

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Jakob LESKOVEC

**VPLIV EKSTRAKTOV OLJČNIH LISTOV IN
OGNJIČA NA IZKORISTLJIVOST HRANIL IN
ENERGIJE PRI PIŠČANCIH**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij - 2. stopnja

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Jakob LESKOVEC

**VPLIV EKSTRAKTOV OLJČNIH LISTOV IN OGNJIČA NA
IZKORISTLJIVOST HRANIL IN ENERGIJE PRI PIŠČANCIH**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij - 2. stopnja

**THE EFFECT OF OLIVE LEAVES AND MARIGOLD EXTRACTS ON
UTILIZATION OF NUTRIENTS AND ENERGY IN BROILERS**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2015

Magistrsko delo je zaključek magistrskega študija 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 diplomskega projekta imenovala prof. dr. Janeza Salobirja in za somentorico asist. dr. Vido Rezar.

Komisija za oceno in predstavitev:

Predsednik: doc. dr. Silvester ŽGUR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Janez SALOBIR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: doc. dr. Vida REZAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Recenzent: doc. dr. Dušan Terčič
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora: 10. 9. 2015

Podpisani 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.

Jakob Leskovec

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Du2
- DK UDK 636.5.084/.087(043.2)=163.6
- KG perutnina/pitovni piščanci/prehrana živali/oljčni listi/ognjič/hranila/energija/izkoristljivost
- AV LESKOVEC, Jakob
- SA SALOBIR, Janez (mentor)/REZAR, Vida (somentorica)
- KZ SI-1230 Domžale, Groblje 3
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- LI 2015
- IN VPLIV EKSTRAKTOV OLJČNIH LISTOV IN OGNJIČA NA IZKORISTLJIVOST HRANIL IN ENERGIJE PRI PIŠČANCIH
- TD Magistrsko delo (Magistrski študij - 2. stopnja)
- OP IX, 57 str., 24 tab., 1 sl., 67 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Rastlinske bioaktivne snovi so potencialno zanimivi dodatki za izboljšanje zdravja in proizvodnosti živali ter kakovosti živalskih proizvodov. V raziskavi smo proučevali učinke dodatka ekstraktov oljčnih listov in ognjiča na izkoriščanje nekaterih hranil in energije pri pitovnih piščancih krmljenih s krmo, ki je vsebovala olje z manjšo ali večjo oksidativno stabilnostjo. V bilančno raziskavo smo vključili 36 pitovnih piščancev, ki smo jih razdelili v 6 skupin. Piščanci v posameznih skupinah so dobivali krmo z lanenim ali orehovim oljem ter brez ali z dodatkom ekstraktov oljčnih listov ali lističev cvetov ognjiča. V raziskavi smo merili bilanco in izkoristljivost suhe in organske snovi, pepela, beljakovin, maščob, različnih frakcij ogljikovih hidratov ter mineralov Ca, P, Mg, Mn, Fe, Cu in Zn. Rezultati kažejo, da ekstrakt oljčnih listov poveča izkoristljivost Mn, Fe in Zn in zmanjša izkoristljivost v kislem detergentu netopne vlaknine. Ekstrakt ognjiča pa poveča izkoristljivost Fe in zmanjša izkoristljivost beljakovin, KDV, Mg, Cu in Zn. Ekstrakta vplivata predvsem na poslabšanje izkoristljivosti mineralov, kar lahko negativno deluje na živali in okolje. Rezultati kažejo, da oksidativna stabilnost olja nima vpliva na delovanje uporabljenih ekstraktov.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Du2
- DC UDC 636.5.084/.087(043.2)=163.6
- CX poultry/broilers/animal nutrition/olive leaves/marigold/nutrients/energy/utilization
- AU LESKOVEC, Jakob
- AA SALOBIR, Janez (supervisor)/REZAR Vida (co-advisor)
- PP SI-1230 Domžale, Groblje 3
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Animal Science
- PY 2015
- TY IMPACT OF MARIGOLD AND OLIVE LEAVES EXTRACTS ON THE
UTILIZATION OF NUTRIENTS AND ENERGY IN BROILERS
- DT M. Sc. Thesis (Master Study Programmes)
- NO IX, 57 p., 24 tab., 1 fig., 67 ref.
- LA sl
- Al sl/en
- AB Plant bioactive substances are potentially interesting supplements to improve health and quality of livestock and animal products. In this study, we investigated the additive effects of olive leaf and marigold extracts on the utilisation of certain nutrients and energy in broilers fed with feed containing oil with lower or higher oxidative stability. The balance study included 36 broiler chickens, divided into 6 groups. Chickens in each group received certain feed, either with linseed or walnut oil, and feed with or without the extracts of olive leaves or petals of marigold flowers. In this study we measured balance and utilisation of dry and organic matter, ash, protein, fat, various fractions of carbohydrates and minerals Ca, P, Mg, Mn, Fe, Cu and Zn. The results show that olive leaf extract increases the utilisation of Mn, Fe and Zn and reduces utilisation of acid detergent insoluble fiber, in addition marigold extract increases utilisation of Fe and reduces utilisation of proteins, KDV, Mg, Cu and Zn. Extracts mainly influence the deterioration of utilisation of minerals, which can negatively work on animals and the environment. Results also showed that the oxidative stability of oil does not affect the performance of the extracts.

