjih vrednosti sestave mleka in MK po skupinah znotraj obdobja in med obdobjema.....	47
5	SKLEPI	52
6	POVZETEK.....	53
7	VIRI	55
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Maščobne kisline in njihovo poimenovanje	19
Preglednica 2: Kemična sestava hmelja (prirejeno po: Verzele, 1986)	23
Preglednica 3: Kemična sestava alfa kislin (Verzele, 1986).....	24
Preglednica 4: Kemična sestava beta kislin (Verzele, 1986).....	24
Preglednica 5: Kemična sestava različnih sort hmelja in osnovnega obroka (Narvaez in sod., 2013)	28
Preglednica 6: Učinek različnih sort hmelja na fermentacijo v vampu (Prirejeno po: Narvaez in sod., 2013).....	29
Preglednica 7: Prikaz sestave mleka, mlečnosti, stadija laktacije in zaporedne laktacije živali skupine 1 in 2 na začetku poskusa	31
Preglednica 8: Kemična sestava hmelja – sorta Aurora (Prirejeno po: Lavrenčič in sod., 2014)	32
Preglednica 9: Temperaturni program plinske kromatografije in pretoki plinov za ločitev metilnih estrov maščobnih kislin	34
Preglednica 10: Vpliv skupine in obdobja na osnovno sestavo mleka ($P < 0,05$).....	36
Preglednica 11: Vpliv skupine in obdobja na deleže nasičenih maščobnih kislin	37
Preglednica 12: Vpliv skupine in obdobja na deleže enkrat nenasičenih maščobnih kislin	38
Preglednica 13: Vpliv skupine in obdobja na deleže večkrat nenasičenih maščobnih kislin	38
Preglednica 14: Vpliv skupine in obdobja na deleže razvejanih maščobnih kislin.....	39
Preglednica 15: Vpliv skupine in obdobja na vsote deležev maščobnih kislin.....	39
Preglednica 16: Ocenjene srednje vrednosti za sestavo mleka med skupinama in obdobjema	40
Preglednica 17: Ocenjene srednje vrednosti za nasičene maščobne kisline med skupinama in obdobjema	41
Preglednica 18: Ocenjene srednje vrednosti za enkrat nenasičene maščobne kisline med skupinama in obdobjema	42
Preglednica 19: Ocenjene srednje vrednosti za večkrat nenasičene maščobne kisline med skupinama in obdobjema	43

Preglednica 20: Ocenjene srednje vrednosti za razvejane maščobne kisline med skupinama in obdobjema	44
Preglednica 21: Ocenjene srednje vrednosti za vsote maščobnih kislin med skupinama in obdobjema	45
Preglednica 22: Prikaz krmnih dodatkov in njihovih protimikrobnih sestavin (Prirejeno po: Calsamiglia in sod. 2007)	51

KAZALO SLIK

Slika 1: Sinteza triacilglicerola (Krečič Stres, 2008).....	9
Slika 2: Prikaz biohidrogenacije večkrat nenasičenih maščobnih kislin (18 C) v vampu (Parodi, 2004).....	11
Slika 3: Delitev maščobnih kislin glede na pozicijo dvojnih vezi (prirejeno po Lobb in Chow, 2008).	12
Slika 4: Cis in trans konfiguracija maščobnih kislin (prirejeno po McDonald in sod., 2002).....	14
Slika 5: Hmelj (<i>Humulus lupulus</i> L.) (Nikolić, 2016).	21

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ARA/AA	arahidonska kislina/arachidonic acid
DHA	dokozaheksaenojska kislina
DIM	dnevi v laktaciji (stadij laktacije)/days in lactation
DPA	dokozapentaenojska kislina
ENMK/MUFA	enkrat nenasičena maščobna kislina/monounsaturated fatty acid
EPA	eikozapentaenojska kislina
GC	plinska kromatografija visoke ločljivosti
GLA	gama linolenska kislina/gamma linolenic acid
HMK/VFA	hlapne maščobne kisline/volatile fatty acids
KLK/CLA	konjugirana linolna kislina/conjugated linoleic acid
LN	linolna kislina/linoleic acid
LNA/ALA	linolenska kislina/alpha linolenic acid
MB	mlečne beljakovine
MK/FA	maščobna kislina/fatty acid
MM	mlečne maščobe
n-3	omega 3 maščobna kislina
n-6	omega 6 maščobna kislina
NMK/SFA	nasičena maščobna kislina/saturated fatty acid
COH	ogljikovi hidrati
SC	somatske celice
VNMK/PUFA	večkrat nenasičena maščobna kislina/polyunsaturated fatty acid

SEZNAM GESEL

MLEKO: Gre za biološko tekočino, ki je bele do rumenkaste barve, specifičnega okusa in vonja in se izloča iz mlečne žleze.

BIOHIDROGENACIJA: Biohidrogenacija je proces, pri katerem se nenasičene maščobne kisline spremenijo v manj nenasičene in nasičene maščobne kisline preko hidrogenacije in izomerizacije nenasičenih maščobnih kislin.

MAŠČOBNE KISLINE: So organske molekule, ki vsebujejo polarno karboksilno skupino (COOH), vezano na nerazvejano alifatsko verigo. Maščobne kisline se med seboj razlikujejo po dolžini verig, stopnji nasičenosti in položaju dvojnih vezi.

ALFA IN BETA KISLINE: Grenčične smole, ki jih vsebujejo hmeljni storžki, delimo na mehke in trde. Med mehke smole spadajo alfa in beta kisline. Glavna sestavina alfa kislin je humulon, beta kislin pa lupulon.

HMELJ (*Humulus lupulus* L.): Je zelnata trajnica in ovijalka, ki spada v družino konopljevok (*Cannabaceae*).

1 UVOD

Mleko je naravna tekočina, ki vsebuje vse pomembne sestavine, ki so potrebne za ohranjanje zdravja in normalno delovanje človeškega organizma. Je osnova za proizvodnjo vseh mlečnih izdelkov. Gre za biološko tekočino, ki je bele do rumenkaste barve, specifičnega okusa in vonja in se izloča iz mlečne žleze. Po dogovoru je mleko mišljeno kot kravje mleko, medtem ko mleko ostalih živali poimenujemo glede na vrsto, na primer ovčje, kobilje, kozje ali bivoličje mleko. Poleg živalskega mleka poznamo tudi humano oziroma človeško mleko, ki ga imenujemo materino mleko (Tratnik in Božanić, 2012).

Zauživanje mleka in mlečnih izdelkov v količinah, ki so višje od prehranskih priporočil, je v človeški prehrani najbolj problematično zaradi vsebnosti maščob in njihove maščobnokislinske sestave. Zaradi sodobnih prehranskih trendov ljudje posegajo po hrani z manj maščob, zato proizvajalci mlečnih izdelkov pogosto odvzemajo maščobe mleka in tako zadovoljijo potrebe in želje potrošnikov (Tratnik in Božanić, 2012). Zaradi sestavin mleka je priporočljivo uživanje mleka v času intenzivne rasti in razvoja. O pozitivnih in negativnih učinkih mleka na zdravje ljudi je bilo izvedenih mnogo raziskav. V 20. stoletju so z rezultati raziskav dokazali, da je prekomerno zauživanje mleka, zaradi vsebnosti nasičenih maščobnih kislin (NMK) in holesterola, eden glavnih krivcev za pojavljanje bolezni srca in ožilja ter debelosti (Parodi, 2004). V ta namen si znanstveniki prizadevajo, da bi spremenili maščobnokislinsko sestavo, predvsem z zmanjšanjem deleža NMK in spremembo razmerja med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami (MK) v korist n-3 MK. Zato v prehrano živali vedno pogosteje vključujemo rastlinske komponente, ki s svojo sestavo posledično spremenijo tudi maščobnokislinsko sestavo mleka. Uporabljamo zaščitene maščobe in tako se maščobnokislinska sestava izboljšuje (Simopoulos, 2002 in Simopoulos 2004, cit. po Welter in sod., 2016).

Navsezadnje pa ljudje zaradi vseh raziskav o negativnih učinkih mleka na zdravje ljudi pozabljamo na mnoge pozitivne učinke. Mleko in mlečni izdelki so v zmernih količinah pomemben del uravnotežene prehrane. V mleku je prisotnih veliko esencialnih MK kot sta linolna in linolenska, pa tudi arahidonska, ki jo lahko zaužijemo le z živalskimi maščobami. Pomembno vlogo ima tudi konjugirana linolna kislina, za katero je značilno

antikancerogeno delovanje. Maščobe v mleku so zaradi večje vsebnosti kratkoverižnih MK in znatnega deleža palmitinske kisline tudi hitreje in lažje prebavljive v primerjavi z rastlinskimi maščobami (Tratnik in Božanić, 2012).

Do sedaj je bilo v raziskavah uporabljenih že veliko različnih rastlin, s katerimi so želeli izboljšati fermentacijo in posledično tudi maščobnokislinsko sestavo mleka. Tako so na primer Calsamiglia in sod. (2007) preverjali učinek timijana, origana, janeža, paprike in cimeta na fermentacijo v vampu. Namen magistrske naloge pa je bil ugotoviti učinke dodanega hmelja. Predpostavljamo, da bi dodatek hmelja zaradi svoje sestave, predvsem zaradi vsebnosti alfa in beta kislin, lahko pomembno vplival na maščobnokislinsko sestavo mleka.

Po pregledu literature smo ugotovili, da je bilo na področju učinkov hmelja na fermentacijo v vampu izvedeno veliko raziskav v *in vitro* pogojih in bi bilo potrebno dane ugotovitve preveriti tudi z *in vivo* poskusi. Nasprotno pa je neposredni vpliv hmelja na maščobnokislinsko sestavo mleka še popolnoma neraziskan.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 MAŠČOBE V OBROKU PREŽVEKOVALCEV IN NJIHOVA PREBAVA

Maščobe najdemo v rastlinskih in živalskih tkivih. Rastlinske maščobe so prav tako kot živalske maščobe pomemben vir energije. Osnovna struktura rastlinskih in živalskih maščob je podobna, zelo pa se razlikujejo po kemični sestavi in prehranski kakovosti. Poleg zaloge energije predstavljajo tudi kot toplotni izolator organizma (McDonald in sod., 2011).

V obroku živali maščobe služijo predvsem za povečanje energijske vrednosti in preskrbe organizma z esencialnimi MK. Prav tako pa se z dodatkom maščob poveča okusnost hrane in absorpcija v maščobi topnih vitaminov. Maščobe so snovi sestavljene iz dolgoverižnih MK in glicerola (McDonald in sod., 2011).

Običajno je delež maščob v krmi prežvekovalcev majhen, vendar pomemben. V primeru, da je delež maščob prevelik, to negativno vpliva na rast, razvoj in razmnoževanje mikroorganizmov v predželodcih. Maščobe se pod vplivom mikroorganizmov razgradijo do glicerola in MK. Glicerol in v manjši meri tudi MK so pomemben vir energije za mikroorganizme. Orešnik in Lavrenčič (2013) menita, da je priporočljiva vsebnost maščob v suhi snovi obroka za prežvekovalce 5 do 10 %, medtem ko nekateri avtorji navajajo, da je optimalna vrednost 3 % (NRC, 2001, cit. po Nawaz in Ali, 2016).

Za odrasle prežvekovalce so primerne maščobe, ki imajo čim manjši vpliv na fermentacijo v vampu ali pa zaščitene oziroma inkapsulirane, saj le te ne zmanjšajo delovanja mikrobov v vampu. Maščobe zaščitimo z ovojem formaldehida in beljakovin. Inkapsulirane beljakovine se prebavijo v siriščniku, takrat se sprostijo nenasičene MK, ki preidejo v mleko (Fox in sod., 2015). Med dodajanjem maščob, katerih vir so razna rastlinska olja ali pa ribje olje in so sestavljene predvsem iz večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK), lahko pride do manjše konzumacije krme, kar povzroči slabšo fermentacijo vlaknine v vampu in zmanjšanje vsebnosti maščob v mleku. Zato je priporočljivo, da se maščobe z VNМК inkapsulira. Lahko pa zmanjšamo negativni vpliv VNМК na vampove mikrobe

tudi z dodajanjem celih semen oljnic, saj se maščobe iz semen počasneje sproščajo kot pri dodajanju olja. Seveda pa so negativni učinki odvisni tudi od sestave osnovnega obroka. Večji negativni vpliv je prisoten pri bolj koncentriranem obroku ali pri obroku z veliko koruzne silaže (Žust in sod., 2009).

Nekatere raziskave so pokazale, da dodatek maščob vpliva tudi na količino mleka. Tako preveč maščob, predvsem večji delež nenasičenih MK v obroku, zmanjšuje količino mleka, prav tako pa lahko pride tudi do zmanjšanja količine maščob v mleku. Na splošno velja, da se, kljub dodani maščobi v obrok, količina maščob v mleku zelo spreminja. Zaščitene maščobe naj bi sicer povečale maščobe v mleku, lahko pa se zgodi, da nimajo nobenega učinka (Žust in sod., 2009).

Med mikrobno razgradnjo v predželodcih, se maščobe v vampu razgradijo na MK in glicerol. Nižje MK se absorbirajo takoj, višje MK pa se absorbirajo iz tankega črevesa. V vampu pride do hidrogenacije, kjer večina nenasičenih MK postane nasičenih, manjši delež pa se temu procesu izogne. V rezervnih maščobah je zaradi hidrogenacije največ palmitinske in stearinske kisline. Zaradi delovanja mikrobiote v vampu težko vplivamo na sestavo maščob v mleku in na sestavo telesnih rezervnih maščob z dodajanjem maščob v obrok. Če želimo vplivati na sestavo maščob v mleku, moramo v obrok dodajati zaščitene maščobe, ki vsebujejo nenasičene MK. Te se izognejo mikrobni razgradnji v vampu in se razgradijo ter vsrkajo šele v tankem črevesu (McDonald in sod., 2002).

Glavni del prebave maščob poteka v tankem črevesu, kjer soli žolčnih kislin maščobe emulgirajo. Pri tem sodelujeta tudi lipazi iz trebušne slinavke in črevesnega soka. Prebavljivost maščob je odvisna od količine zaužitih maščob, od dolžine verige MK in stopnje nasičenosti. Po končani encimski razgradnji maščob sledi absorpcija. Nato se ponovno tvorijo maščobe (trigliceridi), ki preko krvi pridejo v jetra (Orešnik in Kermauner, 2009).

2.1.1 Presnova maščob, hlapnih maščobnih kislin in biosinteza maščobnih kislin

2.1.1.1 Presnova maščob

Triacilgliceroli se strukturno po prebavni poti v tanko črevo le malo spremenijo. V tankem črevesu poteka emulzifikacija maščob. Gre za proces, pri katerem se ob prisotnosti žolčnih kislin maščobe razpršijo v drobne kapljice in tako postanejo dostopnejše encimom. Encimi lipaze hidrolizirajo maščobe in kot končni produkt nastanejo MK in glicerol. MK preko plazemske membrane preidejo v citosol, kjer se aktivirajo tako, da se povežejo s koencimom A. Pri tem nastane acil-CoA. Dolge MK nekoliko težje preidejo v citosol, zato jim prehod olajša karnitin-acil-trasferaza (CAT). Po prehodu v mitohondrijski matriks se prične β -oksidacija. Potečejo štiri zaporedne reakcije, pri katerih se odcepi acetil-CoA. Omenjena presnovna pot poteka v obliki spirale. Na koncu nastaneta dve molekuli acetil-CoA. Med oksidacijo MK se sprosti veliko energije. Enako kot NMK, se tudi nenasičene MK absorbirajo, aktivirajo in tudi pri njih β -oksidacija poteka enako (McDonald in sod., 2002).

2.1.1.2 Biosinteza maščobnih kislin

Za sintezo MK je potreben acetil-CoA. Presnovne poti, kjer nastane acetil-CoA, potekajo v mitohondriju, medtem ko sinteza MK poteka v citosolu. Acetil-CoA za prehod skozi membrano v citosol potrebuje transportni sistem. V mitohondrijih med acetil-CoA in oksaloacetatom poteče reakcija, pri kateri nastane citrat in se prenese v citosol. Nato se nadaljuje sinteza MK z dodajanjem dveh ogljikovih atomov s pomočjo malonil-CoA. Kot končni produkt nastane palmitinska kislina (C16:0). Dolgoverižne MK nastanejo s podaljševalnim encimskim sistemom v endoplazmatskem retikulumu, kjer se sintetizirajo tudi nenasičene MK v sodelovanju z acil-CoA (McDonald in sod. 2011).

2.1.1.3 Presnova hlapnih maščobnih kislin (HMK)

Pri razgradnji ogljikovih hidratov v vampu prežvekovalcev nastane veliko propionata (propanojske kisline), ki prehaja skozi steno vampa. Del propionata se presnovi do laktata. Del kisline, ki se ne razgradi do laktata, gre v jetra in se porabi za sintezo glukoze. Maslena

kislina se spremeni v ketonska telesca (β -hidroksibutirat) in se porablja kot vir energije v mišicah. Ocetna kislina je glavni produkt fermentacije ogljikovih hidratov v vampu in vir energije za mnoga tkiva (McDonald in sod., 2011).

2.1.2 Maščobe mleka

Maščobe mleka so najpomembnejši vir energije v mleku. Najdemo jih v mleku vseh sesalcev, vendar se njihova koncentracija v mleku glede na vrsto živali močno razlikuje (od 2 % do >50 %) (Fox in sod., 2015). Maščobe kravjega in človeškega mleka predstavljajo 50 % vse energije, ki jo le to vsebuje (Jensen in sod., 1991b, cit. po Bruce German in sod., 1997). Sestavljajo jih gliceridi, fosfolipidi, steroli, karotenoidi, vitamini A, D, E, in K, manjše količine glicerola ter prostih MK. Triacilgliceroli predstavljajo kar 97 do 98 % vseh maščob v mleku. Maščobe v mleku so tudi pomemben vir esencialnih MK (Fox in sod., 2015).

Na vsebnost maščob v mleku vplivajo tudi genetski dejavniki živali in se njihov delež močno razlikuje med različnimi pasmami krav. Kot primer navajamo pasmo Jersey, katere mleko v povprečju vsebuje od 5 do 6 % maščobe in pasmo Holstein s 3 do 4 % maščob (Fox in sod., 2015). Pasma krav, ki jih vzrejamo v Sloveniji, dajejo mleko, ki v povprečju vsebuje okoli 4 % maščobe. Delež maščob v mleku vpliva na gospodarnost prireje mleka, saj je cena mleka odvisna tudi od deleža maščob (Orešnik, 1996).