KAZALO VSEBINE

	str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE.....	V
KAZALO TABEL.....	VII
KAZALO SLIK.....	VII
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI.....	VIII
SEZNAM GESEL	IX
1 UVOD.....	1
2 PREGLED OBJAV	4
2.1 BIOAKTIVNE SNOVI OLJK (<i>Olea europaea</i>).....	4
2.1.1 Bioaktivne snovi v oljki (<i>Olea europaea</i>)	5
2.1.2 Fenoli v oljki (<i>Olea europaea</i>).....	5
2.1.3 Bioaktivnost biofenolov oljke (<i>Olea europaea</i>)	8
2.1.3.1 Antioksidativno delovanje biofenolov oljk.....	8
2.1.3.2 Antimikrobna aktivnost biofenolov oljk	9
2.1.3.3 Ostale bioaktivnosti fenolov oljk	11
2.2 BIOAKTIVNE SNOVI OGNJIČA (<i>Calendula officinalis</i>).....	12
2.2.1 Biofenoli v ognjiču	13
2.2.2 Bioaktivnost fenolov v ognjiču	14
2.2.2.1 Antioksidativno delovanje biofenolov ognjiča.....	14
2.2.2.2 Antimikrobna aktivnost biofenolov ognjiča.....	15
2.2.2.3 Ostale bioaktivnosti fenolov ognjiča.....	15
2.3 UPORABA RASTLINSKIH BIOAKTIVNIH SNOVI V REJI PERUTNINE....	16
2.3.1 Vpliv dodatka biofenolov na proizvodne lastnosti pitovnih piščancev.....	17
2.3.2 Vpliv dodatka biofenolov na prebavo in lastnosti ekskrementov	20
2.3.3 Vpliv dodatka biofenolov na kakovost proizvodov	23
3 MATERIAL IN METODE.....	26
3.1 BILANČNI POSKUS.....	26
3.2 SESTAVA OBROKOV IN OSNOVNIH KRMNIH MEŠANIC.....	27
3.3 ODVZEM VZORCEV EKSKREMENTOV	32
3.4 UPORABLJENE ANALITSKE METODE.....	32
3.4.1 Groba suha snov (GSS).....	32
3.4.2 Suha snov (SS)	32
3.4.3 Surovi pepel (SP)	32
3.4.4 Organska snov (OS)	32
3.4.5 Surove beljakovine (SB).....	33
3.4.6 Surove Maščobe (SM)	33
3.4.7 Organski ostanek (OO).....	33
3.4.8 V nevtralnem detergentu netopna vlaknina (NDV)	33
3.4.9 V kislem detergentu netopna vlaknina (KDV)	33
3.4.10 Merjenje vsebnosti mineralov	33
3.4.11 Bruto (sežigna) energija (BE).....	34
3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	35

4	REZULTATI	36
4.1	REZULTATI BILANČNEGA POSKUSA.....	37
4.1.1	Suha snov.....	37
4.1.2	Vsebnost suhe snovi v ekskrementih	37
4.1.3	Organska snov	38
4.1.4	Surove beljakovine	38
4.1.5	Surove maščobe	39
4.1.6	V nevtralnem detergentu netopna vlaknina	39
4.1.7	V kislem detergentu netopna vlaknina.....	40
4.1.8	Organski ostanek.....	40
4.1.9	Bruto energija	41
4.1.10	Surovi pepel.....	41
4.1.11	Fosfor	42
4.1.12	Kalcij.....	42
4.1.13	Magnezij.....	43
4.1.14	Mangan.....	43
4.1.15	Železo	44
4.1.16	Baker.....	44
4.1.17	Cink.....	45
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	46
5.1	RAZPRAVA	46
5.2	SKLEPI	50
6	POVZETEK.....	51
7	VIRI.....	52
	ZAHVALA	

KAZALO TABEL

	str.
Tabela 1: Prevladujoči biofenoli v oljki in njenih produktih ter znani učinki na delovanje (Obied in sod., 2005).....	11
Tabela 2: Prikaz sestave krmnih mešanic posameznih poskusnih skupin.....	26
Tabela 3: Sestava in analiza osnovne krmne mešanice.....	28
Tabela 4: Vsebnost hranil v premiksu.....	29
Tabela 5: Maščobnokislinska sestava lanenega in orehovega olja.....	30
Tabela 6: Kemijska analiza krmnih mešanic.....	31
Tabela 7: Spreminjanje telesne mase v času bilance.....	36
Tabela 8: Rezultati bilance in izkoristljivosti suhe snovi (SS).....	37
Tabela 9: Rezultati analize koncentracije suhe snovi (SS).....	37
Tabela 10: Rezultati bilance in izkoristljivosti organske snovi (OS).....	38
Tabela 11: Rezultati bilance in izkoristljivosti surovih beljakovin (SB).....	38
Tabela 12: Rezultati bilance in izkoristljivosti surovih maščob (SM).....	39
Tabela 13: Rezultati bilance in izkoristljivosti v nevtralnem detergentu netopne vlaknine (NDV).....	39
Tabela 14: Rezultati bilance in izkoristljivosti v kislem detergentu netopne vlaknine (KDV).....	40
Tabela 15: Rezultati bilance in izkoristljivosti organskega ostanka (OO).....	40
Tabela 16: Rezultati bilance in izkoristljivosti bruto energije (BE).....	41
Tabela 17: Rezultati bilance in izkoristljivosti surovega pepela (SP).....	41
Tabela 18: Rezultati bilance in izkoristljivosti fosforja (P).....	42
Tabela 19: Rezultati bilance in izkoristljivosti kalcija (Ca).....	42
Tabela 20: Rezultati bilance in izkoristljivosti magnezija (Mg).....	43
Tabela 21: Rezultati bilance in izkoristljivosti mangana (Mn).....	43
Tabela 22: Rezultati bilance in izkoristljivosti železa (Fe).....	44
Tabela 23: Rezultati bilance in izkoristljivosti bakra (Cu).....	44
Tabela 24: Rezultati bilance in izkoristljivosti cinka (Zn).....	45

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Biofenoli in fenolom podobni produkti identificirani v oljkah ali oljni pulpi (Obied in sod., 2005).....	7

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

ABTS	2,2-azobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kislina
AGP	α -1-glikoprotein
BE	bruto energija
BHA	butiliran hidroksianizol
BHT	butiliran hidroksitoluen
Ca	kalcij
Cu	baker
DNA	deoksiribonukleinska kislina
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal
Fe	železo
FRAP	železo-reducirajoči antioksidacijski test
GSH	celični glutation
GSS	groba suha snov
HDL	lipoproteini z visoko gostoto
KDV	v kislem detergentu netopna vlaknina
kJ	kilo joul
KS	kortikosteron
LDL	lipoproteini z nizko gostoto
MDA	malondialdehid
Mg	magnezij
MK	maščobne kisline
Mn	mangan
NDV	v nevtralnem detergentu netopna vlaknina
OO	organski ostanek
OS	organska snov
P	fosfor
ROS	reaktivne kisikove spojine
SB	surove beljakovine
SM	surove maščobe
SP	surovi pepel
SS	suha snov
TBARS	reaktivne substance tiobarbiturne kisline
TBA	tiobarbiturna kislina
Zn	cink

SEZNAM GESEL

EKSTRAKT: Ekstrakt je z različnimi topili pridobljena trdna ali tekoča snov določene substance (npr. rastlin). Tudi izvleček.