Eden od dejavnikov, ki vpliva na količino maščob mleka, je tudi stadij laktacije. Mleko krav v prvih treh mesecih po telitvi vsebuje manj maščob, proti koncu laktacije pa se delež poveča. Na spremembe v deležu maščob v mleku vpliva tudi letni čas oziroma sezona. Pozimi je v mleku več maščob kot v poletnem času. To naj bi bila posledica sprememb v obroku (zimski, poletni obrok) in posledica okolja, predvsem višjih zunanjih temperatur poleti. Do manjše vsebnosti maščob v mleku privede tudi zaporedna laktacija, kjer se pri posameznih živalih vsebnost maščob v mleku zmanjša za približno 0,2 %. Nizka vsebnost maščobe v mleku pa je lahko tudi posledica nepravilne prehrane (Fox in sod., 2015).

Maščobe mleka nastanejo predvsem iz očetne kisline, ki poleg maslene in propionske kisline nastaja pri razgradnji strukturnih ogljikovih hidratov v vampu. V manjši meri prispeva k nastajanju maščob mleka tudi maslena kislina, medtem ko propionska kislina pri tem ne sodeluje. Vendar pa ima propionska kislina posredni vpliv na vsebnost maščob v mleku, saj preko hormonskega sistema vpliva na mobilizacijo in nalaganje telesnih maščob (McDonald in sod., 2002). Količina posamezne HMK je odvisna predvsem od sestave obroka krav molznic. Iz krme, ki vsebuje več strukturnih ogljikovih hidratov, nastane več očetne kisline, medtem ko večji delež močne krme prispeva k večjemu deležu propionske kisline in tako k manjšemu deležu maščob. Če v obrok krav molznic dodamo na primer sladkorno peso, ki vsebuje veliko sladkorja, bo nastalo več maslene kisline in bo delež maščob v mleku zato večji (Babnik in sod., 2004; McDonald in sod., 2002).

Surova vlaknina, ki je veliko vsebuje voluminozna krma, ima torej prevladujoč vpliv na delež maščob v mleku. Po priporočilih naj bi obrok krav molznic vseboval vsaj 180 g strukturne surove vlaknine na kg suhe snovi, a ne več kot 260 g na kg suhe snovi. Obrok, ki vsebuje preveliko količino surove vlaknine, je težje prebavljiv in krave posledično zaužijejo manj krme. Sicer je v tem primeru delež maščob v mleku velik, vendar zaradi manjše konzumacije krme ne moremo pričakovati visoke mlečnosti. V obrok visoko produktivnih krav molznic je priporočljivo vključiti mrvo ali slamo, saj obe vsebujeta veliko surove vlaknine (Orešnik, 1996). Surova vlaknina spodbuja prežvekovanje živali, medtem se izloči veliko sline, ki z nevtralizacijo kislin v vampu poskrbi za primerno kislost vsebine vampa. V nasprotnem primeru se vsebina vampa zakisa in posledično nastane več propionske kisline, kar pa privede do manjše količine maščob v mleku. V obrok lahko dodajamo pufrske snovi, na primer sodo bikarbono, ki uravnavajo pH v vampu. Višji kot je pH, boljša je prebavljivost vlaknine in zato nastane več očetne kisline. Največji učinek pufrskih snovi se pokaže pri obrokih z veliko močne krme (Babnik in sod., 2004).

Na sestavo mleka vplivajo tudi hitre spremembe komponent v obroku. Mikroorganizmi v vampu potrebujejo določen čas, da se privadijo na spremembe. Zato je priporočljivo, da vsako novo komponento postopoma vključujemo v obrok in jo na ta način dodamo oziroma zamenjamo s staro (Babnik in sod., 2004).

Maščobe, ki jih krave molznice zaužijejo neposredno z obrokom, nimajo večjega vpliva na vsebnost maščob v mleku, saj jih je v obroku malo (NRC, 2001, cit. po Nawaz in Ali, 2016). Kljub temu, da se po razgradnji vgradijo v maščobe mleka, se vsebnost le teh v mleku ne poveča. Izjema pa so zaščitene maščobe v obroku, saj se te izognejo prebavi v vampu in se razgradijo v tankem črevesu, kar privede do večje vsebnosti maščob v mleku (McDonald in sod., 2002). Mach in sod. (2010) so v svoji raziskavi potrdili, da krmljenje nezaščitene nenasičene MK zmanjša vsebnost maščob v mleku. Babnik in sod. (2004) navajajo, da nenasičene MK upočasnijo delovanje tistih mikroorganizmov, ki so odgovorni za prebavo vlaknine, zaradi česar nastane manj očetne kisline in posledično manj maščob v mleku.

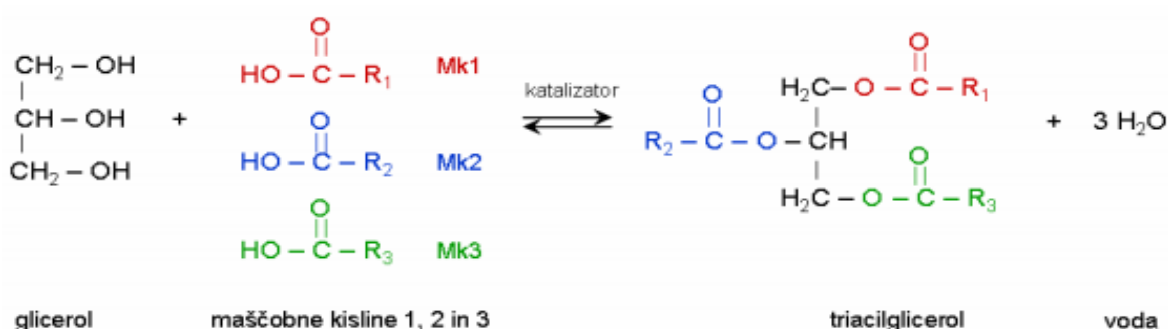
Maščobe v mleku pa nastajajo tudi iz maščob, ki se sprostijo pri črpanju telesnih rezerv. Do povečanja vsebnosti maščob v mleku pride pri kravah po telitvi, če te čezmerno črpajo telesne rezerve. Vse to je posledica preobilnega krmljenja krav ob koncu laktacije in v dobi presušitve, saj tako živali pretirano nalagajo telesne rezerve. V začetku laktacije tako količina maščob naraste, vendar je proces nezaželen, saj lahko pride do presnovnih bolezni (Babnik in sod., 2004).

2.2 MAŠČOBNE KISLINE

V zadnjih desetletjih je bilo izvedeno mnogo raziskav na temo maščobnokislinske sestave in njenih negativnih in pozitivnih učinkih na zdravje ljudi. Ravno zaradi mnogih negativnih rezultatov raziskav, se je uporaba mlečnih izdelkov zmanjšala. V ta namen so sedaj vedno bolj pogoste raziskave o izboljšanju maščobnokislinske sestave na podlagi različnih prehranskih dodatkov. Na področju žlahtnjenja rastlin si prizadevajo spremeniti razmerje deležev NMK, ENMK in VNMK (Samkova in sod., 2012; Stamey Lanier in sod., 2015).

MK so pomembna komponenta maščob mleka, saj predstavljajo kar 90 % njihove skupne mase. Od tega je 95 % vseh MK vezanih v triacilglicerol, v manjšem obsegu pa so vezane tudi v mono- in diacilglicerol. O triacilglicerolu govorimo takrat, ko so vse tri alkoholne skupine glicerola zaestrene z MK (Slika 1). Ker so triacilgliceridi estri, lahko reakcija

hidrolize poteče v bazičnih ali kislih pogojih. Produkt reakcije v kislih pogojih so MK in glicerol, medtem ko v bazičnih pogojih nastanejo soli karboksilnih kislin (milo) in glicerol. V mleku najdemo tudi proste MK, vendar je njihov delež zelo majhen. MK se med seboj razlikujejo po dolžini verig, stopnji nasičenosti in položaju dvojnih vezi. V maščobah mleka so do sedaj identificirali že preko 400 različnih MK. Petinšestdeset odstotkov celotne mase predstavljajo NMK, ostalih 35 % pa nenasičene MK (Jensen, 2002; Parodi, 2004; McDonald in sod., 2002, Jensen in sod., 1991b cit. po Bruce German, 1997).



Slika 1: Sinteza triacilglicerola (Krečič Stres, 2008).

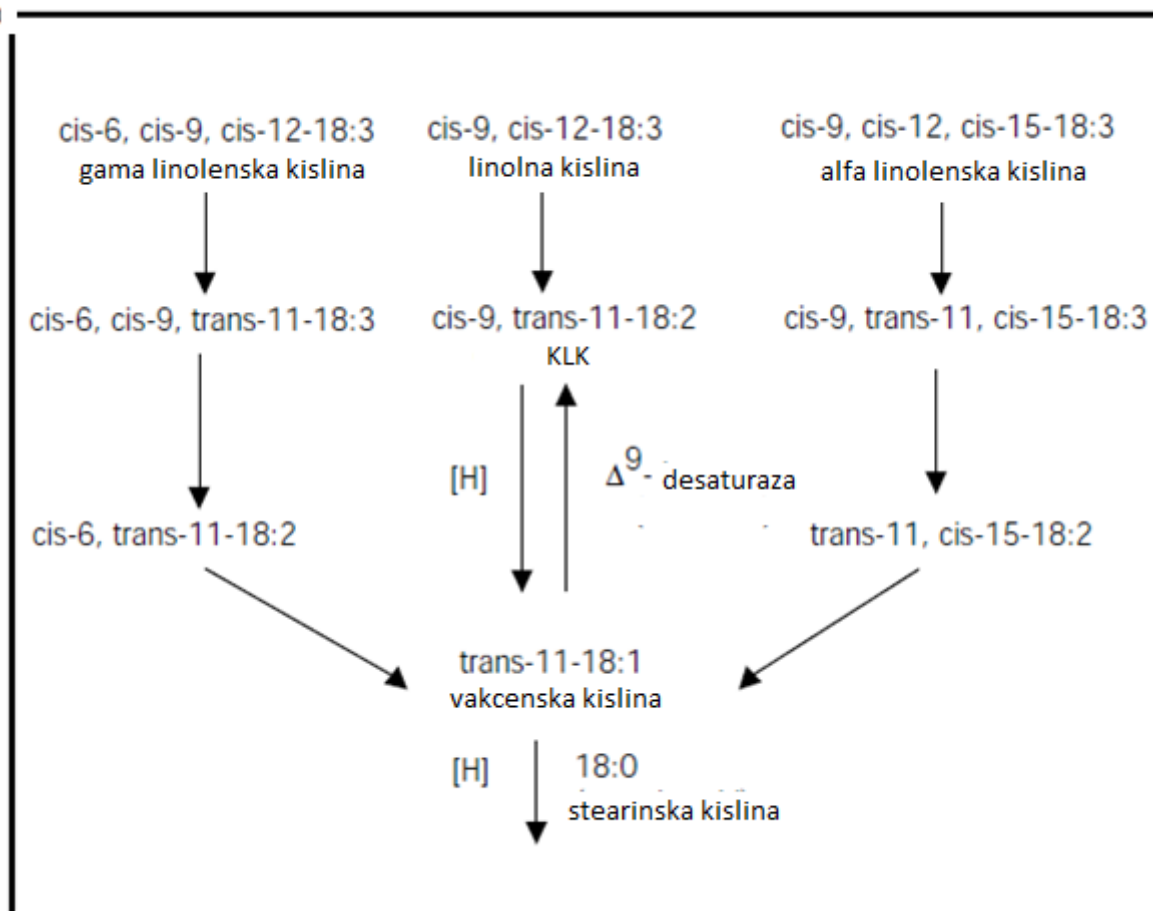
Sinteza MK izvira iz acetata in v manjšem obsegu iz butirata, ki nastaneta med razgradnjo polisaharidov (škrob, pektin, hemiceluloza, celuloza) v vampu. To velja za nastanek kratkoverižnih MK (<16 C) in nekaterih MK, ki vsebujejo 16 C atomov. Ostale MK, ki so daljše od 18 C in del 16 C nastanejo pri razgradnji maščob iz krme in pri črpanju iz rezervnih telesnih maščob (Bauman in sod., 2006; Harvatine in sod., 2009).

Mleko krav v času laktacije vsebuje okrog 4 do 6 % nenasičenih MK. Njihov delež je odvisen od sestave obroka v tem obdobju. Glikolipidi in fosfolipidi, ki jih najdemo v voluminozni krmi, so bogati z linolensko kislino (LNA) (cis-9, cis-12, cis-15 C18:3) in linolno kislino (LN) (cis-9, cis-12 C18:2). Medtem ko olja iz semen nekaterih rastlin, kot sta na primer koruza in soja, poleg linolne kisline, vsebujejo tudi veliko oleinske kisline. Na splošno velja, da je v krmi prežvekovalcev več NMK (Stamey Lanier in sod., 2015).

Maščobnokislinska sestava mleka je pri večini živalskih vrst v veliki meri odvisna od prehrane. Izjema so prežvekovalci, saj zaužite maščobe v vampu močno spremenijo

bakterijsko delovanje in vplivajo na potek fermentacije. Pride tudi do biohidrogenacije VNMK (Slika 2) (Bauman in Griinari, 2003). Biohidrogenacija je proces, pri katerem se nenasičene MK spremenijo v NMK preko hidrogenacije in izomerizacije nenasičenih MK. Na biohidrogenacijo v največji meri vplivajo bakterije (Stamey Lanier in sod., 2015). Bakterije, ki vplivajo na hidrogenacijo, se delijo na dve skupini, in sicer na skupino A in skupino B. V skupino A uvrščamo bakterije, ki hidrogenirajo LN in LNA do vakcenske kisline. Bakterije iz skupine B pa so tiste, ki hidrogenirajo različne ENMK, oleinsko in vakcensko kislino v stearinsko kislino (Kemp in Lander, 1984).

Proces biohidrogenacije poteka v več korakih. Začne se z izomerizacijo cis-12 v trans-11 dvojno vez, ki lahko poteče le v primeru, ko imajo MK prosto karboksilno skupino in so sestavljene iz cis-9, cis-12 konfiguracije dvojne vezi. Nato sledi redukcija dvojne vezi na devetem ogljikovem atomu, pri kateri nastane vakcenska kislina kot vmesni produkt biohidrogenacije (Stamey Lanier in sod., 2015). Vakcenska kislina ali trans-11-oktadecenojska kislina je glavna trans MK, ki jo najdemo v mleku. Njena hidrogenacija v primerjavi z drugimi poteka počasneje (McDonald in sod., 2002). Naslednji korak biohidrogenacije je še hitra pretvorba cis-9, trans-11 konjugirane linolne kisline v trans-11 C18:1 (Stamey Lanier in sod., 2015).



Slika 2: Prikaz biohidrogenacije večkrat nenasičenih maščobnih kislin (18 C) v vampu (Parodi, 2004).

2.2.1 Delitev maščobnih kislin

Kot smo že omenili, MK ločimo po stopnji nasičenosti, dolžini verige in položaju dvojnih vezi.

Po stopnji nasičenosti ločimo:

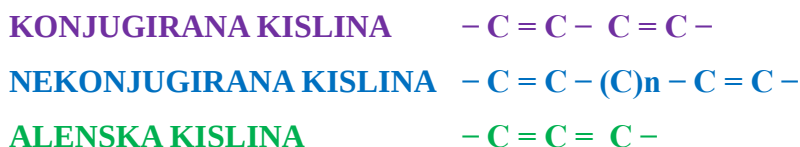
– Nasičene maščobne kisline

Za živalske maščobe so značilnejše enojne vezi med ogljikovimi atomi. V tem primeru govorimo o NMK. V maščobah mleka prevladujejo NMK, saj je njihov delež kar 65 %, od tega je 50 % palmitinske kisline (C16:0) (Jensen in sod., 1991b, cit. po Bruce German in sod., 1997; Vahmani in sod., 2013). Nekatere NMK

povečajo koncentracijo aterogenih lipoproteinov (lipoproteini z nizko gostoto – LDL) v krvni plazmi. To so predvsem NMK, ki vsebujejo 12, 14 in 16 C atomov – lavrinska, miristinska in palmitinska (Danke in Grundy, 1992 in Zock in sod., 1991, cit. po Havel, 1997). Danke in Grundy (1991, cit. po Havel, 1997) sta v svoji raziskavi dokazala, da stearinska kislina (C18:0) nima vpliva na koncentracijo LDL. Kratko in srednjeveržne NMK imajo manjši vpliv na LDL. Ker večji del NMK predstavljajo ravno palmitinska, lavrinska in miristinska kislina si želimo, da jih je v hrani čim manj, saj so zaradi aterogenih lipoproteinov, glavni krivec za nastanek bolezni srca in ožilja (Havel, 1997).

– Nenasičene maščobne kisline

Pri rastlinskih maščobah so pogosto prisotne dvojne vezi med dvema ogljikovima atomoma. MK, ki vsebujejo dvojne vezi, imenujemo nenasičene MK. V primerjavi z NMK se močno razlikujejo po kemičnih in fizikalnih lastnostih. Imajo nižje tališče in so bolj reaktivne (McDonald in sod., 2002). Delimo jih glede pozicije dvojnih vezi in sicer na konjugirane, nekonjugirane in alenske ter glede na geometrične izomere na cis- in trans-MK. O konjugirani kislini govorimo, kadar C atoma z dvojnima vezema ločuje ena enojna vez. Pri nekonjugirani kislini dvojne vezi v ogljikovodikovi verigi ločuje več C atomov. Za alensko kislino pa gre, ko ima posamezen C atom dve dvojni vezi (Slika 3). Od vseh nenasičenih MK je v mlečni maščobi največ oleinske kisline, njen delež je okoli 70 % (Kapš, 2004; Lobb in Chow, 2008).



Slika 3: Delitev maščobnih kislin glede na pozicijo dvojnih vezi (prirejeno po Lobb in Chow, 2008).

– **Glede na število dvojnih vezi ločimo:**

○ *Enkrat nenasičene maščobne kisline*

Ko veriga ogljikovih atomov vsebuje le eno dvojno vez, govorimo o ENMK (McDonald in sod., 2002). V primerjavi z NMK, ENMK, pri katerih je glavna predstavnica oleinska kislina (C18:1 n-9), zmanjšujejo koncentracijo LDL pri ljudeh (Mensink in Katan, 1992, cit. po Havel, 1997). Oleinska kislina zmanjšuje možnost za nastanek določenih rakavih obolenj (Havel, 1997).

○ *Večkrat nenasičene maščobne kisline*

Kadar sta v eni verigi med ogljikovimi atomi dve ali več dvojnih vezi, govorimo o VNMK (McDonald in sod., 2002). Med najpomembnejše VNMK sodi linolna kislina (C18:2 n-6), ki ima v primerjavi z oleinsko kislino še močnejši vpliv na zmanjšanje koncentracije LDL (Mensink in Katan, 1992; cit. po Havel, 1997). Linolna kislina (C18:2 n-6, n-9) in α -linolenska kislina (C18:3 n-3, n-6, n-9) skupaj z oleinsko kislino (C18:1 n-9) spadajo v družino omega MK, katere poimenujemo glede na pozicijo dvojne vezi, ki je najbližja zadnjemu omega ogljikovemu atomu (McDonald in sod., 2002). V primerjavi z mlekom neprežvekovalcev, je vsebnost VNMK v mleku prežvekovalcev majhna in sicer zaradi biohidrogenacije v vampu (Fox in sod., 2015).

– **Cis in trans konfiguracija**

Nenasičene MK najdemo v dveh oblikah oziroma konfiguracijah (Slika 4). Poznamo cis in trans konfiguracijo dvojne vezi. MK je v **cis** konfiguraciji, če sta vodikova atoma ob dvojni vezi na isti strani verige. Večina MK v naravi se nahaja v cis konfiguraciji. Cis-MK, ki je v največjem deležu prisotna v mlečni maščobi je oleinska kislina (C18:1 n-9). O **trans** MK pa govorimo, ko se vodikova atoma nahajata na nasprotni strani dvojne vezi. Med trans MK, ki se nahajajo v mlečni maščobi, sodi vakcenska kislina, ki nastane pri biohidrogenaciji maščob v vampu (tC18:1 n-7) (McDonald in sod., 2002). Kljub temu, da so rastlinske maščobe v večini v cis konfiguraciji, najdemo v njih tudi trans MK. V manjših deležih so

prisotne v semenih nekaterih rastlinskih vrst. Trans-3-heksadekanojska kislina je sestavni del maščob v kloroplastu določenih vrst zelenjave, med katere spadajo por, špinača, grah in zelena solata (Parodi, 2004). Mleko krav vsebuje v povprečju 5 % trans MK v primerjavi z rastlinskimi olji, ki lahko vsebujejo tudi 50 % trans MK (Fox in sod., 2015).



Slika 4: Cis in trans konfiguracija maščobnih kislin (prirejeno po McDonald in sod., 2002).

Po dolžini verige ločimo:

- **Kratkoverižne MK (C4 do C10).** MK iz te skupine so v mleku najbolj zastopane. Največji delež kratkoverižnih MK predstavljajo maslena (C4:0), kaprinska (C10:0), kaprojska (C6:0) in kaprilska (C8:0) kislina. Zaradi velike vsebnosti kratkoverižnih MK, je maščoba mleka bolj mehka v primerjavi s telesnimi maščobami prežvekovalcev (Kapš, 2004). Mleko prežvekovalcev vsebuje največ butanojske oziroma maslene kisline (C4:0) in sicer približno 10 % od vseh kratkoverižnih MK v mleku. Visoka koncentracija butanojske kisline izhaja iz butirata, ki nastane s pomočjo mikroorganizmov pri razgradnji ogljikovih hidratov v vampu in se preko krvi transportira v mlečno žlezo ter sodeluje pri nastanku omenjene kisline. Mleko neprežvekovalcev v primerjavi s prežvekovalci, ne vsebuje kratkoverižnih MK, izjema je mleko opic in rjavega medveda, ki vsebuje majhen delež kratkoverižnih MK. Kratkoverižne MK dajejo mleku okus in aromo (Fox in sod., 2015).
- **Srednjeverižne MK (C11 do C17).** Vanje uvrščamo lavrinsko (C12:0), miristinsko (C14:0) in palmitinsko (C16:0) kislino. Poleg kratkoverižnih MK, mleko prežvekovalcev vsebuje tudi veliko srednjeverižnih MK. Te se sintetizirajo v mlečni žlezi preko malonil-CoA (Fox in sod., 2015).

- Dolgoverižne MK ($\geq$ C18). V to skupino spadata esencialni maščobni kislini LN in LNA, poleg njih pa še oleinska (C18:1) in stearinska (C18:0) (Fox in sod., 2015).

2.2.2 Hlapne maščobne kisline

V debelem in tankem črevesu prežvekovalcev nastane veliko kratkoverižnih MK. Sem sodijo HMK. To so očetna, propionska in maslena. Nastanejo pri razgradnji ogljikovih hidratov (COH). COH delimo na enostavne sladkorje, med katere uvrščamo monosaharide (riboza, glukoza, galaktoza, fruktoza,...) in oligosaharide (maltoza, laktoza,...), v drugo skupino pa sodijo vse snovi, ki niso sladkorji in jih delimo na polisaharide (škrob, glikogen, hemiceluloza,...) ter sestavljene COH (glikolipidi, glikoproteini) (McDonald in sod., 2002).

Ko prežvekovalci zaužijejo krmo, bakterije v vampu fermentirajo rastlinska tkiva, pri čemer nastanejo številni produkti fermentacije, mikrobna biomasa ter HMK. HMK, ki nastanejo iz enostavnih sladkorjev so pomembne za lastno presnovo mikrobov in so produkt razgradnje COH v vampu. HMK se absorbirajo neposredno skozi epitel vampa in se transportirajo po krvnem obtoku. Propionska kislina neposredno sodeluje pri procesu glukoneogeneze, medtem ko očetna in maslena pri omenjenem procesu sodelujeta le posredno (Weimer in sod., 2009).

2.2.3 Esencialne maščobne kisline

Organizem sesalcev lahko poleg NMK sam sintetizira tiste MK, ki imajo dvojno vez na devetem ogljikovem atomu z metilnega konca verige (n-9). Ostalim MK, ki jih ne more sintetizirati, pravimo esencialne MK. Med glavni dve esencialni MK spadata LN (C18:2 n-6) in LNA (C18:3 n-3). Obe pripadata skupini VNMK in sta osnova za nastanek vseh ostalih n-6 in n-3 MK (McDonald in sod., 2002).

V telesu se iz LN sintetizirata arahidonska kislina (ARA) (C20:4 n-6) in gama linolenska kislina (GLA) (C18:3 n-6). Obe sta za organizem zelo pomembni, predvsem ARA, ki predstavlja osnovo za nastanek eikozanoidov (tromboksani, levkotrieni, prostaciklini in

prostaglandini) in nekatere hormonom podobne snovi, ki pomembno vplivajo na imunski sistem in krvni tlak (Mozzon in sod., 2002).

LNA, ki jo včasih poimenujemo tudi α -linolenska MK, predstavlja osnovni gradnik za vse n-3 VNMK. Mednje uvrščamo eikozapentaenojsko (EPA), dokozapentaenojsko (DPA) in dokozahexaenojsko (DHA) MK. Podobno kot arahidonska kislina, ima tudi EPA pomembno funkcijo pri sintezi specifičnih eikozanoidov. MK, ki spadajo v n-3 skupino, imajo mnoge pozitivne učinke na zdravje človeka, saj pozitivno vplivajo na bolezni srca in ožilja ter nevrološke bolezni, prav tako pa imajo pomembno vlogo pri razvoju živčnega sistema in za plodnost (Mozzon in sod., 2002).

Ravno zaradi številnih pozitivnih učinkov esencialnih MK, v zadnjem času veliko raziskav temelji na spremembah v maščobnokislinski sestavi prehranskih produktov, ki naj bi vsebovali manj NMK in več nenasičenih MK ter tako imeli večjo vsebnost predvsem LNA in daljših nenasičenih MK kot sta EPA in DHA (Demeyer in Doreau, 1999, cit. po Cabiddu in sod., 2005).

2.2.4 Vakcenska kislina

Vakcenska kislina ali trans-11-oktadecenojska kislina (tC18:1 n-7) v maščobah mleka predstavlja glavno trans MK. Prežvekovalci iz zelene krme dobijo LN in LNA, ki sta pomembni za mikrobno biohidrogenacijo v predželodcih, med katero nastanejo izomere konjugirane linolne kisline (C18:2 cis-9, trans-11) in vakcenska kislina. Njen delež od vseh MK znaša povprečno 1,7 % (Jenkins in sod., 2008, cit. po Ortego-Pérez in sod., 2010; Cabiddu in sod., 2005).

2.2.5 Konjugirana linolna kislina

Konjugirana linolna kislina (KLK) je skupina pozicijskih in geometrijskih izomer LN s konjugiranimi dvojnimi vezmi. Najdemo jo v živilih živalskega izvora, v katerih je prisotna v majhnih količinah (<1 %). Znano je, da ima KLK pozitivne fiziološke učinke in

je poleg tega tudi antikancerogena ter antiaterogena, pomembno vlogo pa ima tudi pri rasti in razvoju (Tanaka, 2005, cit. po Petzold in sod., 2013).

V mleku je bilo odkritih šest različnih izomer KKK. Od tega največji delež pripada izomeri cis-9, trans-11, ki znaša kar 80 do 90 % od celotnega deleža KKK v mleku. Kot druga najbolj pogosta izomera v mleku pa je trans-10, cis-12 (Chin in sod., 1992 in Sehat in sod., 1998, cit. po Novak, 2006).

V praksi nekateri v obrok krav molznic dodajajo trans-10 in cis-12 KKK, ki zmanjšuje količino maščob v mleku in tako izboljšuje energijsko bilanco v začetni fazi laktacije (Baumgard in sod., 2000; Odens in sod., 2007). Učinki KKK se kažejo tudi pri poteku same fermentacije v vampu. To se kaže v spremenjenih sestavi kratkoverižnih MK, poveča se razgradnja škroba in zmanjša sinteza mikrobnih beljakovin (Pappritz in sod., 2011, cit. po Petzold in sod., 2013). Posledično KKK vpliva tudi na pH in temperaturo vampa. Ravno zaradi povečane razgradnje škroba se zniža pH vampa. Ob prisotnosti KKK se s fermentacijo v vampu poveča produkcija kratkoverižnih MK in posledično tudi laktata (Kafil in sod., 2011).

2.3 MAŠČOBNOKISLINSKA SESTAVA MLEKA IN OPISI MAŠČOBNIH KISLIN

Maščobnokislinska sestava mleka se najpogosteje določa s plinsko kromatografijo visoke ločljivost (GC), s katero lahko določimo veliko število maščobnih kislin (Levart in sod., 2003).

Kot smo že omenili v mleku prevladujejo NMK (60 do 70 %), sledijo jim ENMK, katerih delež je okrog 25 do 30 %, najmanjši delež pa pripada VNMK in sicer približno 5 %. Nastanejo z *de novo* sintezo v mlečni žlezi iz acetata in butirata, nekatere pa tudi pri črpanju telesnih rezerv. Ločimo jih na kratko, srednje in dolgoverižne MK (Shingfield in sod., 2010).

Iz NMK iz krvi in tistih, ki nastanejo z *de novo* sintezo, pred esterifikacijo, kjer nastanejo triacilgliceroli, ki jih kasneje najdemo v maščobah mleka, s pomočjo Δ -9 desaturaze, ki

katalizira reakcijo, nastanejo ENMK. Zaradi aktivnosti Δ -9 desaturaze, se v mleko prenese 60 % oleinske kisline in 64 do 97 % izomer KKK, cis-9 in trans-11 KKK (Shingfield in sod., 2010).

V mleku najdemo NMK, ki vsebujejo od 4 do 24 ogljikovih atomov. Največji delež pripada palmitinski kislini, sledijo ji miristinska (8 do 14 %), stearinska (9 do 14 %), laurinska (2 do 5%), kaprinska (2 do 4 %), kaprilska (1 do 3 %), kaprojska (1 do 5 %) in maslena (2 do 5 %) kislina (Jensen, 2002). Od nenasičenih MK pa v maščobah mleka prevladuje oleinska kislina (30 do 40 %), sledijo ji esencialne kisline kot so LN (2 do 3 %) in LNA ter ARA, katerih vsebnost je 1 %. V mleku najdemo tudi druge MK, vendar se le te pojavljajo v manjših deležih (Tratnik in Božanić, 2012). V preglednici 1 so predstavljene okrajšave MK in njihovo poimenovanje.

Preglednica 1: Maščobne kisline in njihovo poimenovanje

Okrajšava	Sistematsko ime	Trivialno ime
C6:0	heksanojska	kaprojska
C8:0	oktanojska	kaprilska
C10:0	dekanojska	kaprinska
C11:0	undekanojska	
C12:0	dodekanojska	lavrinska
C12:1 n-1	cis-11-dodecenojska	
C13:0	tridekanojska	
C13:1 n-1	cis-12-tridecenojska	
C14:0	tetradekanojska	miristinska
C14:1 n-5	cis-9-tetradecenojska	miristooleinska
C15:0 iso	13-metiltetradekanojska	13-metilmiristinska
C15:0 aiso	12-metiltetradekanojska	12-metilmiristinska
C15:0	pentadekanojska	
C16:0 iso	14-metilpentadekanojska	izopalmitinska
C16:0	heksadekanojska	palmitinska
C17:0 iso	15-metilheksadekanojska	15-metilpalmitinska
C17:0 aiso	14-metilheksadekanojska	
C17:0	heptadekanojska	
C17:1 n-7	cis-10-heptadecenojska	
C18:0	oktadekanojska	stearinska
C18:1 n-9	9-oktadekenojska	oleinska kislina
C18:2 n-6	oktadekadienojska	linolna+ linolelaidinska
C18:3 n-6	oktadekatrienojska	gama linolenska
C19:0	nonadekanojska	
C19:1 n-9	cis-10-nonadecenojska	
C18:3 n-3	cis-9, 12, 15-oktadekatrienojska	linolenska
c9, t11 KLK	cis-9, trans-11-oktadekadienojska	konjugirana linolna
C20:0	eikozanojska	arahidinska
C20:3 n-6	cis-8,11,14-eikozatrienojska	
C20:4 n-6	cis-5, 8, 11, 14-eikozatetraenojska	arahidonska
C20:5 n-3	cis-5, 8, 11,14,17 eikozapentaenojska	
C22:0	dokozanojska	behenska
C23:0	trikozanojska	
C22:4 n-6	cis-7, 10, 13, 16-dokozatetraenojska	adrenska
C22:5 n-3	dokozapentaenojska	
C24:0	tetrakozanojska	

2.4 MAŠČOBA MLEKA IN MAŠČOBNE KISLINE V PREHRANI LJUDI

Maščobe v mleku so največji izvor energije (37 kJ/g maščob). Danes ljudje posegajo po hrani z manj maščobe, zato tudi proizvajalci med izdelavo mlečnih izdelkov odvzemajo maščobe iz mleka in tako zadovoljijo potrebe potrošnikov. Maščobe v mleku so izvor v maščobah topnih vitaminov A, D, E in K, poleg tega pa tako surovemu mleku kot tudi mlečnim izdelkom dajejo specifičen okus in aromo (Tratnik in Božanić, 2012).

V mleku najdemo veliko esencialnih MK kot sta LN in LNA, pa tudi ARA, ki je ni v sestavi rastlinskih maščob. Pomembna je tudi vsebnost KKK (cis-9, trans-11 C18:2), katere delovanje je antikancerogeno. Maščobe mleka v primerjavi z drugimi maščobami vsebujejo več kratkoverižnih MK. Ravno zaradi večje vsebnosti kratkoverižnih MK in znatnega deleža palmitinske kisline so maščobe v mleku hitreje in enostavnejše prebavljive kot rastlinske maščobe (Tratnik in Božanić, 2012).

Najpomembnejši fosfolipid v mleku je lecitin, ki ima vlogo stabilizatorja. Eden od sestavnih delov lecitina je holin, ki pripomore k hitrejši oksidaciji maščobe v jetrih (Tratnik in Božanić, 2012).

Človek je že v davni preteklosti udomačil živali za pridobivanje hrane, med drugim tudi mleka. Mleko je zaradi svoje sestave pomemben dejavnik za rast in razvoj organizma. Je prva in najprimernejša hrana za novorojence. Priporočljivo je, da človek uživa mleko tudi v obdobju hitreje rasti in razvoja. Kljub mnogim pozitivnim učinkom pa nekatere raziskave dokazujejo določene škodljive učinke na zdravje ljudi. V začetku 20. stoletja je veliko avtorjev poročalo o pozitivnih učinkih uživanja mleka in mlečnih izdelkov na zdravje ljudi, še posebej otrok. Kasneje pa so se začele pojavljati raziskave, ki dokazujejo, da mleko, če ga prekomerno zaužijemo, zaradi svoje vsebnosti NMK in holesterola, povzroča bolezni srca in je tudi eden od glavnih razlogov za debelost (Parodi, 2004). Za bolezni srca in ožilja so najmanj neugodne predvsem palmitinska, miristinska in lavrinska kislina, medtem ko je za kratkoverižne NMK značilno, da ne dvigujejo holesterola v krvi. MK, kot so maslena, kaprilska in kaprinska, imajo celo pozitiven učinek na zdravje ljudi. Mlečni izdelki, ki vsebujejo masleno kislino, naj bi imeli antikancerogen učinek. Kaprilska in kaprinska kislina pa zaradi hitre absorpcije zagotavljata hitrejši dotok energije (Williams, 2000; Shingfield in sod., 2008, cit. po Vahmani in sod., 2013).

V zadnjih desetletjih si znanstveniki prizadevajo, da bi spremenili maščobnokislinsko sestavo, predvsem da bi zmanjšali vsebnost NMK in spremenili razmerje med n-6 in n-3 MK v korist n-3 MK. V prehrano živali vključujejo različne rastlinske komponente, uporabljajo zaščitene maščobe in na podlagi tega se maščobnokislinska sestava mleka izboljšuje (Simopoulos, 2002 in Simopoulos, 2004, cit. po Welter in sod., 2016).