POLIFENOLI: Polifenoli so sekundarni metaboliti rastlin, za katere je značilno povezovanje več fenolnih spojin v enotno strukturo. Pripisujemo jim najrazličnejše načine delovanja kot je antioksidativno, antimikrobno, antiinflamatorno itd.

SEKUNDARNI METABOLITI: Sekundarni metaboliti so organske spojine, ki niso normalno povezane z rastjo, razvojem in razmnoževanjem organizma. Nastajajo, kot podpora primarnim metabolitom, njihovo pomanjkanje pa nima odločilnega vpliva na obstoj organizma.

IZKORISTLJIVOST HRANIL: Z izkoristljivostjo hranil označujemo delež hranljivih snovi, ki se absorbira v prebavilih živali, zmanjšan za endogene izgube. Izračunamo jo po formuli: $(\text{bilanca snovi (g)} / \text{količina zaužite snovi (g)}) \times 100$

1 UVOD

Poglavitni cilji reje živali za prirejo hrane so zagotavljati visoko proizvodnost in zdravje živali ter prehransko in tehnološko kakovost proizvodov. Za doseganje teh ciljev so se v preteklosti morale izboljšati ne le genetske lastnosti živali, ampak predvsem pogoji in tehnologija reje. Nekoč so se v prehrani živali tudi zaradi pogosto ne dovolj dobrih pogojev reje uporabljali nutritivni antibiotiki. Zaradi nevarnosti navzkrižne rezistence so njihovo uporabo v Evropi začeli omejevati in jo dokončno prepovedali leta 2005 (Salobir, 2011). V Ameriki in mnogih drugih državah je njihova uporaba, kot tudi uporaba nekaterih hormonov, še vedno dovoljena. Ker so nutritivni antibiotiki imeli mnogo ugodnih učinkov, se iščejo za živali in okolje sprejemljivejše alternative, ki pa morajo biti seveda učinkovite. Z naravnimi dodatki so rejci poleg ugodnega delovanja na zauživanje in prebavo pridobili tudi druge fiziološke učinke, učinke na splošno zdravje živali, izboljšanje kvalitete proizvodov itd. Zaradi nekaterih raziskav, ki so pokazale možnost uporabe dodatkov, so potencialno zanimivi za uporabo v prehrani živali. Vse to je spodbudilo strokovno javnost, da je začela poglobljeno preučevati učinke in možnosti uporabe naravnih krmnih dodatkov (Jamroz in sod., 2005; Frankič in sod., 2009; Tavares in sod., 2011; Wallace in sod., 2010; Gurbuz in sod., 2010).

Rastlinski krmni dodatki, ki vsebujejo različne sekundarne metabolite, imajo lahko različne ugodne učinke na apetit in zauživanje krme, lahko izboljšajo endogeno sekrecijo prebavnih encimov, aktivirajo imunski odziv, delujejo antikancerogeno, protivnetno, hipoglikemično, protiglivično, pospešujejo celjenje ran in imajo antibakterijski, antiviralni, antioksidativni in antihelmintični učinek (Jamroz in sod., 2005; Obied in sod., 2005).

Tudi oljka (*Olea europaea*) in ognjič (*Calendula officinalis*) sta rastlini, v katerih najdemo sekundarne metabolite (predvsem polifenole), ki bi pri živalih in ljudeh lahko imeli ugodne učinke na prej omenjene lastnosti.

Oljke (*Olea europaea*) so vir različnih bioaktivnih snovi z indici in dokazanim delovanjem s pozitivnimi učinki: hidroksitirozol, oleuropein, tirozol, kafeinska kislina, vanilinska kislina, verbaskozid, derivati elenolne kisline, p-kumarna kislina, katehol, rutin itd. (Obied in sod., 2005).

Ognjič (*Calendula officinalis*) vsebuje različne polifenole, karotenoide (provitamin vitamina A), triterpenoide, eterična olja, stearin, flavonoide, kumarin in različne makro- in mikroelemente (Korakhashvili in sod., 2007).

Oljka in ognjič sta dobro znani rastlini, ki se ju tradicionalno uporablja v zdravstvu, zeliščarstvu in veterinarski medicini, saj vsebujeta biološko aktivne kompleksne substance, ki imajo učinke na zdravje človeka in živali (Obied in sod., 2005; Korakhashvili in sod., 2007), zato predvidevamo, da bi oljka in ognjič lahko imela učinek na zdravje, prebavo, izkoristljivost, prebavljivost hranljivih snovi ter energije in druge biološko pomembne lastnosti živali.

Raziskave kažejo, da v prehrani ljudi razvitega sveta velikokrat primanjkuje (dolgoveržnih) n-3 maščobnih kislin ali da je porušeno razmerje v vnosu n-3 in n-6 maščobnih kislin (Salobir, 2011). Prehranski trendi v prehrani ljudi zato stremijo k temu, da se vanjo vključuje več večkrat nenasičenih (dolgoveržnih) maščobnih kislin. S prehrano živali, predvsem z vključevanjem primernih olj, je mogoče močno vplivati na kakovost maščob oz. njihovo maščobno-kislinsko sestavo in s tem na prehransko vrednost mesa in živalskih proizvodov. S tem, ko se spremeni maščobnokislinska sestava maščob v zaželenih delih trupov (subkutano ter intramuskularno) ter tudi v ostalih tkivih, pride zaradi večje vsebnosti večkrat nenasičenih maščobnih kislin tudi do večjega oksidativnega stresa, kar lahko vodi do poslabšanja zdravja živali, slabših proizvodnih rezultatov, padca kakovosti in obstojnosti živalskih proizvodov itd. Za preprečevanje prekomernega oksidacijskega stresa se v krmo dodajajo antioksidanti, ki morajo biti učinkoviti in neškodljivi zdravju živali in ljudi. Sodobne želje porabnikov so antioksidanti naravnega izvora ter čim manjši vpliv na okolje (Frankič, 2009). Pestro paleto najrazličnejših antioksidantov vsebujeta tudi ognjič in oljka, zato bi lahko pripomogla k zaviranju oz. preprečevanju negativnih posledic oksidativnega stresa.