Welter in sod. (2016) so v svoji raziskavi ugotavljali učinek repičnega olja na maščobnokislinsko sestavo mleka. Olje, ki so ga uporabili, je vsebovalo slabih 92 % nenasičenih MK. Med rezultati raziskave so navedli, da se je mlečnost z uporabo oljne repice zmanjšala in da je mleko vsebovalo manj maščob. Med pozitivnimi učinki pa navajajo zmanjšanje deleža NMK, izboljšanje razmerja med n-6 in n-3 VNMK ter večji delež oleinske in KKK (cis-9, trans-11). Omenjena raziskava in še mnogo druge, ki so bile izvedene na tem področju, dokazujejo, da je prehrana živali pomemben dejavnik, ki vpliva na maščobnokislinsko sestavo mleka in da lahko tako pridobimo bolj zdravo in kakovostnejše mleko, s katerim bi pridobili potrošnikovo zaupanje, saj bi le ta pogosteje v svojo prehrano vključil mleko in mlečne izdelke.

2.5 HMELJ (*Humulus lupulus* L.)

Hmelj (*Humulus lupulus* L.) je zelnata trajnica in ovijalka, ki spada v družino konopljevok (*Cannabaceae*). Je dvodomna rastlina, kar pomeni, da na eni rastlini najdemo le moške oziroma le ženske cvetove. Po botanični klasifikaciji sodi med dvokaličnice. Pridelujemo ga v nasadih, katerih življenjska doba je običajno dvanajst do petnajst let, nekateri nasadi hmelja pa lahko dosežejo tudi starost nad dvajset let. Domovina hmelja je srednja Evropa in zahodna Azija (Čeh in sod., 2012).



Slika 5: Hmelj (*Humulus lupulus* L.) (Nikolić, 2016).

Hmelj sestavljajo nadzemni in podzemni vegetativni deli. Vsako leto odžene nadzemni del, na katerem se razvije socvetje. Na koncu rastne sezone nadzemni deli propadejo, medtem ko podzemni del prezimi. Njegove korenine segajo več metrov v globino. Hmeljne trte lahko zrastejo tudi do 9 metrov visoko (pri nas 6 do 7 metrov). V času intenzivne rasti lahko zraste okoli 25 centimetrov dnevno. Na trtah se kasneje izoblikujejo stranski poganjki in zalistniki. Listi hmelja so dolgopecljati, premenjalno nameščeni na stebela rastline. Sprva so rahlo deljeni, kasneje pa srčasti in navadno 3 do 5 delni. Robovi so nazobčani, listna ploskev pa je dlakava ter svetlo do temno zelene barve. Razvijajo se tudi moška ali ženska socvetja. Moške rastline imajo majhne rumenkasto zelene cvetove, ki so združeni v grozdasta socvetja. Ženske rastline pa imajo socvetja sestavljena iz krovnih lističev in prilistov. Na dnu vsakega prilista najdemo cvet. Lističi, prilisti in cvetovi skupaj tvorijo klaske, ki so nameščeni premenjalno. Celotnemu socvetju, ki je sestavljeno iz peclja, osrednjega vretenca in klaska, s skupnim imenom rečemo storžek. Razvijajo se tudi lupulinske žleze, v katerih se tvorijo grenčične smole, eterično olje in čreslovine, ki jim s skupnim imenom rečemo tudi hmeljeva moka. Količina in učinkovitost hmeljeve moke je odvisna od posamezne sorte in rastnih razmer. Storžki, ki vsebujejo veliko lupulina, imajo močno aromo. Pri strojnem obiranju, sušenju in med prevozom se hmeljni storžki rahlo zbijejo in nekaj lupulina izteče. Ti storžki so veliko bolj obstojni (Kocjan Ačko, 2015).

Za varjenje piva uporabljamo storžke ženskih rastlin. Moške rastline niso industrijsko pomembne, imajo pa ključni pomen v razvoju vrst hmelja (Gülz in sod., 2014). V nasadu hmelja so torej zaželeni le ženske rastline, saj ob prisotnosti moških rastlin pride do osemenjenih storžkov, ki posledično zmanjšajo količino grenčic. Oplojene storžke ločimo od neoplojenih po tem, da tvorijo oreškasta semena in so večji (Kocjan Ačko, 2015).

Hmelj je že več stoletij pomembna protimikrobna učinkovina v pivovarski industriji, prav tako pa ima dolgo zgodovino uporabe v ljudski medicini. Zaradi vsebnosti (Preglednica 2) alfa in beta kislin, eteričnih olj in polifenolov deluje protimikrobno na številne bakterijske vrste (Moir, 2000). Pivu daje okus, obstojnost in grenčino. Eterična olja hmelja poskrbijo za aromo, čreslovine in pektini dajo trpek okus ter pivo zbistrijo, grenčične smole pa so odgovorne za značilno grenčino piva. Glavni in najpomembnejši med grenčičnimi smolami so alfa in beta kisline (Kocjan Ačko, 2015).

Preglednica 2: Kemična sestava hmelja (prirejeno po: Verzele, 1986)

Kemična sestava	Delež (%)	*Pomembnost
α-kisline	2-12	XXX
β-kisline	1-10	XX
Esencialna olja	0,5-1,5	XX
Polifenoli	2,5	XX
Olja in maščobne kisline	do 25	X
Vosek in steroidi	/	
Beljakovine	15	
Celuloza	40-50	
Voda	8-12	
Klorofil	/	
Pektini	2	
Pepel	10	

*Stopnja pomembnosti je označena z X (XXX – največja pomembnost, XX – srednja pomembnost, X – najmanjša pomembnost)

2.5.1 Alfa in beta kisline

Grenčične smole, ki jih vsebujejo hmeljni storžki, delimo na mehke in trde. Med mehke smole spadajo alfa in beta kisline (Čeh in sod., 2012). Količina in sestava smol sta pogojeni z raznimi dejavniki, kot so na primer sorta, rastišče, vremenske razmere in gnojenje (Kocjan Ačko, 2015).

Alfa kisline (Preglednica 3) poleg kohumulona, adhumulona, prehumulona in posthumulona v največji meri sestavlja humulon (Simpson in Smith, 1992). Med sušenjem in skladiščenjem hmeljnih storžkov prihaja do različnih kemičnih reakcij. Najpomembnejša reakcija je izomerizacija alfa kislin v izoalfa kisline. Ker je topnost alfa kislin v vodi zelo slaba, je to lahko ovira pri predelavi hmelja v pivino. Zato je izomerizacija pomemben proces, saj so izoalfa kisline topne v vroči vodi in bolj grenke. Hmelja ne smemo predolgo skladiščiti, saj pridelek s staranjem izgublja na vsebnosti alfa kislin (Čerenak in Majer., 2002).

Preglednica 3: Kemična sestava alfa kislin (Verzele, 1986)

Sestavina	%
Humulon	35 - 70
Kohumulon	20 - 55
Adhumulon	10 - 15
Prehumulon	1 - 10
Posthumulon	1 - 5

Glavne sestavine beta kislin (Preglednica 4) so lupulon, kolupulon in adlupulon, poleg teh pa vsebujejo še prelupulon in postlupulon (Simpson in Smith, 1992). Beta kisline niso topne v vodi, zato pri varjenju piva vanj ne prehajajo in tako niso odgovorne za grenkobo piva (Čerenak in Majer, 2002). Mouratidis in sod. (2014) so v svojih raziskavah dokazali, da imajo beta kisline zaradi vsebnosti lupulona antikancerogen učinek.

Preglednica 4: Kemična sestava beta kislin (Verzele, 1986)

Sestavina	%
Lupulon	30 - 55
Kolupulon	20 - 55
Adlupulon	5 - 10
Prelupulon	1 - 3
Postlupulon	?

Simpson in Smith (1992) sta ugotovila, da alfa in beta kisline zavirajo delovanje po Gramu pozitivnih bakterij in da imajo omejeno aktivnost tudi proti po Gramu negativnim bakterijam. Protimikrobni učinek omenjenih kislin se kaže v zaviranju rasti bakterij z zniževanjem vrednosti pH, pri čemer pa imajo večji učinek beta kisline (Srečec in sod., 2011).

2.6 DODATEK HMELJA V OBROK PREŽVEKOVALCEV

Ostanke hmelja, ki jih pridobimo kot stranski produkt pivovarske industrije, že več stoletij uporabljamo tudi kot dodatek v prehrani živali. Največ jih uporabljamo v prehrani prašičev, kot dodatek k osnovnem obroku pa jih najdemo tudi v prehrani goveda. V praksi se je izkazalo, da se zdravstveno stanje živali, ki zauživajo hmelj, izboljšuje. Raziskave so potrdile tudi antibiotične učinke pri kokoših, prav tako pa so bile opravljene študije pri

ljudeh, ki so pokazale, da ima hmelj protibakterijsko delovanje na številne bakterije (Čerenak, 2014).

Dodatek hmelja v obrok prežvekovalcev ima tudi velik ekonomski pomen, tako z vidika ekološke prireje mleka kot z vidika prepovedi uporabe antibiotskih regulatorjev rasti, zaradi katerih se v zadnjem času intenzivno iščejo alternative kot so probiotiki, prebiotiki in imunomodulatorji, ki bi kot dodatki v prehrani le te nadomestili. Delež hmelja se v pivovarski industriji zmanjšuje, zaradi globalnega trenda po zmanjševanju grenčin v pivu, posledično pa zato zaloge hmelja na trgu naraščajo. Ravno zato je alternativna uporaba hmelja še toliko bolj zanimiva. Hmelj s staranjem izgublja na vsebnosti alfa kislin, kar močno zniža njegovo uporabnost v pivovarski industriji, medtem ko delež beta kislin v pogojih brez kisika ostaja enak, kar pa je z vidika delovanja hmelja na fermentacijo in mikroorganizme najbolj pomembno (Srečec in sod., 2011; Maye, 2004, cit. po Srečec in sod., 2011).

Hmelj v prehrani živali uporabljamo v obliki peletov, ki so pripravljene predhodno med mešanjem z ostalimi komponentami obroka, ali v obliki ekstrudata, pomešanega z ostalimi komponentami (Srečec in sod., 2011).

2.6.1 Vpliv hmelja na fermentacijo v vampu

Ko prežvekovalci zaužijejo krmo, bakterije v vampu fermentirajo rastlinska tkiva in ustvarjajo produkte fermentacije in mikrobne biomase ter HMK. Mikrobne celice so pomemben vir aminokislin, saj se večina beljakovin in aminokislin krme razgradi v vampu. Ko se HMK absorbirajo iz vampa, se transportirajo po krvi in sodelujejo pri procesu glukoneogeneze (Weimer in sod., 2009).

Flythe (2009) je z *in vitro* poskusom želel preveriti protimikrobni učinek hmelja na bakterije, ki sintetizirajo amoniak v vampu. Pri razgradnji beljakovin v vampu se več kot polovica aminokislin izgubi pri mikrobni razgradnji oziroma se pretvori v amoniak, katerega del preide v kri in je toksičen za organizem, nekaj pa se ga v jetrih pretvori v sečnino, ki pa se večinoma izloči s sečem in je tako neuporabna za organizem (Rychlik in

Russell, 2000). Namen raziskave Flythe (2009) je bil zmanjšati izgubo aminokislin v vampu z zmanjšanjem delovanja bakterij *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium aminophilum* in *Clostridium sticklandii*, ki so odgovorne za razgradnjo aminokislin do amoniaka v vampu. Rezultati poskusa so pokazali, da dodatek hmelja pozitivno vpliva na zmanjšanje delovanja omenjenih bakterij, pri čemer se posledično zmanjša tudi razgradnja aminokislin in produkcija amoniaka. Dejstvo, da sekundarni presnovki vplivajo na fermentacijo ni novost. Hmelj so najprej začeli dodajati v pivo, saj je zaustavil delovanje mlečnokislinskih bakterij (Sokomoto in Konings, 2003, cit. po Flythe, 2009). Zaradi teh ugotovitev je Flythe (2009) predvideval, da bo imel hmelj pozitivne učinke tudi na fermentacijo v vampu. Iz rezultatov, ki jih je pridobil v omenjenem *in vitro* poskusu je sklepal, da bi hmelj enako deloval tudi v *in vivo* pogojih. V naslednji raziskavi sta Flythe in Aiken (2010) proučevala vpliv hmelja na produkcijo HMK. V poskusu sta ravno tako uporabila sorto hmelja, ki je bogata z beta kislinami. Učinek hmelja je bil opazen že 24 ur po inkubaciji, saj se je povečala produkcija HMK. Ekstrakt dodanega hmelja je vplival tudi na povečanje razmerja med propionatom in acetatom, negativno pa je vplival na rast in presnovo mlečnokislinskih bakterij vrste *Streptococcus bovis*. Zaradi okrepljene produkcije prekursorjev glukoneogeneze, predvsem propionske kisline, sta avtorja v omenjenem poskusu dokazala, da dodatek hmelja izboljša fermentacijo v vampu.

Uporabo hmelja v prehrani prežvekovalcev so ugotavljali tudi Lavrenčič in sod. (2014) z *in vitro* poskusom. Ugotavljali so vpliv različnih sort in dodatek različne količine hmelja na razgradljivost ter prebavljivost suhe snovi in surovih beljakovin. Vzorce za inkubacijo so pripravili tako, da so bile v njih koncentracije hmelja takšne kot da bi živali v *in vivo* pogojih zaužile 50, 100 in 200 g hmeljevih storžkov dnevno. Ugotovili so, da sorta hmelja ni vplivala na razgradljivost in prebavljivost suhe snovi in surovih beljakovin. Nasprotno pa se je zgodilo pri povečanju količine dodanega hmelja, pri čemer se je vpliv hmelja pokazal pri največji dodani količini (200 g/dan). S povečanjem količine dodanega hmelja, se je zmanjšala razgradnja surovih beljakovin in tako je nastalo več beljakovin, ki so se izognile mikrobnim razgradnjam. Avtorji so ugotovili, da se delež »bypass« beljakovin s povečanjem dodanega hmelja ne povečuje linearno.

Lavrenčič in sod. (2015) so v naslednji raziskavi preverjali vpliv različnih sort hmelja na aktivnost mikroorganizmov, produkcijo plina in koncentracijo kratkoverižnih MK. Ugotovili so, da sorta hmelja ne vpliva na aktivnosti mikroorganizmov v vampu, ki so jo določali z *in vitro* produkcijo plina in tudi z določanjem koncentracije kratkoverižnih MK (ocetna, propionska in maslena). V tem primeru se je s povečanjem količine hmelja v obroku zmanjšala *in vitro* aktivnost mikroorganizmov v vampu in tudi produkcija plina, prav tako pa tudi sinteza kratkoverižnih MK. Koncentracija kratkoverižnih MK se je pri sorti Aurora zmanjšala s 4,3 % (50 g) na 3,79 % (200 g), pri sorti Dana pa s 5,24 % (50 g) na 3,67 % (200 g). Kot smo že omenili, se je s povečano količino dodanega hmelja zmanjšala tudi produkcija plina in sicer pri sorti Aurora z 290 ml/g SS (50 g) na 200 ml/g SS (200 g), pri sorti Dana pa z 278 ml/g SS (50 g) na 169 g/ml SS (200 g).

Eden glavnih problemov, s katerim se srečujemo v prehrani prežvekovalcev, je produkcija metana. V ta namen so v drugi polovici osemdesetih let prejšnjega stoletja Krishna in sod. (1986, cit. po Srečec in sod., 2011) izvedli večletno raziskavo, v kateri so želeli preveriti učinek hmeljnih pripravkov, ki so poleg hmelja vsebovali še jabolka in seno, na fermentacijo v vampu in nastanek metana. Ugotovili so, da omenjena zmes zmanjšuje nastanek metana. Poleg tega pa so v *in vitro* poskusu potrdili protibakterijski učinek hmeljnih alfa in beta kislin, pri čemer se je zmanjšala rast bakterij z zniževanjem vrednosti pH v vampu.

Narvaez in sod. (2013) so v *in vitro* pogojih proučevali učinek različnih sort hmelja na fermentacijo v vampu (Preglednica 6). Poskus so izvedli v štirih ponovitvah (kontrola (brez hmelja) in tri različne sorte hmelja) (Preglednica 5). Količina dodanega hmelja, ki so jo uporabili v poskusu je bila 800 µg/ml vampovega soka. Za izbrano količino so se odločili na podlagi ostalih raziskav, v katerih je hmelj v podobnih količinah pozitivno deloval na zmanjšanje emisij metana in razmerja med acetatom in propionatom, prav tako pa je izboljšal *in vitro* fermentacijo v vampu. V primerjavi s kontrolo je dodatek hmelja zmanjšal obseg metanogeneze in posledično produkcijo metana in ostalih plinov. Zmanjšalo se je tudi razmerje med acetatom in propionatom, prav tako pa se je zmanjšal tudi delež butirata. Večji učinek se je izkazal pri sorti z več beta kislinami. S tem so potrdili, da spremembe v koncentraciji dodanih sekundarnih presnovkov, med katere

uvrščamo alfa in beta kisline, hlapna olja (terpenoide) in fenolne kisline, vplivajo na končne produkte fermentacije.

Preglednica 5: Kemična sestava različnih sort hmelja in osnovnega obroka (Narvaez in sod., 2013)

Hmelj	Kontrola	CAS	MIL	TM
Organska snov (g/kg SS)		908	923	885
Skupni N (g/kg SS)		25,2	29,4	31
Polifenoli (g/kg SS)		136	122	159
Tanini (g/kg SS)		43,6	38,9	49,9
α -kisline (g/kg SS)		61,2	116	7,7
β -kisline (g/kg SS)		47,6	35,2	77,9
TMR				
Organska snov (g/kg SS)	935,3	932,4	933,5	931,2
Skupni N (g/kg SS)	19,6	20,5	20,4	21,2
NDV (g/kg SS)	369,8	375,5	370,4	358,5
KDV(g/kg SS)	149,8	152,9	154,4	148,1

CAS, MIL, TM – sorte hmelja (Cascade, Millennium in Teamaker), N – dušik, TMR – osnovni obrok, NDV – v nevtralnem detergentu netopna vlaknina, KDV – v kislem detergentu netopna vlaknina

Preglednica 6: Učinek različnih sort hmelja na fermentacijo v vampu (Prirejeno po: Narvaez in sod., 2013)

Parametri	Skupine				SE	P-vrednost
	Kontrola	CAS	MIL	TM		
TDMD (g/kg SS)	478 ^a	424 ^b	418 ^b	482 ^a	17,6	0,018
NDFD (g/kg SS)	267 ^a	265 ^b	257 ^b	273 ^a	3,3	0,015
Produkcija mleka						
Vsota plinov (ml)	1124,3 ^a	819,6 ^b	830,2 ^b	866,8 ^b	32,11	<0,001
CH ₄ (ml)	57,5 ^a	35,3 ^c	30,5 ^a	43,1 ^b	1,93	<0,001
Vsota HMK (mmol)	65,8	65,3	64,5	64,6	1,46	0,904
Mikrobne beljakovine (mg)	362,4	370,1	358,7	361,1	9,82	0,858
Produkcija TDMD						
Skupna vsota plinov (ml)	250,9 ^a	182,3 ^b	176,6 ^{bc}	172,6 ^c	12,76	<0,001
CH ₄ (ml)	11,9 ^a	7,8 ^{bc}	6,8 ^c	8,7 ^b	0,52	<0,001
Skupna vsota HMK (mmol)	13,2	13,8	14,2	12,8	0,42	0,095
Mikrobne beljakovine (mg)	79,7 ^b	86,9 ^a	85,4 ^a	74,1 ^b	3,21	0,028
Mikrobna aktivnost (g MB/kg)						
24h	33,3 ^a	25,9 ^{ab}	24,5 ^b	28 ^{ab}	2,71	0,159
48h	44,7 ^a	33,6 ^b	34,9 ^b	39,1 ^{ab}	2,51	0,014
NH ₃ - N (mmol/L)	5,7	5,9	5,9	5,9	0,11	0,638

CAS, MIL, TM – sorte hmelja (Cascade, Millennium in Teamaker, SE – standardna napaka, P-vrednost (<0,05), TDMD – prava prebavljivost suhe snovi, NDFD – prebavljivost v nevtralnem detergentu netopne vlaknine, HMK – hlapne maščobne kisline, MB – mikrobne beljakovine, N - dušik

Poleg pozitivnega učinka na zmanjšanje metana, prisotnost beta kislin vpliva tudi na večjo vsebnost propionata, kar ugodno vpliva na rast živali (Maye, 2004, cit. po Srečec in sod., 2011).

Učinek hmelja so proučevali tudi Wang in sod. (2010), ki jih je zanimal njegov vpliv na fermentacijo, rast živali in lastnosti klavnih polovic pri pitancih. Poskusa so se lotili v dveh delih in sicer so najprej v *in vitro* pogojih preverili vpliv hmelja na fermentacijo v vampu, vse ostale želene vplive pa so preverili z *in vivo* poskusom, v katerega so vključili 60 pitancev. Hmelj so dodajali v različnih količinah in ugotovili, da se pri večji količini (952 mg hmelja/kg suhe snovi obroka) izboljša *in vitro* fermentacija v vampu. Povečala sta se tudi koncentracija HMK in delež propionata, posledično se je zmanjšalo razmerje med acetatom in propionatom. Poleg tega pa se je povečala tudi produkcija plinov. Kljub temu, da so avtorji pričakovali določene vplive dodatka hmelja na prirast živali, podobno kot Cornelison (2006, cit. po Wang in sod., 2010), ki je s svojo raziskavo potrdil pozitivne

vplive dodatka hmelja na rast brojlerjev, so z *in vivo* poskusom ugotovili, da hmelj ni imel vpliva na prirast živali, izkoristljivost krme, lastnosti klavnih polovic in maščobnokislinsko sestavo mišičnega tkiva.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

V raziskavi smo ugotavljali vpliv dodanega hmelja v obrok krav molznic na maščobnokislinsko sestavo mleka. Poskus smo izvedli na severu Italije na kmetiji Stocco Lorenzo v Castions Di Strada. V poskus je bilo vključenih 31 krav molznic črno-bele pasme. Vse živali so bile v dobrem zdravstvenem stanju. Iz preglednice 7 je razvidno, da smo živali na začetku razdelili v dve skupini, med katerima ni bilo statistično značilnih razlik v sestavi mleka, mlečnosti, stadiju laktacije in v zaporedni laktaciji.

Preglednica 7: Prikaz sestave mleka, mlečnosti, stadija laktacije in zaporedne laktacije živali skupine 1 in 2 na začetku poskusa

Obdobje 1	Skupina 1	Skupina 2	P-vrednost
Mlečnost (kg)	16,11	16,44	0,8429
MM (%)	4,6	4,5	0,7565
MB (%)	3,44	3,45	0,9956
Kazein (%)	2,73	2,73	0,9745
SCC ($\times 10^3/\text{ml}$)	191,8	230,19	0,8461
Sečnina (mg/100 ml)	22,36	22,41	0,9781
Stadij laktacije (dni)	196,47	210,75	0,6178
Zaporedna laktacija	2,87	3,19	0,6023

MM – % mlečne maščobe, % MB – mlečne beljakovine, SCC – somatske celice, P-vrednost – $P < 0,05$ (statistično značilno)

3.2 METODE DELA

S poskusom smo začeli 6. 6. 2014 in končali 16. 7. 2014. Tako smo poskus razdelili na dve obdobji. Začetek poskusa smo označili kot obdobje 1 (O1), konec poskusa pa obdobje 2 (O2). Kot smo že omenili smo na začetku vseh 31 krav razdelili v dve skupini. V prvi skupini (S1) je skupina 16 krav poleg osnovnega obroka, ki je bil sestavljen iz koruzne silaže, mrve (lucerna) in koncentratov, dobivala še 50 g hmelja na kravo/dan. Druga skupina (S2), v katero je bilo vključenih 15 krav, je bila kontrolna skupina, ki z obrokom ni

dobila hmelja. V poskusu smo uporabili sorto hmelja Aurora. V preglednici 8 je prikazana kemična sestava omenjene sorte.

Preglednica 8: Kemična sestava hmelja – sorta Aurora (Prirejeno po: Lavrenčič in sod., 2014)

Hmelj	Aurora
SS (g/kg)	914
SB (g/kg SS)	179
Pepel (g/kg SS)	76
Kohumulon (g/kg SS)	24
Adhumulon (g/kg SS)	90,9
Kolupulon (g/kg SS)	24,1
Adlupulon (g/kg SS)	24,5
α -kisline (g/kg SS)	115
β -kisline (g/kg SS)	48,5
α -kisline/ β -kisline	2,37

SS – suha snov, SB – surove beljakovine, α -kisline/ β -kisline – razmerje med α in β kislinami

3.2.1 Določanje sestave mleka

Vzorci mleka smo odvzeli na začetku in na koncu 30 dnevnega poskusa. Prva mlečna kontrola je bila 11. 6. 2014, druga pa 17.7. 2014. Vzorce mleka so analizirali (SS, MB, kazein, MM, SC) v laboratoriju Združenja rejcev Furlanije Julijske Krajine v Codroipo (AAFVG – Associazione Allevatori del Friuli Venezia Giulia, Codroipo, Italija).

3.2.2 Priprava metilnih estrov maščobnih kislin

Kvota vzorcev, ki so jih analizirali v laboratoriju Združenja rejcev Furlanije Julijske Krajine smo uporabili za analizo maščobnokislinske sestave mleka. Metilne estre MK smo pripravili po metodi, ki sta jo razvila Park in Goins (1994) brez predhodne ekstrakcije maščob iz vzorca. Pripravo metilnih estrov MK in kasneje določitev MK s plinsko kromatografijo smo izvedli v Kemijskem laboratoriju Katedre za prehrano Biotehniške fakultete, Oddelka za zootehniko.

Priprave vzorcev mleka smo se lotili tako, da smo zmrznjene vzorce mleka najprej segreli v vodni kopeli na 38 °C. Nato smo vsak vzorec dobro premešali in natehtali 500 mg mleka

iz vsakega vzorca v epruvete z zamaškom. V pripravljene vzorce smo dodali 300 μl CH_2Cl_2 in 3 ml sveže pripravljenega 0,5 M NaOH v metanolu. Potem smo epruveto prepihali z dušikom, da smo ustvarili inertno atmosfero, s katero preprečimo oksidacijo s kisikom iz zraka. Epruveto smo nato zaprli z zamaškom in vsebino dobro premešali ter segrevali 10 minut pri 90 °C v termičnem bloku. Po segrevanju smo epruvete ohladili pod tekočo mrzlo vodo in nato vanje dodali 3 ml 12 % BF_3 v metanolu, spet prepihali z dušikom, zaprli in ponovno segreli v termičnem bloku za 10 minut pri temperaturi 90 °C. Potem smo epruvete ohladili na sobno temperaturo in vanje odpipetirali 3 ml deionizirane vode ter 1,5 ml heksana. Metilne estre maščobnih kislin smo ekstrahirali v nepolarno topilo tako, da smo epruvete stresali 1 minuto. Reakcijsko zmes smo nato dali v centrifugo in centrifugirali 10 minut pri 2000 obratih na minuto, s čemer smo ločili heksansko (vrhno plast) od vodne faze. S Pasteurjevo pipeto smo previdno odvzeli zgornjo heksansko plast in jo prenesli v stekleničke, v katerih smo hranili vzorce do analize. Pri odvzemu heksanske plasti smo morali zelo paziti, da nismo odvzeli tudi vodne faze, saj bi tako poškodovali kromatografsko kolono. Stekleničke s heksanskimi ekstrakti smo nato prepihali z dušikom, da smo odstranili kisik. Ker vzorcev nismo analizirali takoj, smo jih do analize shranili v zamrzovalnik pri temperaturi -20 °C.

3.2.3 Določitev maščobnokislinske sestave mleka s plinsko kromatografijo

Po pripravi metilnih estrov MK smo se lotili določitve MK s pomočjo plinske kromatografije (GC). Uporabili smo plinski kromatograf Agilent 6890 Series GC, opremljen z avtomatskim injektorjem in podajalnikom vzorcev in FID detektorjem. Metilne estre MK smo ločili s pomočjo kapilarne kolone (Omegawax 30) iz silike, s kemijsko vezano (bonded) stacionarno fazo polietilenglikola dolžine 30 m in notranjim premerom 0,32 mm ter debelino filma stacionarne faze 0,25 μm .

Preglednica 9 prikazuje kromatografske pogoje analize metilnih estrov maščobnih kislin. Analiza je trajala 54 minut, volumen injiciranja vzorca je bil 1 μl , način injiciranja se imenuje split, katerega razmerje je znašalo 30:1.

Preglednica 9: Temperaturni program plinske kromatografije in pretoki plinov za ločitev metilnih estrov maščobnih kislin

Začetna temperatura (°C)	185
Hitrost dviganja temperature (°C/min)	1
Končna temperatura (°C)	215
Temperatura injektorja (°C)	250
Temperatura detektorja (°C)	290
Helij (nosilni plin) (ml/min)	2
Dušik (make-up plin) (ml/min)	25
Vodik (gorilni plin) (ml/min)	40
Sintetični zrak (ml/min)	450

Med analizo se izrisuje kromatogram. Posamezne metilne estre MK smo identificirali na osnovi primerjave retencijskih časov v vzorcu z retencijskimi časi kromatografskih vrhov v standardnih raztopinah posameznih metilnih estrov. Za kalibriranje instrumenta, s katerim smo določili faktor odzivnosti posameznih MK (Response factor – Rf), smo uporabili mešan standard Nucheck 85. Na koncu smo izračunali masne deleže MK v vzorcu mleka in sicer gram posamezne MK/100 g vsote analiziranih MK (%).

3.3 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Pridobljene podatke poskusa smo najprej uredili s programom Microsoft Excel in jih kasneje obdelali s programom SAS/STAT (2004). Za obdelavo podatkov smo uporabili proceduro MEANS, s katero smo izračunali osnovne statistične parametre in proceduro GLM (General linear models), pri kateri smo preverili posamezne vplive v modelu.

V statistični obdelavi smo uporabili model (1), v katerega smo vključili sistematični vpliv obdobja in vpliv skupine ter interakcijo med njima. Razlike med skupinama smo testirali s pomočjo PDIFF opcije v LSMEANS stavku. Ker smo po obdelavi podatkov ugotovili, da interakcija med skupino in obdobjem v večini primerov ni bila statistično značilna, le te pri sami interpretaciji rezultatov nismo upoštevali.

$$y_{ijk} = \mu + O_i + S_j + O*S_{ij} + e_{ijk} \quad \dots (1)$$

kjer je:

y_i opazovana lastnost (mlečnost, stadij laktacije, MM, MB, somatske celice, posamezne MK, skupine MK)

μ srednja vrednost

O_i vpliv obdobja (O_1 , O_2)

S_j vpliv skupine (S_1 , S_2)

$O*S_{ij}$ interakcija med obdobjem in skupino

e_{ijk} ostanek

V rezultatih prikazujemo p-vrednosti za posamezni vpliv iz modela 1 in ocenjene srednje vrednosti s standardnim odklonom.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 REZULTATI

4.1.1 Analiza variance

V naslednjih preglednicah je predstavljen vpliv skupine in obdobja (P-vrednosti, R^2 , RMSE) za osnovno sestavo mleka in MK. Iz preglednic lahko razberemo, kako je dodatek hmelja vplival na posamezno lastnost. Predstavljene P-vrednosti, nam povedo, če so dobljene razlike statistično značilne ($P < 0,05$).

Preglednica 10: Vpliv skupine in obdobja na osnovno sestavo mleka

MLEKO	p-vrednosti		R^2	RMSE
	Skupina (S)	Obdobje (O)		
Mlečnost (kg)	0,986	0,927	0,002	4,61
% MM	0,924	0,077	0,054	0,84
% MB	0,759	0,746	0,005	0,48
% Kazein	0,767	0,275	0,022	0,35
SC ($\times 10^3/\text{ml}$)	0,708	0,369	0,016	547,89
Sečnina (mg/100 ml)	0,903	0,054	0,063	5,29

MM – mlečne maščobe, MB – mlečne beljakovine, SC – somatske celice, R^2 – determinacijski koeficient, RMSE – kvadratni koren napake srednje vrednosti, S – skupina 1+2, O – obdobje 1+2, $P < 0,05$ – statistično značilne razlike

Kot smo že omenili so bile v okviru poskusa opravljene meritve mlečnosti in kemijske sestave mleka v obdobju 1 in obdobju 2. Preglednica 10 prikazuje analizo variance osnovne sestave mleka (MM, MB, kazein, SC, sečnina) in mlečnosti. Iz podatkov lahko razberemo, da vpliv skupine in vpliv obdobja ni statistično značilen.

Preglednica 11: Vpliv skupine in obdobja na deleže nasičenih maščobnih kislin

NMK	p-vrednosti		R ²	RMSE
	Skupina (S)	Obdobje (O)		
C6:0	0,022	0,675	0,091	0,16
C8:0	<0,001	0,012	0,251	0,15
C10:0	0,465	0,291	0,032	0,44
C11:0	0,219	0,019	0,113	0,02
C12:0	0,928	0,202	0,031	0,55
C13:0	0,104	0,152	0,078	0,02
C14:0	0,811	0,82	0,003	1,39
C15:0	0,294	0,001	0,186	0,17
C16:0	0,843	0,622	0,011	3,41
C17:0	0,801	0,039	0,081	0,1
C18:0	0,008	0,076	0,156	1,69
C19:0	0,794	0,872	0,002	0,02
C20:0	0,024	0,248	0,103	0,04
C21:0	0,168	0,549	0,047	0,02
C22:0	0,061	0,067	0,117	0,02
C23:0	0,028	0,889	0,081	0,01
C24:0	0,008	0,572	0,136	0,02

NMK – nasičene maščobne kisline, R² – determinacijski koeficient, RMSE – kvadratni koren napake srednje vrednosti

Vpliv skupine in obdobja na NMK je predstavljen v preglednici 11. Vpliv skupine je statistično značilno vplival na deleže kaprojske (C6:0), kaprilske (C8:0), stearinske (C18:0), arahidinske (C20:0), trikozanojske (C23:0) in tetrakozanojske (C24:0) kisline. Obdobje je statistično značilno vplivalo na deleže kaprojske (C8:0), undekanojske (C11:0), pentadekanojske (C15:0) in heptadekanojske (C17:0) kisline.

Preglednica 12: Vpliv skupine in obdobja na deleže enkrat nenasičenih maščobnih kislin

ENMK	p-vrednosti		R ²	RMSE
	Skupina (S)	Obdobje (O)		
C10:1	0,252	0,948	0,027	0,05
C12:1 n-1	0,048	0,441	0,076	0,02
C13:1 n-1	0,949	0,001	0,171	0,04
C14:1 n-5	0,032	0,926	0,078	0,25
C17:1 n-7	0,026	0,013	0,176	0,07
C19:1 n-9	0,783	<0,0001	0,599	0,02

ENMK – enkrat nenasičene maščobne kisline, R² – determinacijski koeficient, RMSE – kvadratni koren napake srednje vrednosti

Skupina (Preglednica 12) je statistično značilno vplivala tudi na deleže ENMK cis-11-dodekanojske (C12:1 n-1), miristooleinske (C14:1 n-5) in cis-10-heptadekanojske (C17:1 n-7) kisline. Med obdobjema 1 in 2 pa je do statistično značilnih razlik prišlo le pri deležih cis-12-tridekanojske (C13:1 n-1), cis-10-heptadekanojske (C17:1 n-7) in cis-10-nonadecanojske (C19:1 n-9) kisline.