Raziskav na področju uporabe ognjiča in oljk kot krmnih dodatkov za izboljšanje proizvodnosti in zdravja živali ter kakovosti živalskih proizvodov je zelo malo. Podatki so velikokrat nepopolni in nasprotujoči, zato je bil cilj magistrskega dela ugotoviti ali dodatek ekstrakta oljk in ognjiča izboljšata izkoriščanje hranil in energije pri hitro rastočih piščancih v krmi z dvema različnima viroma maščob, to je z oksidativno bolj stabilnim orehovim oz. oksidativno manj stabilnim lanenim oljem.

V ta namen smo piščance razdelili v več skupin, ki so dobivale krmo z dodatkom lanenega ali orehovega olja in ki jim je bil ali ni bil primešan dodatek ekstrakta ognjiča ali oljčnih listov. V poskusu smo spremljali zauživanje krme, zbirali ekskreme ter izmerili izkoristljivost energije in hranil: surove beljakovine, surove maščobe, v nevtralnem in kislem detergentu netopna vlaknina, organska snov, organski ostanek, kalcij, fosfor, magnezij, železo, cink, mangan in baker. Izmerili smo tudi suho snov ekskrementov.

Delovni hipotezi raziskave sta bili, da ekstrakti oljke in ognjiča pri pitovnih piščancih ugodno vplivajo na razmere v prebavilih in na presnovne procese do te mere, da pride do izboljšanja izkoristljivosti hranil in energije ter da je učinek dodatkov na oksidativno bolj nestabilnem lanenem olju večji kot na oksidativno manj občutljivem orehovem olju.

2 PREGLED OBJAV

V zadnjem času so rejci in strokovna javnost izboljšali tehnologijo reje, prehrano, genetske lastnosti živali itd. Za ugoden rezultat reje morajo rejci, če želijo uspeti na zahtevnem trgu, imeti čedalje več znanja, opreme in kapitala. Z izboljšanjem pogojev reje, sta se izboljšala tudi zdravje in počutje živali, zato je zakonodaja lahko omejila, in kasneje tudi prepovedala, uporabo nutritivnih antibiotikov. S tem so veliko pridobili tako rejci kot živali, poleg tega je s tem ukrepom izločen problem (navzkrižne) rezistence na antibiotike, ki je včasih predstavljal veliko tveganje pri uporabi nutritivnih antibiotikov. Za namen zamenjave nutritivnih antibiotikov je strokovna javnost začela iskati nadomestne snovi z enakim ali podobnim učinkom. Vsekakor predstavljajo za določen sloj trga živalski produkti, prirejeni z uporabo naravnih nadomestkov, dodano vrednost, za katero so potrošniki pripravljeni plačati tudi višjo ceno. Takšna dodatka bi lahko bila tudi ekstrakta oljk (*Olea europaea*) ali ognjiča (*Calendula officinalis*), ki sta se pri nekaterih raziskavah že pokazala kot primerna dodatka z dokazano bioaktivnostjo (Jamroz in sod., 2005; Frankič in sod., 2009; Tavarez in sod., 2011; Wallace in sod., 2010; Gurbuz in sod., 2010).

2.1 BIOAKTIVNE SNOVI OLJK (*Olea europaea*)

Divja drevesa oljke so bila poznana že v času naših prednikov, obstaja celo prepričanje, da se je človek že v prazgodovini posluževal plodov divjih oljčnih rastlin. S selekcijo rastlin in z izboljšanjem tehnologije gojenja, se je izboljševala kakovost plodov, o kateri govorimo danes. Oljke so ena izmed starejših gojenih drevesnih vrst, izvor pa še do danes ni povsem pojasnjen, a najverjetneje izvirajo iz področja Male Azije, Bližnjega vzhoda in SV dela Afrike (Bučar-Miklavčič in sod., 1997).

Zaradi svojih pozitivnih lastnosti oljko mnoge religije in mitologije uvrščajo med sveta drevesa. Oljka je simbol miru, znanosti, modrosti in zmage. Že v starih grških in rimskih kulturah so poleg znanih prehranskih lastnosti oljk poznali tudi mnoge zdravilne in prebavne učinke te rastline in jih tudi s pridom uporabljali.

S selekcijo oljk so razvili mnogo različnih sort oljk, ki imajo vse zelo podobne lastnosti glede vsebnosti in vrst bioaktivnih snovi, ki so zelo raznovrstne in jim pripisujemo mnoge ugodne učinke na organizem (Bučar-Miklavčič in sod., 1997).

Največkrat se v prehrani ljudi uporablja samo oljčni sok (oljčno olje), pri tem nastane veliko stranskih produktov stiskanja in drugih agrotehničnih ukrepov, ki bi jih potencialno

lahko uporabili v prehrani živali. Tudi ti stranski produkti namreč vsebujejo snovi, ki bi lahko vplivali na rast, razvoj organizma in s tem izboljšali produkte animalnega izvora, zato se v prehrani živali potencialno lahko uporablja tudi ekstrakt oljčnih listov (Vesel in sod., 2009).

V Sloveniji predelamo približno 3.000 ton oljk, ob tem nastane 2.100 ton tropin ter približno 200 ton listov. Nekatere oljarne že izkoriščajo stranske produkte stiskanja olja (koščice za gorivo), ostanki listja in tropin pa predstavljajo problem tako za okolje kot za proizvajalca. Tudi iz tega razloga je smiselno iskati nove načine uporabe in reciklaže stranskih produktov predelave, npr. kot krmni dodatek živalim (Salobir in sod., 2013).

2.1.1 Bioaktivne snovi v oljki (*Olea europaea*)

Biofenoli imajo zaradi njihove biološke aktivnosti v zadnjih nekaj letih čedalje večjo veljavo za uporabo tako v prehrani živali in ljudi kot tudi v farmacevtski industriji. Oljka in njeni stranski produkti so ugodna rastlinska vrsta za pridobivanje biofenolov, saj so z njimi izredno bogati. Profil fenolov v oljkah je izredno kompleksen in ni še popolnoma raziskan. Obstajajo raziskave, ki kažejo vpliv fenolov oljk predvsem na antioksidativno in antimikrobno delovanje (Obied in sod., 2005).

V preteklosti je bilo pridobivanje zaradi izredno težke izolacije, detekcije in dokazovanja delovanja fenolov iz naravnih surovin, zelo težko, zato temu niso posvečali veliko pozornosti. Razvoj in uporaba biofenolov nista bila razširjena, s časom pa sta se z uporabo modernejših tehnik in s spremembo razmišljanja ljudi v prid naravnim produktom, začela razvoj in raziskave na področju biofenolov in njihove uporabe (Obied in sod., 2005).

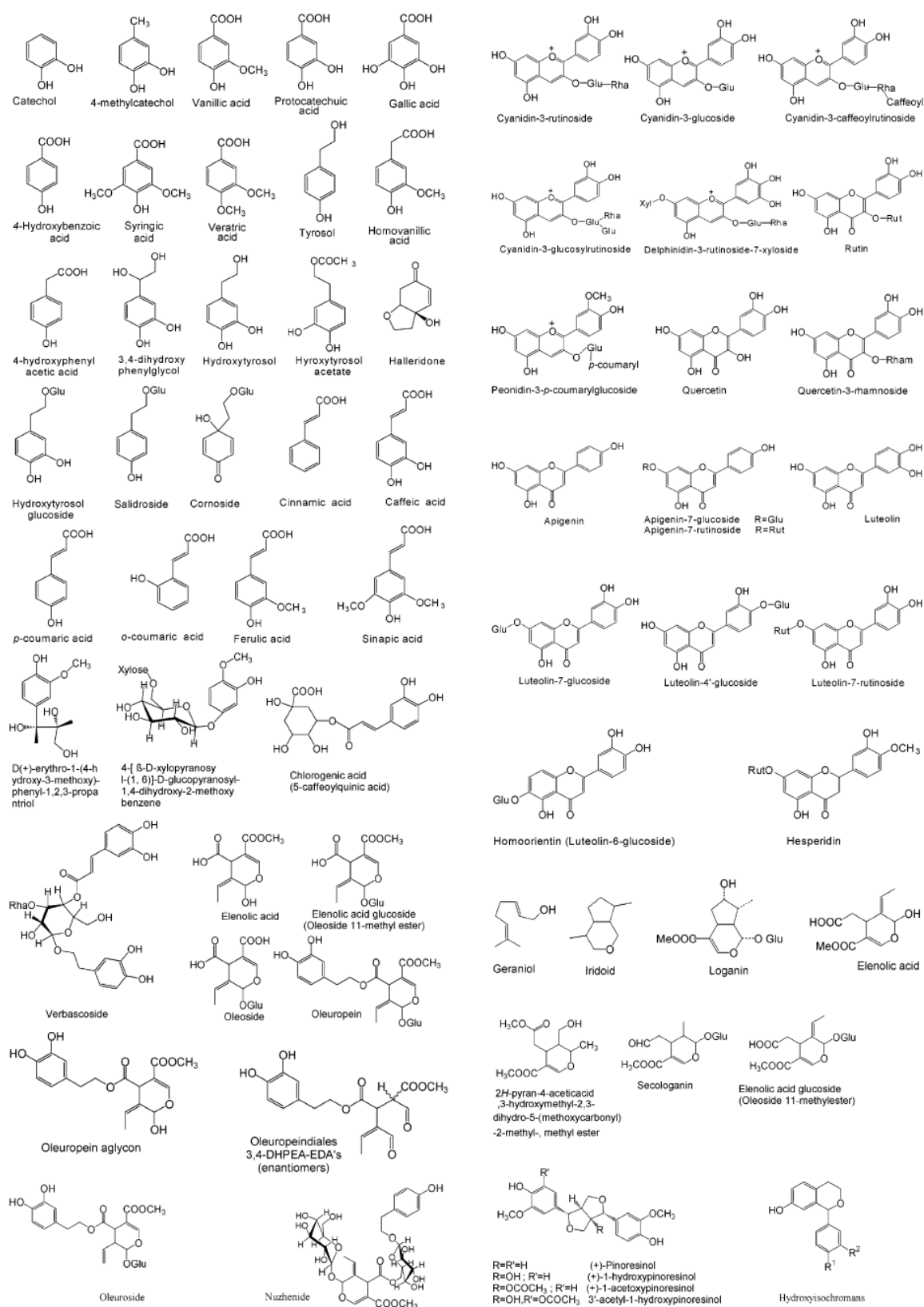
Ekstrakti oljčnih listov so lahko po sestavi izjemno različni, odvisno predvsem od sorte oljk, vremenskih pogojev rasti in topila uporabljenega za ekstrakcijo (Cardoso in sod., 2005).

2.1.2 Fenoli v oljki (*Olea europaea*)

Fenoli so ena največjih skupin naravnih produktov, ki se pojavljajo v vseh višjih rastlinah. Kot eden izmed pomembnih virov biofenolov v prehrani ljudi in živali so lahko tudi oljke. Nekatere epidemiološke raziskave kažejo, da je pojavnost bolezni srca in ožilja značilno

nižja na področjih z mediteransko prehrano, kjer uporabljajo več olja in produktov oljk. To kaže, da so biofenoli oljk lahko potencialno uporabni v prehrani ljudi in živali ter v farmacevtski industriji. Vsi deli oljk vsebujejo veliko biofenolov, še posebej znan vir so oljčni listi, ki se prodajajo kot prehranski dodatki za živali in ljudi pod različnimi tržnimi imeni (Obied in sod., 2005).

Kompleksnost poznanih in dokazanih biofenolov v oljki je izredno velika, čeprav se zavedamo, da zagotovo še ne poznamo vseh. Tudi biološki in drugi učinki so poznani le za nekatere, saj so raziskave na tem področju izredno zahtevne, dolgotrajne in drage.



Slika 1: Biofenoli in fenolom podobni produkti identificirani v oljkah ali oljni pulpi (Obied in sod., 2005)

2.1.3 Bioaktivnost biofenolov oljke (*Olea europaea*)

Oljka vsebuje mnogotere biofenole, ki imajo različne biološke aktivnosti. Le-te že zelo dolgo izkoriščajo v namene tradicionalne medicine in veterine. Mnogi učinki delovanja so le nakazani in (še) nimajo znanstveno dokazane učinkovitosti delovanja. Najbolj poznani in raziskani bioaktivnosti oljk sta antioksidativno ter antimikrobno delovanje (Obied in sod., 2005; Korakhashvili in sod., 2007).