Preglednica 13: Vpliv skupine in obdobja na deleže večkrat nenasičenih maščobnih kislin

VNMK	p-vrednosti		R ²	RMSE
	Skupina (S)	Obdobje (O)		
C18:2 n-6	0,377	0,975	0,016	0,34
C18:3 n-6	0,052	0,282	0,081	0,02
C18:3 n-3	0,696	<0,0001	0,263	0,08
C20:3 n-6	0,091	0,806	0,061	0,02
C20:4 n-6	0,948	0,805	0,039	0,03
C20:5 n-3	0,877	0,241	0,105	0,01
C22:4 n-6	0,224	0,002	0,171	0,02
C22:5 n-3	0,613	0,314	0,029	0,01
cis-9, trans-11 KLK	0,156	0,029	0,115	0,08

VNMK – večkrat nenasičene maščobne kisline, R² – determinacijski koeficient, RMSE – kvadratni koren napake srednje vrednosti

V preglednici 13 je prikazan vpliv skupine in obdobja na deleže VNMK. Skupina v tem primeru ni statistično značilno vplivala na deleže omenjenih kislin. Pokazal pa se je vpliv obdobja, pri katerem je do statistično značilnih razlik prišlo pri deležu linolenske (C18:3 n-3) in arahidonske (C22:4 n-6) kisline ter pri deležu KLK (cis-9, trans-11).

Preglednica 14: Vpliv skupine in obdobja na deleže razvejanih maščobnih kislin

RAZVEJANE MK	p-vrednosti		R ²	RMSE
	Skupina (S)	Obdobje (O)		
C15:0 iso	0,362	0,651	0,017	0,06
C15:0 aiso	0,023	0,289	0,103	0,08
C16:0 iso	0,432	0,013	0,109	0,07
C17:0 iso	0,826	0,039	0,075	0,06
C17:0 aiso	0,18	0,541	0,043	0,05

Razvejane MK - razvejane maščobne kisline, R² – determinacijski koeficient, RMSE – kvadratni koren napake srednje vrednosti

Skupina in obdobje sta statistično vplivala tudi na deleže nekaterih razvejanih MK (Preglednica 14). Na delež 12-metilmiristinske kisline (C15:0 aiso) je statistično značilno vplivala skupina. Obdobje je statistično značilno vplivalo na deleže izopalmitinske (C16:0 iso) in 15-metilpalmitinske (C17:0 iso) kisline.

Preglednica 15: Vpliv skupine in obdobja na vsote deležev maščobnih kislin

VSOTE MK	p-vrednosti		R ²	RMSE
	Skupina (S)	Obdobje (O)		
NMK	0,104	0,893	0,046	3,89
ENMK	0,097	0,841	0,048	3,61
VNMK	0,436	0,655	0,017	0,44
n-3 VNMK	0,736	<0,001	0,225	0,08
n-6 VNMK	0,587	0,953	0,01	0,37
n-6/n-3 VNMK	0,691	<0,001	0,209	0,73
LC VNMK	0,339	0,321	0,062	0,06
LC n-3 VNMK	0,941	0,743	0,023	0,02
LC n-6 VNMK	0,262	0,278	0,067	0,05
LC n-6/n-3 VNMK	0,515	0,363	0,02	0,48
Razvejane MK	0,158	0,804	0,036	0,27

Vsote MK – vsote deležev maščobnih kislin, NMK – nasičene maščobne kisline, ENMK – enkrat nenasičene maščobne kisline, VNMK – večkrat nenasičene maščobne kisline, n-3, n-6 – omega 3 in omega 6 maščobne kisline, LC VNMK – dolgoverižne VNMK, n-6/n-3 – razmerje med omega 6 in omega 3 maščobno kislino, R² – determinacijski koeficient, RMSE – kvadratni koren napake srednje vrednosti

Iz preglednice 15 je razvidno, da skupina ni imela statistično značilnega vpliva na vsote MK, medtem ko je obdobje vplivalo na vsoto n-3 VNMK ter posledično tudi na razmerje med n-6 in n-3 VNMK.

4.1.2 Ocenjene srednje vrednosti za osnovno sestavo mleka in deleže MK med skupinama in obdobjema

V naslednjih preglednicah so predstavljene ocenjene srednje vrednosti in statistično značilne razlike skupin znotraj obdobja in med obdobjema.

Preglednica 16: Ocenjene srednje vrednosti za sestavo mleka med skupinama in obdobjema

MLEKO	OBDOBJE	SKUPINA (LSMEANS ± SEE)	
		S1	S2
Mlečnost (kg)	O1	16,1 ± 1,2	16,4 ± 1,2
	O2	16,57 ± 1,2	16,20 ± 1,2
% MM	O1	4,59 ± 0,21	4,50 ± 0,21
	O2	4,13 ± 0,21	4,19 ± 0,21
% MB	O1	3,44 ± 0,12	3,44 ± 0,12
	O2	3,36 ± 0,12	3,44 ± 0,12
% Kazein	O1	2,73 ± 0,09	2,73 ± 0,08
	O2	2,61 ± 0,09	2,65 ± 0,08
SC (x 10 ³ /ml)	O1	192 ± 141	230 ± 137
	O2	304 ± 141	370 ± 137
Sečnina (mg/100ml)	O1	22,36 ± 1,36	22,41 ± 1,32
	O2	24,89 ± 1,36	25,17 ± 1,32

MM – mlečne maščobe, MB – mlečne beljakovine, SC – somatske celice, O1, O2 – obdobje 1 (začetek poskusa), obdobje 2 (konec poskusa), S1, S2 – skupina 1 (hmelj), skupina 2 (brez hmelja), SE – standardna napaka

V mlečnosti in osnovni sestavi mleka ni bilo razlik med skupinama (Preglednica 15). Živali obeh skupin so skozi celotni poskus dajale od 16,1 do 16,6 kg mleka. Povprečna vsebnost MM je bila od 4,13 do 4,59 %, vsebnost MB pa od 3,36 do 3,44 %, medtem ko je od 2,61 do 2,73 % pripadalo kazeinu. Mleko živali je vsebovalo od 191.800 do 370.180 SC na ml. Vsebnost sečnine pa se je gibala od 22,36 do 25,17 mg na 100 ml.

Preglednica 17: Ocenjene srednje vrednosti za nasičene maščobne kisline med skupinama in obdobjema

NMK	OBDOBJE	SKUPINA (LSMEANS ± SEE)	
		S1	S2
C6:0	O1	1,27 ± 0,04	1,16 ± 0,03
	O2	1,24 ± 0,03	1,15 ± 0,05
C8:0	O1	1,37 ± 0,04 ^{Aa}	1,24 ± 0,03 ^{Bc}
	O2	1,28 ± 0,04 ^{Cb}	1,13 ± 0,05 ^{Dd}
C10:0	O1	2,65 ± 0,08	2,63 ± 0,10
	O2	2,83 ± 0,10	2,69 ± 0,15
C11:0	O1	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
	O2	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00
C12:0	O1	3,08 ± 0,09	3,13 ± 0,12
	O2	3,32 ± 0,14	3,25 ± 0,13
C13:0	O1	0,12 ± 0,00	0,11 ± 0,01
	O2	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01
C14:0	O1	12,06 ± 0,22	12,07 ± 0,33
	O2	12,24 ± 0,25	12,05 ± 0,51
C15:0	O1	1,33 ± 0,03	1,26 ± 0,03 ^a
	O2	1,45 ± 0,05	1,43 ± 0,05 ^b
C16:0	O1	32,44 ± 0,85	32,10 ± 0,71
	O2	32,36 ± 0,98	33,04 ± 0,90
C17:0	O1	0,71 ± 0,02	0,68 ± 0,01 ^a
	O2	0,74 ± 0,03	0,75 ± 0,03 ^b
C18:0	O1	12,17 ± 0,52	11,07 ± 0,36 ^a
	O2	11,47 ± 0,50	10,22 ± 0,32 ^b
C19:0	O1	0,14 ± 0,00	0,14 ± 0,00
	O2	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01
C20:0	O1	0,22 ± 0,01	0,20 ± 0,01
	O2	0,24 ± 0,01	0,21 ± 0,01
C21:0	O1	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00
	O2	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
C22:0	O1	0,09 ± 0,00	0,08 ± 0,00
	O2	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01
C23:0	O1	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00
	O2	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00
C24:0	O1	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,00
	O2	0,07 ± 0,01 ^A	0,05 ± 0,01 ^B

NMK – nasičene maščobne kisline (%), O1, O2 – obdobje 1 (začetek poskusa), obdobje 2 (konec poskusa),

S1, S2 – skupina 1 (hmelj), skupina 2 (brez hmelja), SE – standardna napaka

ABCD – različne črke znotraj obdobja označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med skupinama

abcd – različne črke znotraj skupina označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med obdobjema

V preglednici 17 so predstavljene ocenjene srednje vrednosti NMK obeh skupin znotraj obdobja in med obdobjema. Deleži NMK v skupinah se znotraj obdobja v večini primerov niso razlikovali. Do statistično značilnih razlik med skupinama je prišlo le pri deležu kaprilske kisline (C8:0) v obeh obdobjih in pri deležu tetrakozanojske kisline (C24:0) v obdobju O2. V O1 in O2 je bil delež C8:0 v mleku živali v skupini S1 večji (v O1 1,37 %,

v O2 1,28 %), v primerjavi s S2 (v O1 1,24 %, v O2 1,13 %). Skupini sta si bili že na začetku poskusa različni glede deleža C8:0 in sta se posledično razlikovali tudi na koncu. Razlika med skupinama v O1 in O2 pa je bila posledično enaka in je znašala 0,13 % oziroma 0,15 %. Delež C24:0 se je v O2 med skupinama statistično značilno razlikoval in sicer je bil pri S1 večji delež kisline (0,07 %) v primerjavi s S2 (0,05 %).

Statistično značilne razlike so se med obdobjema znotraj skupine pojavile pri deležih C8:0, pentadekanojske kisline (C15:0), heptadekanojske kisline (C17:0) in stearinske kisline (C18:0). V obdobju O1 je bil v mleku živali S2 delež C15:0 1,26 %, v obdobju O2 pa se je omenjeni delež povečal na 1,43 %. Enako se je zgodilo tudi z deležem C17:0, kjer se je delež iz O1 (0,68 %) v O2 povečal na 0,75 %. Medtem, ko se je delež C18:0 pri S2 med obdobjema zmanjšal (v O1 11,07 %, v O2 10,22 %). Pri deležu C8:0 so bile statistično značilne razlike med obdobjema pri obeh skupinah. Pri skupini S1 se je delež C8:0 v O2 zmanjšal (1,28 %) v primerjavi z O1 (1,37 %). Ravno tako pa se je delež omenjene kisline zmanjšal tudi pri skupini S2, kjer je delež C8:0 v O1 znašal 1,24 %, v O2 pa 1,13 %.

Preglednica 18: Ocenjene srednje vrednosti za enkrat nenasičene maščobne kisline med skupinama in obdobjema

ENMK	OBDOBJE	SKUPINA (LSMEANS ± SEE)	
		S1	S2
C10:1	O1	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,01
	O2	0,23 ± 0,01	0,23 ± 0,01
C12:1 n-1	O1	0,06 ± 0,00	0,07 ± 0,01
	O2	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01
C13:1 n-1	O1	0,25 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^c
	O2	0,21 ± 0,01 ^b	0,21 ± 0,01 ^d
C14:1 n-5	O1	0,77 ± 0,06	0,92 ± 0,07
	O2	0,78 ± 0,06	0,89 ± 0,06
Vsota C16:1	O1	1,75 ± 0,07	1,90 ± 0,08
	O2	1,84 ± 0,06	2,02 ± 0,12
C17:1 n-7	O1	0,28 ± 0,01	0,31 ± 0,01 ^a
	O2	0,32 ± 0,01 ^A	0,37 ± 0,03 ^{Bb}
Vsota C18:1	O1	22,80 ± 0,58	24,17 ± 0,84
	O2	22,71 ± 0,76	23,75 ± 1,17
C19:1 n-9	O1	0,14 ± 0,00 ^a	0,13 ± 0,00 ^c
	O2	0,08 ± 0,01 ^b	0,08 ± 0,01 ^d

ENMK – enkrat nenasičene maščobne kisline (%), O1, O2 – obdobje 1 (začetek poskusa), obdobje 2 (konec poskusa), S1, S2 – skupina 1 (hmelj), skupina 2 (brez hmelja), SE – standardna napaka

ABCD – različne črke znotraj obdobja označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med skupinama

abcd – različne črke znotraj skupina označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med obdobjema

V preglednici 18 so predstavljene ocenjene srednje vrednosti ENMK obeh skupin znotraj obdobja in med obdobjema. Skupini se na začetku poskusa med seboj nista statistično značilno razlikovali. Pri deležu *cis*-10-heptadekanojske kisline (C17:1 n-7) so bile statistično značilne razlike med skupinama znotraj obdobja O2. Delež te kisline v S1 (0,32 %) je bil manjši kot v S2 (0,37 %).

Statistično značilne razlike so se med obdobjema znotraj skupine pojavile pri deležu *cis*-12-tridekanojske (C13:1 n-1) in *cis*-10-nonadekanojske (C19:0 n-9) kisline. Delež C13:1 n-1 se je pri S1 in S2 zmanjšal med obdobjema (S1 v O1 0,25 %, S1 v O2 0,21 %, S2 v O1 0,24 % in S2 v O2 0,21 %). Ravno tako se je skozi poskus zmanjšal delež C19:0 n-9 in sicer pri obeh skupinah z 0,14 % (O1) na 0,08 (O2). Delež C17:1 n-7 se je znotraj S2 statistično značilno razlikoval tudi med obdobjema, saj se je delež omenjene kisline povečal iz 0,31 % (O1) na 0,37 % (O2).

Preglednica 19: Ocenjene srednje vrednosti za večkrat nenasičene maščobne kisline med skupinama in obdobjema

VNMK	OBDOBJE	SKUPINA (LSMEANS ± SEE)	
		S1	S2
C18:2 n-6	O1	1,76 ± 0,09	1,87 ± 0,06
	O2	1,79 ± 0,09	1,83 ± 0,10
C18:3 n-6	O1	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,00
	O2	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,00
C18:3 n-3	O1	0,36 ± 0,02 ^a	0,36 ± 0,02 ^c
	O2	0,44 ± 0,02 ^b	0,46 ± 0,02 ^d
C20:3 n-6	O1	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,00
	O2	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,00
C20:4 n-6	O1	0,12 ± 0,01	0,14 ± 0,00
	O2	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01
C20:5 n-3	O1	0,03 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00
	O2	0,04 ± 0,00 ^b	0,03 ± 0,00
C22:4 n-6	O1	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^c
	O2	0,06 ± 0,01 ^b	0,06 ± 0,00 ^d
C22:5 n-3	O1	0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,00
	O2	0,07 ± 0,00	0,06 ± 0,00
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 KLK	O1	0,47 ± 0,02	0,51 ± 0,03 ^a
	O2	0,44 ± 0,02	0,45 ± 0,02 ^b

VNMK – večkrat nenasičene maščobne kisline (%), KLK – konjugirana linolna kislina (%), O1, O2 – obdobje 1 (začetek poskusa), obdobje 2 (konec poskusa), S1, S2 – skupina 1 (hmelj), skupina 2 (brez hmelja), SE – standardna napaka

ABCD – različne črke znotraj obdobja označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med skupinama

abcd – različne črke znotraj skupina označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med obdobjema

V preglednici 19 so predstavljene ocenjene srednje vrednosti in statistično značilne razlike med VNМК. Med skupinama znotraj obdobja pri deležih VNМК ni bilo statistično značilnih razlik.

Pri deležih linolenske (C18:3 n-3) in adrenske (C22:4 n-6) kisline so se statistično značilne razlike pojavile znotraj skupin med obdobjema. Delež linolenske kisline (C18:3 n-3) se je pri obeh skupinah povečal z 0,36 % (O1) na 0,44 % (S1) in z 0,36% (O2) na 0,46 % (S2). Ravno tako se je pri obeh skupinah povečal delež adrenske kisline (C22:4 n-6) in sicer iz 0,05 % (O1) na 0,06 % (O2). Znotraj skupin med obdobjema je prišlo do statistično značilnih razlik tudi pri deležu cis-5, 8, 11, 14, 17-eikozapentanojski kislini (C20:5 n-3), katere delež se je pri S1 povečal iz 0,03 (O1) na 0,04 (O2) in pri deležu KKK (cis-9, trans-11), pri kateri se je znotraj S2 delež KKK zmanjšal iz 0,51 % (O1) na 0,45 % (O2). Kislina C20:5 n-3 je tudi edina MK, pri kateri se je v našem primeru izkazal statistično značilen vpliv interakcije med obdobjem in skupino in sicer je bila p-vrednost 0,02.

Preglednica 20: Ocenjene srednje vrednosti za razvejane maščobne kisline med skupinama in obdobjema

RAZVEJANE MK	OBDOBJE	SKUPINA (LSMEANS ± SEE)	
		S1	S2
C15:0 iso	O1	0,43 ± 0,02	0,41 ± 0,01
	O2	0,44 ± 0,02	0,42 ± 0,02
C15:0 aiso	O1	0,68 ± 0,02	0,62 ± 0,01
	O2	0,65 ± 0,03	0,61 ± 0,02
C16:0 iso	O1	0,51 ± 0,01	0,50 ± 0,02
	O2	0,46 ± 0,02	0,45 ± 0,02
C17:0 iso	O1	0,41 ± 0,01	0,40 ± 0,01
	O2	0,44 ± 0,02	0,44 ± 0,02
C17:0 aiso	O1	0,55 ± 0,01	0,52 ± 0,01
	O2	0,55 ± 0,02	0,54 ± 0,02

Razvejane MK– razvejane maščobne kisline (%), O1, O2 – obdobje 1 (začetek poskusa), obdobje 2 (konec poskusa), S1, S2 – skupina 1 (hmelj), skupina 2 (brez hmelja), SE – standardna napaka

ABCD – različne črke znotraj obdobja označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med skupinama

abcd – različne črke znotraj skupina označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med obdobjema

Iz preglednice 20, ki prikazuje ocenjene srednje vrednosti razvejanih MK ločeno po skupinah in obdobjih je razvidno, da ni statistično značilnih razlik znotraj skupin med obdobji in znotraj obdobja.