2.1.3.1 Antioksidativno delovanje biofenolov oljk

Najbolj preučevano delovanje biofenolov oljk je njihovo antioksidativno delovanje. Raziskane so različne inhibicije oksidativnih poškodb. Biofenoli oljk imajo sposobnost lovljenja prostih radikalov, ki povzročajo oksidativne poškodbe celic. Hidroksitirozol, ki ga vsebuje ekstrakt oljk, preprečuje lipidno peroksidacijo in tako preprečuje poškodbe LDL (lipoproteini z nizko gostoto), zato je najbolj poznan in uporabljen biofenol oljk. Nekatere študije so pokazale, da je lahko antioksidativno delovanje oljčnih biofenolov precej variabilno, od blagega do zelo močnega antioksidativnega delovanja (Obied in sod., 2005).

Za fenole v oljčnem olju velja, da imajo pozitivne učinke na oksidacijo lipidov, oksidativne poškodbe DNA in splošni oksidativni stres *in vitro* in *in vivo*. Ker biofenoli oljk dokazano preprečujejo oksidacijo LDL, lahko pripomorejo k preprečevanju ateroskleroze in srčno-žilnih bolezni. Oksidativne poškodbe DNA so eden glavnih vzrokov za karcinogenezo. Z dodajanjem polifenolov ekstra deviškega oljčnega olja, se oksidativne poškodbe DNA pri živalih in ljudeh *in vivo* zmanjšajo do 30 % (merjeno s kometnim testom). Z dodajanjem polifenolov oljčnega olja *in vitro* znižamo ROS (reaktivne kisikove spojine), poveča se plazemska antioksidativna aktivnost, zmanjšajo se oksidativne poškodbe rdečih krvničk in ugodno vplivamo na razmerje med glutationom in glutation reduktazo, ki sta odgovorna za oksidativno stabilnost (Cicerale in sod., 2012).

Hidroksitirozol je substanca, ki je kot predstavnik fenolov oljk relativno dobro raziskana. Ena izmed pomembnih lastnosti delovanja je preprečevanje oksidacije LDL. Le-to je povezano s hidroksitirozolum (HO) in oleuropeinom (OE), ki potencialno inhibirata oksidacijo LDL. HO in OE lahko nevtralizirata superoksidne anione in hipoklorno kislino, kar lahko preprečuje nastanek bolezni srca in ožilja. Hidroksitirozol ima tudi sposobnost preprečevanja oksidativnega stresa v intestinalnih epitelih celicah in zaščitno funkcijo proti dušikovemu peroksidu, ki povzroča poškodbe v humanih eritrocitih (Visioli in sod.,

2002). Papadopoulus in Boskou (1991) navajata, da imata največjo antioksidativno aktivnost hidroksitirozol in kafeinska kislina. Po aktivnosti ji sledita protokatehinska in siringična kislina, medtem ko imajo tirozol, p-hidroksifenilacetna kislina, o-kumarna, p-kumarna kislina, p-hidroksibenzojska in vanilinska kislina majhen antioksidativni učinek ali pa ga nimajo.

Vpliv na antioksidativno delovanje polifenolov oljk priznava in dovoljuje zdravstveno trditev o zaščiti LDL proti oksidativnim poškodbam (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865) tudi EFSA (European Food Safety Authority): Polifenoli v oljčnem olju prispevajo k zaščiti lipidov v krvi pred oksidativnim stresom (EFSA, 2011).

2.1.3.2 Antimikrobna aktivnost biofenolov oljk

Že zelo zgodaj so raziskave pokazale, da imajo biofenoli oljk tudi antimikrobno in fitotoksično aktivnost. Te učinke pripisujemo predvsem biofenolom z nizko molekulsko maso in fenolnim kislinam. Izmed biofenolov se je kot najučinkovitejši baktericid pokazal 4-metilkatehol, poleg njega pa še oleuropein, hidroksitirozol, 4-hidroksibenzojska kislina, vanilinska kislina in p-kumarna kislina. Pomembno je vedeti, da je antimikrobno delovanje različnih preparatov lahko zelo variabilno, odvisno od ekstrakcije biofenolov iz oljk, biofenoli imajo različne učinke na raznolike mikroorganizme (Obied in sod., 2005).

Za potrditev antimikrobnih značilnosti polifenolov oljk so Medina in sod. (2006) v raziskavi potrdili domnevo, da maščobno-kislinska sestava nima vpliva na antimikrobno delovanje proti različnim mikroorganizmom, vendar so za to odgovorne druge snovi v oljih. V poskusu *in vitro* so ugotovili, da sončnično in koruzno olje ne kažeta prav nobenega antimikrobnega delovanja v primerjavi z različnimi oljčnimi olji (ekstra deviško, navadno olivno olje ter olje iz olivne pulpe). Razlike so se pokazale tudi med oljčnimi olji. Ekstra deviško oljčno olje je pokazalo največje antimikrobno delovanje, olje iz olivne pulpe pa najmanjše. Ti rezultati so v skladu z naraščajočo vsebnostjo polifenolov v teh oljih (ekstra deviško > navadno olivno olje > olje iz olivne pulpe).

Cicerale in sod. (2012) navajajo, da imajo glavno antimikrobno delovanje v ekstra deviškem oljčnem olju dekarboksimetil oleuropein aglikon, oleokantal, hidroksitirozol in tirozol, ki kažejo potencialno antimikrobno aktivnost proti mnogim sevom bakterij, odgovornim za intestinalne ter respiratorne infekcije *in vitro*. Vendar ta aktivnost ni omejena le na patogene bakterije, saj lahko polifenoli oljk zavirajo tudi za zdravje ugodne

bakterije, kot sta *Lactobacillus acidophilus* in *Bifidobacterium bifidum*, kar bi lahko negativno vplivalo na zdravje prebavil.

Pereira in sod. (2007) so v raziskavi dokazali antimikrobno in fungicidno delovanje ekstrakta oljčnih listov (5 g/250 ml vrele vode za 45 minut, nato liofilizirano in razredčeno na 50 mg/mL) za *B. cereus*, *C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. neoformans*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* in *B. subtilis*. Pokazali so, da ima ekstrakt zaradi interakcij med fenoli lahko večje delovanje, kot fenoli uporabljeni posamično.

Z dodajanjem običajnega oljčnega olja ali ekstra deviškega oljčnega olja so v drugem poskusu Medina in sod. (2013) ugotovili, da obe olji *in vitro* zmanjšata št. patogenih živih mikroorganizmov, ki se pojavljajo v hrani (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E.coli*, *S. sonnei* in *Yersinia sp.*).

Antimikrobno delovanje polifenolov oljk v prebavilih *in vivo* še ni dobro proučeno, vendar lahko glede na zgoraj opisane *in vitro* raziskave predvidevamo, da bi ekstrakt oljčnih listov lahko imel vpliv na sestavo mikrobiote v prebavilih.

2.1.3.3 Ostale bioaktivnosti fenolov oljk

Poleg antimikrobnega in antioksidativnega delovanja biofenolov oljk je bila ugotovljena še cela vrsta drugih bioaktivnosti, ki pa niso tako močno dokazane, in jih navajamo v Tabeli 1 le informativno.

Tabela 1: Prevladujoči biofenoli v oljki in njenih produktih ter znani učinki na delovanje (Obied in sod., 2005)

Hidroksitirozol	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - kardioprotektivno in antiaterogeno - kemopreventivno - antimikrobno - anti-inflamatorno - rjavenje kože
Oleuropein	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - kardioprotektivno in antiaterogeno - hipoglikemično - antihipertenzivno - antimikrobno in antivirusno - anti-inflamatorno - citostatično - moluskicidno - endokrino delovanje - encimsko modulatorno
Tirozol	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - anti-inflamatorno - antiaterogeno - kardioaktivno
Kafeinska kislina	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - kemoprotektivno - antiaterogeno - antimikrobno - anti-inflamatorno - antidepresivno

Se nadaljuje

Nadaljevanje tabele 1. Prevladujoči biofenoli v oljki in njenih produktih ter znani učinki na delovanje

Vanilinska kislina	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - antimikrobno
Verbaskozid	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - kemopreventivno - kardioaktivno - antihipertenzivno - anti-inflamatorno - antiaterogeno - sedativno
Elenolna kislina	<ul style="list-style-type: none"> - antimikrobno - protivirusno
P- kumarna kislina	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - kemopreventivno - antimikrobno
Katehol	<ul style="list-style-type: none"> - fitotoksično - antimikrobno - antikancerogeno - antioksidativno
Rutin	<ul style="list-style-type: none"> - antioksidativno - antiaterogeno - anti-inflamatorno - kemopreventivno

2.2 BIOAKTIVNE SNOVI OGNJIČA (*Calendula officinalis*)

Ognjič je enoletna rastlina z rumenimi ali oranžnimi cvetovi, ki so glavni vir učinkovin. Je zelo pogosta rastlina Sredozemlja, njegov izvor pa je zaenkrat neznan. Spada v družino *Asteraceae* - nebinovke, v zdravilstvu že dolgo poznan kot rastlina s širokim spektrom delovanja. Zdravilstvo mu pripisuje mnoge ugodne učinke, ki pa jih strokovna medicina še ni potrdila (Galle-Toplak, 2002).

2.2.1 Biofenoli v ognjiču

Ognjič vsebuje mnogo različnih snovi, med najpomembnejšimi so (Galle-Toplak, 2002):

- triterpenski saponini (glikozidi oleanolne kisline),
- triterpenski alkoholi (večinoma faradiol in 4-taraksasterol),
- flavonolni glikozidi,
- karotenoidi (beta karoten in ksantofili),
- seskviterpenski alkoholi,
- kumarin,
- skopoletin,
- umbeliferon,
- eskuletin,
- poliacetileni in vodotopni polisaharidi.

Z analizo biokemijske strukture ekstraktov ognjiča so Korakhashvili in sod. (2007) ugotovili naslednjo sestavo:

- Karotenoidi: beta-karoten, gama-karoten, delta-karoten, likopen, neurosporin, fitoen, fitofluin, rubiksantin, lutein, zeaksantin, violoksantin, flavokrom, kutroksantin, mutatokrom, flavoksantin in krizantemaksantin
- Triterpeni: monooli, dioli, trioli, palmitin, alurin in miristinska kislina
- Glikozidi (produkti oleinske kisline): glikozid F, kalendulozid, glikozid A, B, C, G, kalendulozid A, glikozid D, kalendulozid F, glikozid III, IV, V, VI, VII in VIII
- Flavonoidi: izoramnetin, izoramnetin 3-glikozid, izoramnetin 3-rutinozid, izoramnetin 3-beta-gly-kopiranozid, ramnofuranozid, flavonoida 1 in 2 in kvercetin 3-beta-D-glikopiranozid
- Kumarini: skopoletin, umbeliferon in eskuletin
- Druge mineralne substance

2.2.2 Bioaktivnost fenolov v ognjiču

Ognjiču v zdravilstvu pripisujejo mnoge učinke, kot so antimikrobno delovanje, fungistatično in fungicidno delovanje, antiinflamatorno delovanje, pospeševanje celjenja ran, zdravljenje kožnih sprememb, izboljšanje delovanja fagocitov in limfocitov, pospeševanje nastajanja novih celic, povečanje pretoka krvi in tonusa kože, imunomodulatorno delovanje, antiparazitno, antispazmično, antitumorno, citotoksično, hipoglikemično, antigenotoksično delovanje, zniževanje količine lipidov v krvi, preprečevanje čirov na želodcu in črevesju, antitoksično, diuretično delovanje, preprečevanje razjed in antiedemično delovanje (Frankič in sod., 2009; Galle-Toplak, 2002; Korakashvili in sod., 2007; Braun in sod., 2014; Ukiya in sod., 2006; Frankič in sod., 2008).

2.2.2.1 Antioksidativno delovanje biofenolov ognjiča

Ercetin in sod. (2012) so v različnih ekstraktih ognjiča (*Calendula officinalis*) (n-heksan, diklorometan, aceton, etil acetat, metanol in voda) s FRAP (železo-reducirajoči antioksidacijski test) in DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal) dokazali, da imajo polifenoli ognjiča antioksidativno delovanje.

V raziskavi na prašičih so Frankič in sod. (2008) raziskovali vpliv propilen-glikolnega ekstrakta ognjiča iz cvetnih lističev ali celotnega zgornjega dela rastline (propilen-glikol : voda 1:1) v količini 3 ml/prašiča/dan. Uporabili so krmo z visoko vsebnostjo večkrat nenasičenih maščobnih kislin. Ekstrakt ognjiča je, v primerjavi s kontrolo, v plazmi prašičev znižal koncentracijo malondialdehida in izoprostanov v urinu (iPF2 α -VI). Efekt je bil podoben kot pri dodatku vitamina E (100 mg/kg). Ekstrakt iz celotnih zgornjih delov rastline je pokazal večje antioksidativno delovanje kot iz cvetnih lističev.