Preglednica 21: Ocenjene srednje vrednosti za vsote maščobnih kislin med skupinama in obdobjema

VSOTE MK	OBDOBJE	SKUPINA (LSMEANS ± SEE)	
		S1	S2
NMK	O1	70,40 ± 0,65	68,51 ± 0,94
	O2	70,28 ± 0,89	68,89 ± 1,32
ENMK	O1	26,50 ± 0,78	28,25 ± 0,88
	O2	26,51 ± 0,93	27,86 ± 1,25
VNMK	O1	3,10 ± 0,12	3,25 ± 0,08
	O2	3,21 ± 0,14	3,24 ± 0,12
n-3 VNMK	O1	0,47 ± 0,02 ^a	0,47 ± 0,01 ^c
	O2	0,55 ± 0,03 ^b	0,57 ± 0,03 ^d
n-6 VNMK	O1	2,16 ± 0,11	2,27 ± 0,06
	O2	2,22 ± 0,11	2,22 ± 0,10
n-6/n-3 VNMK	O1	4,61 ± 0,16	4,87 ± 0,11 ^a
	O2	4,11 ± 0,22	3,99 ± 0,22 ^b
LC VNMK	O1	0,38 ± 0,02	0,39 ± 0,01
	O2	0,42 ± 0,02	0,38 ± 0,01
LC n-3 VNMK	O1	0,10 ± 0,00	0,11 ± 0,00
	O2	0,11 ± 0,00	0,10 ± 0,00
LC n-6 VNMK	O1	0,28 ± 0,01	0,28 ± 0,01
	O2	0,31 ± 0,02	0,28 ± 0,01
LC n-6/n-3 VNMK	O1	2,74 ± 0,15	2,63 ± 0,09
	O2	2,82 ± 0,12	2,77 ± 0,14
Razvejane MK	O1	2,57 ± 0,06	2,45 ± 0,05
	O2	2,54 ± 0,09	2,46 ± 0,07

Vsote MK – vsote maščobnih kislin (%), NMK – nasičene maščobne kisline (%), ENMK – enkrat nenasičene maščobne kisline (%), VNMK – večkrat nenasičene maščobne kisline (%), n-3, n-6 – omega 3 in omega 6 (%), n-6/n-3 – razmerje med omega 6 in omega 3 VNMK, LC – dolgoverižne VNMK, O1, O2 – obdobje 1 (začetek poskusa), obdobje 2 (konec poskusa), S1, S2 – skupina 1 (hmelj), skupina 2 (brez hmelja), SE – standardna napaka

ABCD – različne črke znotraj obdobja označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med skupinama
abcd – različne črke znotraj skupina označujejo statistično značilno razliko ($P < 0,05$) med obdobjema

Preglednica 21 nam prikazuje ocenjene srednje vrednosti in statistično značilne razlike med vsotami MK. Statistično značilnih razlik med vsotami MK med skupinama znotraj obdobja ni bilo.

Statistično značilne razlike so se pojavile v deležu n-3 VNMK in sicer znotraj skupin med posameznimi obdobji. Pri S1 se je delež omenjenih kislin povečal z 0,47 % (O1) na 0,55 %

(O2), prav tako pa tudi pri S2, katere delež se je povečal z 0,47 % (O1) na 0,57 % (O2). Tako so se statistično značilne razlike pojavile tudi znotraj S2 pri razmerju med n-6 in n-3 VNМК, katero se je zmanjšalo iz 4,87(O1) na 3,99 (O2).

4.2 RAZPRAVA

Namen magistrske naloge je bil ugotoviti učinek dodatka hmelja na maščobnokislinsko sestavo mleka. Predpostavljamo, da bi hmelj lahko pomembno vplival na maščobnokislinsko sestavo mleka zaradi vsebnosti alfa in beta kislin. Flythe (2009) je v svoji raziskavi potrdil, da vsebnost beta kislin izboljša fermentacijo v vampu iz česar sklepamo, da bi se lahko pozitivno spremenila tudi maščobnokislinska sestava mleka. Ker do sedaj ni bilo izvedenih raziskav na temo neposrednega vpliva hmelja na maščobnokislinsko sestavo mleka, nismo mogli naših rezultatov primerjati z drugimi. Zato smo se odločili, da bomo dobljene rezultate interpretirali na osnovi raziskav o različnih krmnih dodatkih, ki podobno vplivajo na fermentacijo v vampu kot hmelj in tako poskušali razložiti učinek 50 g dodanega hmelja v obrok krav molznic. Na podlagi omenjenih raziskav smo zapisali predvidevanja, kakšen bi bil potencialen vpliv hmelja na maščobnokislinsko sestavo mleka v primeru dodanih večjih količin v obrok.

4.2.1 Vpliv skupine in obdobja na osnovno sestavo mleka in maščobne kisline

S predstavljenimi rezultati analiz varianc smo dokazali, da sta vpliv skupine in obdobja statistično značilno vplivala na nekatere MK, ne pa tudi na osnovno sestavo mleka. Kot smo že predhodno omenili, interakcija med skupino in obdobjem v večini primerov ni bila statistično značilna, zato je nismo interpretirali v rezultatih. Statistično značilen vpliv interakcije se je pokazal le pri kislini C20:5 n-3.

4.2.2 Razlike ocenjenih srednjih vrednosti sestave mleka in MK po skupinah znotraj obdobja in med obdobjema

V preglednici 16 smo predstavili povprečno mlečnost in vsebnost osnovnih parametrov sestave mleka. Iz danih rezultatov lahko razberemo, da vplivi, ki smo jih testirali v modelu niso pomembno vplivali na mlečnost in osnovo sestavo. Lahko pa tudi vidimo, da se skupini na začetku poskusa nista razlikovali glede na mlečnost in osnovno sestavo mleka, iz česar potrdimo, da smo živali v poskusu enakovredno razdelili.

Z dodatkom hmelja in posledično z alfa in beta kislinami, ki jih le ta vsebuje, smo želeli vplivati na zmanjšan potek biohidrogenacije v vampu, pri čemer bi pričakovali zmanjšanje deleža nasičenih in povečanje deleža nenasičenih MK. V našem poskusu je prišlo v kontrolni skupini do majhnega zmanjšanja nasičene MK C18:0 in povečanja C15:0 ter C17:0, medtem ko se delež posameznih NMK v skupini S1 ni spremenil. Podobno je bilo pri skupini ENMK, kjer so se deleži v obeh skupinah podobno spremenili, razen v primeru C17:1 n-7, katere delež je v skupini S1 ostal nespremenjen, v skupini S2 pa se je povečal. Prav tako se je delež večine VNMK podobno spremenil, razen v primeru C20:5 n-3 in cis-9, trans-11 KKK. V skupini S1 se je delež C20:5 n-3 povečal, pri skupini S2 pa je ostal nespremenjen. Delež cis-9, trans-11 KKK je ostal pri skupini S1 nespremenjen, medtem ko se je pri skupini S2 zmanjšal.

Flythe (2009), Flythe in Aiken (2010), Lavrenčič in sod. (2015) in Wang in sod. (2010) v svojih *in vitro* raziskavah navajajo, da večje količine dodanega hmelja (od 95 g do 200 g) pozitivno vplivajo na fermentacijo v vampu, saj se zmanjša obseg biohidrogenacije VNMK, nastane več mikrobnih beljakovin in zmanjša se produkcija plina. Zaradi tega lahko predvidevamo, da je bila količina dodanega hmelja (50 g) v našem poskusu premajhna, da bi hmelj lahko vplival na biohidrogenacijo v vampu in posledično tudi na manjši delež NMK, v korist nenasičenih MK. Seveda pa bi bilo dane ugotovitve naštetih avtorjev potrebno preskusiti še v *in vivo* pogojih.

Na podlagi že izvedenih raziskav o učinku dodatka hmelja na fermentacijo v vampu lahko domnevamo, da bi v večjih količinah lahko podobno vplival na maščobnokislinsko sestavo mleka kot česnovi olje, ki prav tako kot hmelj pozitivno vpliva na izboljšano fermentacijo v vampu (Zhi Zhu in sod., 2012). Omenjeni avtorji so v svoji raziskavi preverjali vpliv dodanega česnovega olja na maščobnokislinsko sestavo kozjega mleka. Živali so razdelili v štiri skupine, od katerih je bila ena skupina kontrolna, ostalim trem skupinam pa so v obrok dodali tri različne količine česnovega olja (od 0,57 g do 1,71 g). Ugotovili so, da s povečanjem dodane količine česnovega olja, povečamo deleže KKK in ostalih VNMK ter deleže ENMK, zmanjšajo pa se deleži NMK. Iz tega bi lahko sklepali, da ima dodatek česnovega olja pozitiven vpliv na fermentacijo v vampu, predvsem potek biohidrogenacije MK.

Krmni dodatek, ki bi lahko podobno kot hmelj, vplival na maščobnokislinsko sestavo mleka je tudi evgenol, ki ga najdemo v cimetovem olju. Tako kot hmelj ima tudi evgenol značilen širok spekter protimikrobnega delovanja proti po Gramu pozitivnim in po Gramu negativnim bakterijam. Ravno tako vpliva na zmanjšano produkcijo amoniaka in produkcijo HMK (Busquet in sod., 2006). Benchaar in sod. (2015) so ugotovili, da dodatek 50 g evgenola ni vplival na maščobnokislinsko sestavo mleka, medtem ko se je pri 75 g dodanega evgenola v obrok začel kazati manjši vpliv na biohidrogenacijo v vampu in na maščobnokislinsko sestavo mleka. Pri večji količini dodanega evgenola v obrok, se je zmanjšal delež NMK. Pozitiven učinek evgenola na biohidrogenacijo v vampu in na maščobnokislinsko sestavo mleka so v svoji raziskavi potrdili tudi Lourenço in sod. (2008).

Santos in sod. (2010, cit. po Patra, 2011) so ugotovili, da se z dodajanjem eteričnih olj v mešanici z evgenolom in koriandrovim oljem okrepi tvorba acetata, zaradi česar se posledično poveča tudi sinteza maščob. Poleg tega se je z dodatkom eteričnega olja zmanjšalo zauživanje suhe snovi, kar pa ni vplivalo na količino mleka. Vendar so Kung in sod. (2008) dokazali nasprotno, saj so z dodatkom eteričnih olj povečali količino mleka. Benchaar in sod. (2006, cit. po Patra, 2011) pa so ugotovili, da dodatek večje količine eteričnih olj poveča delež KKK v maščobah mleka.

Cardozo in sod. (2004) so v svoji raziskavi predstavili učinek cinamaldehida. Cinamaldehyd je glavna sestavina cimetovega olja, ki vsebuje kar 75 % omenjene spojine. Zgoraj navedeni avtorji so ugotovili, da cinamaldehyd zavira nastajanje peptidov, medtem ko na koncentracijo HMK nima statistično značilnega vpliva. Nasprotno so glede koncentracije HMK dokazali Busquet in sod. (2006). Ugotovili so namreč, da je dodatek cinamaldehida povečal vsebnost propionske kisline, vendar pri tem ni vplival na vsebnosti očetne in maslene kisline. V primerjavi cimetovega olja, ki vsebuje poleg cinamaldehida še 8 % evgenola, se vpliv samega cinamaldehida izrazi na povečanem deležu očetne kisline, pri čemer se delež propionske in maslene kisline ne spremeni. S to ugotovitvijo so avtorji potrdili, da k spremembam v fermentaciji pripomorejo tudi druge sestavine cimetovega olja. Busquet in sod. (2005) so v svoji raziskavi poročali, da je pomembna tudi koncentracija dodanega cinamaldehida. Ugotovili so, da nizka koncentracija cinamaldehida

ni vplivala na koncentracijo HMK. Pri večji koncentraciji cinamaldehida pa se je povečala vsebnost propionske kisline in zmanjšala vsebnost maslene kisline.

Lourenço in sod. (2008) so ravno tako preverjali dodatek cinamaldehida. Ugotovili so, da cinamaldehyd vpliva na biohidrogenacijo v vampu, vendar zavira produkcijo linolne in linolenske kisline. Nasprotno sta v svoji *in vitro* raziskavi ugotovila Benchaar in Chouinard (2009, cit. po Patra, 2011), saj sta potrdila pozitiven vpliv cinamaldehyda na biohidrogenacijo, ki v manjši meri vpliva tudi na maščobnokislinsko sestavo mleka. Učinek cinamaldehyda na fermentacijo v vampu je podoben učinku hmelja. Ravno tako se kaže na spremenjenem delovanju mikroorganizmov v vampu in njihovem izkoriščanju amoniaka v predželodcih.

Calsamiglia in sod. (2007) v raziskavi navajajo, da večje količine (od 50 do 500 g) dodanih krmnih dodatkov kot so timijan (timol), origano (timol), janež (aneol), paprika (capsaicin) in cimet (evgenol, cinamaldehyd) zaradi protimikrobnega delovanja pozitivno vplivajo na fermentacijo v vampu. Ker tudi hmelj vsebuje protimikrobne snovi kot so alfa in beta kisline in ker je z dosedanjimi raziskavami že dokazan pozitiven učinek dodanega hmelja v večjih količinah na fermentacijo v vampu lahko sklepamo, da bi večja količina dodanega hmelja v našem poskusu pozitivno vplivala tudi na maščobnokislinsko sestavo mleka. V preglednici 22 so prikazani omenjeni krmni dodatki in njihove aktivne komponente, ki imajo protimikrobno delovanje. Kar nekaj spodaj navedenih krmnih dodatkov vpliva na po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije, enako kot hmelj, saj Simpson in Smith (1992) v svoji raziskavi navajata, da je vsebnost alfa in beta kislin v hmelju pripomogla k zmanjšani aktivnosti po Gramu pozitivnih in po Gramu negativnih bakterij.

Preglednica 22: Prikaz krmnih dodatkov in njihovih protimikrobnih sestavin (Prirejeno po: Calsamiglia in sod. 2007)

Esencialna olja	→rastline	→aktivna sestavina	→vplivi mikroorganizmov
<i>Allium sativum</i>	česen	Alicin, dialil sulfida	<i>Enteropathogenic bacteria</i>
<i>Anethum graveolens</i>	koper	Limonen, karvon	po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije
<i>Capsicum annum</i>	paprika	Kapsaicin	po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije
<i>Cinnamomum cassia</i>	kitajski cimet	Cinamaldehyd	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Juniperus oxycedrus</i>	brin	Kadinen, pinen	<i>Aeromonas sobria</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Melaleuca alternifolia</i>	čajevce	Terpinen-4-ol	<i>Staph. aureus</i> , <i>E.coli</i> , po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije
<i>Origanum vulgare</i>	origano	Karvakrol, timol	po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije
<i>Pimpinella anisum</i>	janež	Anethol	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Brevibacterium linens</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i>
<i>Rosmarinus officinalis</i>	rožmarin	1,8-kineol	<i>Staph. aureus</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Syzygium aromaticum</i>	nageljnovc žbice	Evgenol	<i>E.coli</i> , <i>Staph.aureus</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>S.enteritidis</i> , <i>C.jejuni</i>
<i>Thymus vulgaris</i>	timijan	Timol, karvakrol	<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Staph.aureus</i> , <i>Aspergillus flavus</i>
<i>Zingiber officinale</i>	ingver	Zingiberen, zingeron	po Gramu pozitivne in po Gramu negativne bakterije

Iz rezultatov našega poskusa lahko vidimo, da je pri nekaterih MK (C8:0, C13:1 n-1, C17:1 n-7, C19:1 n-9, C18:3 n-3, C22:4 n-6) prišlo do statistično značilnih razlik med obdobji znotraj skupine. Vzrok za omenjene razlike bi lahko bil tudi stadij laktacije, saj so se pojavile enakovredne razlike pri obeh skupinah, zaradi česar sklepamo, da niso posledice hmelja, temveč stadija laktacije.

5 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko sprejmemo naslednje sklepe, da hmeljevi storžki v količini 50 g/žival na dan:

- Ne vplivajo na osnovno sestavo mleka (MM, MB, SC) kot tudi ne na mlečnost.
- Vplivajo na nekatere posamezne NMK. Pri C15:0 in C17:0 je dodatek hmelja preprečil povečanje deleža omenjenih kislin in preprečil zmanjšanje deleža kisline C18:0 v mleku.
- Na večino posameznih ENMK ne vplivajo. Vpliv se je pokazal le pri C17:1 n-7, pri kateri so preprečili povečanje njenega deleža v mleku.
- Na večino posameznih VNMK ne vplivajo. Do statistično značilne razlike je prišlo pri deležu C20:5 n-3 kisline, ki se je znotraj skupine S1 med obdobjema povečal z 0,03 (O1) na 0,04 % (O2). Omenjena razlika je zelo majhna, zaradi česar hmeljevim storžkom ne pripisujemo velikega vpliva. Vpliv dodanih hmeljevih storžkov se je izrazil tudi pri cis-9, trans-11 KLK pri kateri je preprečil zmanjšanje njenega deleža v mleku.
- Ne vplivajo na deleže skupin MK v mleku.
- Dodana količina hmeljevih storžkov je bila v našem poskusu premajhna. Predpostavljamo, da bi bil učinek hmelja pri večji količini večji. Za potrditev omenjene ugotovitve so potrebne dodatne raziskave z večjimi količinami hmelja v obroku.

6 POVZETEK

Mleko je zaradi svoje sestave pomemben dejavnik za rast in razvoj organizma in je tudi najprimernejša hrana za novorojence. Vendar zaradi vsebnosti NMK avtorji navajajo, da je mleko, v primeru, da ga prekomerno zauživamo, eden glavnih krivcev za debelost, nastanek holesterola in bolezni srca ter ožilja. V ta namen si strokovnjaki prizadevajo spremeniti maščobnokislinsko sestavo mleka v korist večje vsebnosti nenasičenih MK. Raziskave temeljijo na dodajanju različnih krmnih dodatkov, ki bi pozitivno vplivale na fermentacijo v vampu, predvsem postopek biohidrogenacije, katero naj bi krmni dodatki zaradi vsebnosti sekundarnih presnovkov zaustavili v tolikšni meri, da bi se čim manj nenasičenih MK pretvorilo v NMK in tako bi se posledično pozitivno spremenila tudi maščobnokislinska sestava mleka.

Eden izmed krmnih dodatkov, ki bi lahko vplival na biohidrogenacijo in posledično tudi na maščobnokislinsko sestavo mleka so tudi hmeljevi storžki. Hmelj vsebuje sekundarne presnovke kot so alfa in beta kisline, za katere je značilen protimikrobni učinek. Dosedanje *in vitro* raziskave dokazujejo pozitiven vpliv večjih količin dodanega hmelja (okrog 200 g/dan) na fermentacijo v vampu. Hmelj je pozitivno vplival na zmanjšano produkcijo metana in ostalih plinov, manjšo razgradljivost surovih beljakovin, manjšo aktivnost mikroorganizmov v vampu, zmanjšalo pa se je tudi razmerje med acetatom in propionatom. Ta dejstva nam potrjujejo pozitiven vpliv hmelja na *in vitro* fermentacijo v vampu, za kar pa bi bilo potrebno dane ugotovitve potrditi tudi v *in vivo* pogojih. Neposredni vpliv hmelja na maščobnokislinsko sestavo mleka pa je do sedaj še popolnoma ne raziskan.

Namen naše magistrske naloge je bil ugotoviti, kako dodatek 50 g hmelja na žival na dan vpliva na maščobnokislinsko sestavo mleka. Poskus smo izvedli na severu Italije na kmetiji Stocco Lorenzo v Castions Di Strada. Vanj je bilo vključenih 31 krav molznic črno-bele pasme. Živali smo na začetku poskusa razdelili v dve skupini. V prvo skupino (S1) smo vključili 16 krav molznic, ki so poleg osnovnega obroka (koruzna silaža, mrva (lucerna) in koncentrat) dnevno dobivale še 50 g hmelja. Drugo skupino (S2), v katero je bilo vključenih 15 krav, pa smo uporabili kot kontrolo skupino, torej brez dodatka hmelja v

obrok. Na začetku in na koncu poskusa smo izvedli mlečno kontrolo mleka. Omenjeni poskus je trajal 30 dni in bil razdeljen na dve obdobji in sicer obdobje 1 (O1 začetek poskusa) in obdobje 2 (O2 konec poskusa). Vzorce mleka so analizirali v laboratoriju Združenja rejcev Furlanije Julijske Krajine v Codropiu v Italiji. V Kemijskem laboratoriju Oddelka za zootehniko, Biotehniške fakultete, smo pripravili metilne estre MK, s pomočjo katerih smo s GC določili maščobnokislinsko sestavo mleka. Rezultate analize mleka in maščobnokislinske sestave smo obdelali s programom SAS/STAT (2004). Uporabili smo proceduri MEANS in GLM. V model, s katerim smo testirali z rezultate, smo vključili vpliv skupine in vpliv obdobja ter interakcijo med njima.

V sklopu našega poskusa smo ugotovili, da hmelj ni statistično značilno vplival na osnovno sestavo mleka, manjši vpliv pa je imel na maščobnokislinsko sestavo mleka. Vpliv hmelja se je pokazal pri nekaterih NMK, kjer je pri kislinah C15:0 in C17:0 preprečil povečanje njenega deleža v mleku in nasprotno pri kislini C18:0 preprečil zmanjšanje njenega deleža. Pri ENMK je dodatek hmelja pri kislini C17:1 n-7 preprečil povečanje njenega deleža, medtem ko se je delež VNMK C20:5 n-3 z dodatkom hmelja povečal. Vendar je bila razlika zelo majhna. Vsebnost omenjene kisline se je z dodatkom hmelja povečala z 0,03 % (O1) le na 0,04 % (O2). Prav tako pa je dodatek hmelja preprečil zmanjšanje deleža cis-9, trans-11 KKK v mleku.

Ker je tema, ki smo jo obravnavali, še popolnoma neraziskana, podatkov nismo mogli primerjati z drugimi raziskavami. Zato smo naše rezultate primerjali z raziskavami, v katerih so uporabili druge krmne dodatke, ki imajo enak učinek kot hmelj na fermentacijo v vampu. Ker rezultati našega poskusa nakazujejo manjši vpliv hmelja na posamezne MK, sklepamo, da je bila po vsej verjetnosti količina dodanega hmelja (50 g) v našem poskusu premajhna, saj se pozitiven vpliv drugih krmnih dodatkov na fermentacijo in tudi na maščobnokislinsko sestavo mleka kaže šele pri večjih dodanih količinah. Navsezadnje pa je tudi z *in vitro* poskusi dokazano, da ima hmelj večji učinek na fermentacijo v vampu pri večjih dodanih količinah hmelja. Na kar sklepamo, da bi se v tem primeru pokazale tudi pozitivne spremembe v maščobnokislinski sestavi mleka.

7 VIRI

- Babnik D., Verbič J., Podgoršek P., Jeretina J., Perper T., Logar B., Sadar M., Ivanovič B. 2004. Priročnik za vodenje prehrane krav molznic ob pomoči mlečne kontrole. Ljubljana, Kmetijski inštitut Slovenije: 84 str.
- Bauman D.E., Griinari J.M. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. Department of Animal Science. Annual Review of Nutrition, 23, 4: 203-227
- Bauman D.E., Mather I.H., Wall R.J., Lock A.L. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. Journal of Dairy Science, 89, 4: 1235-1243
- Baumgard L.H., Corl B.A., Dwyer D.A., Sæbø A., Bauman D.E. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 278, 1: 179-184.
- Benchaa C., Hassanat F., Petit H.V. 2015. Dose – response to eugenol supplementation to dairy cow diets: Methane production, N excretion, ruminal fermentation, nutrient digestibility, milk production, and milk fatty acid profile. Animal Feed Science and Technology, 209: 51-59
- Bruce German J., Morand L, Dillard C.J., Xu R. 1997. Milk fat composition: Targets for alteration of function and nutrition. Food science and technology. V: Welch R.A.S., Burns D.J.W., Popay A.I., Prosser C.G. (ur.). Milk composition, production and biotechnology. Wallingford, Cab International: 35-72
- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Cardozo P. W., Kamel C. 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. Journal of Dairy Science, 88: 2508-2516
- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. 2006. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 89, 2: 716-771

- Cabiddu A., Decandia M., Addis M., Piredda G., Pirisi A., Molle G. 2005. Managing Mediterranean pastures in order to enhance the level of beneficial fatty acids in sheep milk. *Small Ruminant Research*, 59, 2-3: 169-180
- Calsamiglia S., Busquet M., Cordozo P.W., Castillejos L., Ferret A. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90, 6: 2580-2595
- Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. 2004. Effect of natural plant extracts on protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *Journal of Animal Science*, 82: 3230-3236
- Čeh B., Čerenak A., Čremožnik B., Ferent N., Friškovec I., Knapič M., Košir I. J., Leskošek G., Livk J., Majer D., Naglič B., Oset Luskar M., Pavlovič M., Radišek S., Rak Cizelj M., Rovar A., Zmrzlak M., Žolnir M., Žveplan S. 2012. Hmelj od sadike do storžkov. Zbirka vsebin za izobraževanje za Nacionalno poklicno kvalifikacijo (NPK) Hmeljar/hmeljarka. Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije: 135 str.
- Čerenak A. 2014. Tudi za živali hmelj ni pregrenak. *Kmečki glas*, 71, 3: 8
- Čerenak A., Majer D. 2002. Priročnik za hmeljarje. Žalec, Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo: 248 str.
- Flythe M.D. 2009. The antimicrobial effect of hops (*Humulus lupulus* L.) on ruminal hyper ammonia-producing bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 48, 6: 712-717
- Flythe M.D., Aiken G.E. 2010. Effects of hops (*Humulus lupulus* L.) extract on volatile fatty acid production by rumen bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 109, 4: 1169-1176
- Fox P.F., Uniacke-Lowe T., McSweeney P.L.H., O'Mahony J.A. 2015. Dairy chemistry and biochemistry. Second edition. Springer International Publishing Switzerland: 584 str.

- Gülz P.G., Müller E., Herrmann T., Lösel P. 2014. Epicuticular leaf waxes of the hop (*Humulus lupulus*). Chemical composition and surface structures. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 48, 9-10: 689-696
- Harvatine K.J., Boisclair Y.R., Bauman D.E. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*, 3,1: 40-54
- Havel R.J. 1997. Milk fat consumption and human health: Recent NIH and other American governmental recommendations. Cardiovascular research institute and department of medicine University of California. V: Welch R.A.S., Burns D.J.W., Popay A.I., Prosser C.G. (ur.). *Milk composition, production and biotechnology*. Wallingford, Cab International: 13-22
- Jensen R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85, 2: 295-350.
- Kafil H., Islam A.U., Kumar Gupta S. 2011. Management of sub-acute ruminal acidosis in dairy cattle for improved production. *Advanced Veterinary Research*, 1, 2: 80-93
- Kapš P. 2004. *Mleko za zdravje*. Ljubljana, Založba Karantanija: 232 str.
- Kemp P., Lander D.J. 1984. Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *Journal of General Microbiology*, 130, 3: 527-533
- Kocjan Ačko D. 2015. *Poljščine: pridelava in uporaba*. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 187 str.
- Krečič Stres H. 2008. *Osnove živilske kemije*. Ljubljana, Biotehniški izobraževalni center: 63 str.
- Kung J., Williams P., Schmidt R.J., Hu W. 2008. A blend of essential plant oils used as an additive to alter silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*, 91, 12: 4793-4800

- Lavrenčič A., Levart A., Košir I. J., Čerenak A. 2014. Influence of two hop (*Humulus lupulus* L.) varieties on in vitro dry matter and crude protein degradability and digestibility in ruminants. *Journal of Science of Agriculture*, 94, 6: 1248-1252
- Lavrenčič A., Levart A., Košir I.J., Čerenak A., 2015. In vitro gas production kinetics and short-chain fatty acid production from rumen incubation of diets supplemented with hop cones (*Humulus lupulus* L.). *Animal*, 9, 4: 576-581
- Levart A., Salobir J., Lavrenčič A. 2003. Vpliv prehrane živali na maščobnokislinsko sestavo mleka. V: Zbornik predavanj 12. Posvetovanja o prehrani domačih živali 'Zdravčevi-Erjavčevi dnevi', Radenci, 6-7. nov. 2003. Adolf P. (ur.) Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica: 33-45
- Lobb K., Chow C.K. 2008. Fatty acids classification and nomenclature. V: Fatty acids in foods and their health implications. Third edition. New York, Marcel Dekker: 1-14
- Lourenço M., Cardozo P.W., Calsamiglia S., Fievez V. 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol, and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continuous culture fermenters. *Journal Animal Science*, 86, 11: 3045-3053
- Mach N., Baal J, Kruijt L., Smits M.A. 2010. Lipid metabolism gene expression profiles correlated with fatty acids in the milk of dairy cows fed unprotected unsaturated fatty acids. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, 2010-08-01 - 2010-08-06). Leipzig, German Society for Animal Science: 4 str.
- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A. 2002. Animal nutrition. Sixth Edition. Harlow, Pearson Education Limited: 32-480
- McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A., Sinclair L.A., Wilkinson R. G. 2011. Animal nutrition. Seventh Edition. Harlow, Pearson Education Limited: 32-52
- Moir, M., 2000. Hops – millennium review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 58, 4: 131-146.

- Mouratidis P.X.E., Colston K.W., Tucknott M.L., Tyrrell E., Pirianov G. 2014. Investigation into the anticancer effects and mechanism of action of hop β -acid lupulone and its natural and synthetic derivatives in prostate cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 65, 7: 1086-1092.
- Mozzon M., Frega N.G., Fronte B., Tocchini M. 2002. Effect of dietary fish oil supplements on levels of n-3 polyunsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in ewe milk. *Food Technology and Biotechnology*, 40, 3: 213-219
- Narvaez N., Wang Y., Xu Z., Alexander T., Garden S., McAllister T. 2013. Effects of hop varieties on ruminal fermentation and bacterial community in an artificial rumen (rusitec). *Journal of Science of Food and Agriculture*, 93, 1: 45-52
- Nawaz H., Ali M. 2016. Effect of supplemental fat on dry matter intake, nutrient digestibility, milk yield and milk composition of ruminants. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 53, 1: 271-275
- Nikolić H. 2016. Kako nam hmelj može pomoći da poboljšamo zdravlje. *Lifepress magazin*. <http://lifepressmagazin.com/zdravlje-2/bolesti/kako-nam-hmelj-moze-pomoci-da-poboljsamo-zdravlje/#> (2. maj 2016)
- Novak R. 2006. Maščobnokislinska sestava kraškega ovčjega sira. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 66 str.
- Odens L.J., Burgos R., Innocenti M., VanBaale M.J., Baumgard L.A. 2007. Effects of varying doses of supplemental conjugated linoleic acid on production and energetic variables during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 90, 1: 293-305
- Orešnik A., 1996. Vodenje prehrane krav molznic. Ljubljana, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano Republike Slovenije, Uprava RS za pospeševanje kmetijstva, Kmečki glas: 46 str.
- Orešnik A., Kermauner A. 2009. Osnove prehrane. Učbenik. Slovenj Gradec, Kmetijska založba: 179 str.

- Orešnik A., Lavrenčič A. 2013. Krave molznice. Prehrana, zdravstveno varstvo in reprodukcija. Ljubljana, Založba Kmečki glas: 179 str.
- Ortego-Pérez R., Murillo-Amador B., Espinoza-Villavicencio J.L., Palacios-Espinosa A., Carreón-Palau L., Palacios-Mechentov E., Plascenua-Jorquera A. 2010. Chemical composition and proportion of precursors of rumenic and vaccenic acids in alternative forages for the feeding ruminants in arid ecosystems. *Tropical and Subtropical Agroecosystem*, 12, 1: 33-4
- Park P.W., Goins R.E. 1994. In situ preparation fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in food. *Journal of Food Science*, 59, 6: 1262-1266
- Parodi P. W. 2004. Milk fat in human nutrition. *Australian Journal of Dairy Technology*, 59, 1: 3.
- Patra A.K. 2011. Effects of essential oils an rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 1, 6: 416-428.
- Petzold M., Meyer U., Spilke J., Dänicke S. 2013. Using rumen probes to examine effects of conjugated linoleic acids and dietary concentrate proportion on rumen pH and rumen temperature of periparturient dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98, 4: 785-796
- Rychlik J.L., Russell J.B. Mathematical estimations of hyper-ammonia producing ruminal bacteria and evidence for bacterial antagonism that decreases ruminal ammonia production. *FEMS Microbiology Ecology*, 32, 2: 121-128
- Samková E., Špička J., Pešek M., Pelikánová T., Hanuš O. 2012. Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South African Journal of Animal Science*, 42, 2: 83-100
- SAS Institute Inc., 2004. SAS/STAT 9.3. Cary, NC, SAS Institute

- Shingfield K.J., Bernard L., Leroux C., Chilliard Y. 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal Consortium*, 4, 7: 1140-1166
- Simpson W.J., Smith A.R.W. 1992. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. *Journal of applied Bacteriology*, 72, 4: 327-334
- Srečec S., Zechner-Krpan V., Petravić-Tominac V., Kozačinski L., Popovič M., Čerenak A. 2011. Hop (*Humulus lupulus* L.) secondary metabolites and possibilities of using hop in nutrition of ruminants. *Hmeljarski bilten (Hop Bulletin)*, 18: 5-13.
- Stamey Lanier J., Corl A.B. 2015. Challenges in enriching milk fat with polyunsaturated fatty acids. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6, 1: 26
- Tratnik L., Božanić R. 2012. Mlijeko i mliječni proizvodi. Zagreb, Hrvatska mljekarska udruga: 520 str.
- Vahmani P., Fredeen A., Glover K. 2013. Dairy system impacts on milk fat composition related to human health. V: *Milk fat Composition, Nutritional value and Health Implications*. Food Science and Technology. Rudd B.L. (ur). New York, Nova Science Publishers, Inc: 47-60
- Verzele M. 1986. Centenary review, 100 years of hop chemistry and its relevance to brewing. *Journal of The Institute of Brewing*, 92: 32-48
- Wang Y., Chaves A.V., Rigby F.L., He M.L., McAllister T.A. 2010. Effects of hops on ruminal fermentation, growth, carcass traits and shedding of *Escherichia coli* of feedlot cattle. *Livestock Science*, 129, 1: 135-140
- Weimer P.J., Russell J.B., Muck R.E. 2009. Lessons from the cow: what the ruminant animal can teach us about consolidated bioprocessing of cellulosis biomass. *Bioresource Technology*, 100, 21: 5323-5331
- Welter, K.C., Martins, C.M.D.M.R., de Palma, A.S.V., Martins, M.M., dos Reis, B.R., Schmidt, B.L.U., Netto, A.S. 2016. Canola oil in lactating dairy cow diets reduces milk

saturated fatty acids and improves its omega-3 and oleic fatty acid content. PloS one, 11, 3: e0151876, doi: 10.1371/journal.pone.0151876: 16 str.

Williams C. 2000. Dietary fatty acids and human health. Annales de Zootechnie, 49, 3: 165-180

Zhu, Z., Hang, S., Zhu, H., Zhong, S., Mao, S., & Zhu, W. 2012. Effects of garlic oil on milk fatty acid profile and lipogenesis-related gene expression in mammary gland of dairy goats. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93, 3: 560-567.

Žust J., Pestevšek U., Vengušt A., Jakovac Strajn B. 2009. Patologija prehrane goved, malih prežvekovalcev, prašičev in perutnine: izbrana poglavja iz higiene in patologije prehrane živali 7. Ljubljana, Veterinarska fakulteta: 304 str.

ZAHVALA

V največji meri gre zahvala mentorju doc. dr. Andreju Lavrenčiču in somentorici asist. dr. Alenki Levart za strokovno kritiko, pomoč pri pisanju in izdelavi magistrske naloge ter za vse spodbudne besede tako med časom študija kot tudi pri izdelavi naloge.

Posebna zahvala tudi celotni ekipi kemijskega laboratorija Katedre za prehrano za pomoč in nasvete pri izvedbi laboratorijske analize.

Zahvaljujem se vsem kolegom, ki so bili ob meni skozi celoten študij, me bodrili in pomagali ter popestrili preživeta študijska leta, še posebej Nini, Karin in Alenki. Brez vas bi bilo veliko težje in študijska leta ne bi bila tako lepa. Hvala!

Prisrčna hvala prav tako prijateljici Tamari za vse nasvete, motivacijo, spodbudne besede, smeh in solze ter vero v uspeh. S pravimi prijatelji je pot do zastavljenih ciljev mnogo lažja. Hvala, ker si!

Zahvala gre tudi mojim domačim za vso podporo in potrpežljivost. Najlepša hvala predvsem mojim staršem za vso skrb, pohvale in kritike ter finančno podporo, ki mi je omogočila dokončati študij.

Navsezadnje hvala vsem, ki ste mi kakorkoli pomagali in me podpirali ter verjeli, da bom postala magistrica zootehnike.