2.2.2.2 Antimikrobna aktivnost biofenolov ognjiča

Efstratiou in sod. (2012) so v poskusu uporabili ekstrakta cvetnih listov ognjiča (metanolni in etanolni ekstrakt (80 lističev/150 mL pri 35 °C 24 h) proti mnogim patogenim sevom bakterij in gliv (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsigella aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus pumilis* in *Klebsigella pneumoniae*). Pokazala sta se kot zelo učinkovita proti večini testiranih bakterij. Metanolni ekstrakt ognjiča, se je pri večini testiranih bakterijah izkazal učinkovitejši kot etanolni. Oba ekstrakta sta bila v fungicidnem delovanju, v primerjavi s flukonazolom (Sigma, F8929), izredno učinkovita.

2.2.2.3 Ostale bioaktivnosti fenolov ognjiča

Nekatere raziskave kažejo, da lahko ekstrakt ognjiča (101 mg SS/ml in 60 % etanola) v različnih koncentracijah (0,1–1 mg/ml) kaže genotoksične lastnosti na *Aspergillus nidulans* (Ramos in sod., 1998). V dermatologiji in kozmetiki je ognjič znana rastlina z antiinflamatornim delovanjem. Glavna učinkovina z dokazanim delovanjem je faradiol monoester. Delovanje je bilo raziskano tudi v poskusu na miših (iritacija v ušesu povzročena z oljem *Croton tiglium*) s CO₂ ekstraktom ognjiča (50 °C, 350 bar) in konc. 75–1200 µg/cm². Ekstrakt ognjiča je inhibiral nastanek edema (Loggia in sod., 1994). Antiinflamatorno delovanje so dokazali tudi Amirghofran in sod. (2000) z ekstraktom ognjiča (200 g v 70 % etanolu). Ekstrakt ognjiča je v testu proliferacije limfocitov pokazal antiinflamatorno delovanje.

Učinki ognjiča oz. njegovih ekstraktov so v prehrani domačih živali, vključno s perutnino, skoraj neraziskani. Na podlagi dosedanjih, predvsem *in vitro* raziskav, lahko sklepamo, da bi ekstrakt ognjiča lahko imel ugoden vpliv na različne fiziološke sisteme, poleg presnove tudi na prebavila in mikrobioto prebavil, ter s tem na proizvodnost in zdravje živali in na kakovost proizvodov ipd.

2.3 UPORABA RASTLINSKIH BIOAKTIVNIH SNOVI V REJI PERUTNINE

V zadnjih desetletjih se je v prehrani živali interes uporabe rastlin in rastlinskih ekstraktov konstantno povečeval, saj se je s prepovedjo uporabe nutritivnih antibiotikov pojavila potreba po novih nutritivnih dodatkih. Pred prepovedjo je reja perutnine zaradi mnogo ugodnih učinkov s pridom uporabljala in izrabljala nutritivne antibiotike. Od takrat smo neuporabo kompenzirali predvsem z izboljšanim managementom reje, za popolno zamenjavo pa se še vedno išče druge, lahko tudi naravne nadomestke, ki jih laična javnost sprejema boljše kot nutritivne antibiotike. Vendar naravni dodatki niso samo nadomestek antibiotikom. Različni naravni dodatki z biofenoli lahko povečujejo zauživanje, endogeno izločanje, imajo antioksidativne učinke, izboljšajo oksidativni status mesa, povečajo imunsko odpornost živali, izboljšajo plodnost, spremenijo metabolizem holesterola, imajo antimikrobno delovanje, modulirajo intestinalni vnetni odziv ipd. (Wallace in sod., 2010). Rastlinski krmni dodatki so definirani kot naravne komponente obroka, ki izboljšajo produktivnost živali, spremenijo lastnosti krme, izboljšajo kakovost proizvodov ipd. Primerjave med istovrstnimi krmnimi dodatki različnih proizvajalcev so zelo težke, saj se razlikujejo glede na uporabljeni del rastline, sezono nabiranja, geografsko lego, tehniko ekstrakcije oz. procesiranja itd., zato moramo biti pri primerjavi in interpretaciji rezultatov zelo pozorni (Windish in sod., 2008).

V reji perutnine bi se lahko kot potencialen vir bioaktivnih snovi uporabljali (Wallace in sod., 2010): divji kostanj, ekstrakt lucerne, ekstrakt artičoke, ekstrakt ognjiča in oljčnih listov, ekstrakt česna, stranski proizvodi vinarstva, konopljin ekstrakti, različna zelišča (timijan, origano, majaron, rožmarin ...), ekstrakt rži, laneno seme, bob, ekstrakti pravega čaja ipd. Zaradi do sedaj znanih učinkov sta potencialno zanimiva krmna dodatka tudi ekstrakta oljčnih listov ali ognjiča.

2.3.1 Vpliv dodatka biofenolov na proizvodne lastnosti pitovnih piščancev

Na področju proizvodnih lastnosti pitovnih piščancev je bilo z dodatki biofenolov opravljenih že mnogo raziskav. Največkrat preiskovane lastnosti so bile: zauživanje krme, prirast, izkoriščanje krme ipd. Primerjava rezultatov je velikokrat nemogoča, saj so uporabljeni različni dodatki in ekstrakti, v neprimerljivih koncentracijah in načinih krmljenja. Rastlinski dodatki največkrat vplivajo na zauživanje ter izkoriščanje krme. V nekaterih raziskavah tega vpliva ni bilo, a so dodatki imeli pozitiven vpliv na maso živali, prirast, razmerja organov ipd. To je verjetno zaradi povezave med zdravjem živali ter produktivnostjo. Rastlinski dodatki lahko namreč stimulirajo imunski sistem, zavirajo razvoj škodljivih mikroorganizmov ali stimulirajo zaželeno. Rastlinski polifenoli imajo tudi vplive na obstojnost animalnih proizvodov (Wallace in sod., 2010).

V reji pitovnih piščancev praviloma dodajamo rastlinska olja, s čimer želimo povečati vnos energije, zaradi energijsko bolj koncentrirane krme, in posledično izboljšati rast. Ker so rastlinska olja bogata z večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami, so bolj dovzetna za lipidno oksidacijo kot nasičene maščobne kisline, oksidacijski produkti reagirajo s proteini in z lipidi ter tako zmanjšajo prehransko vrednost krme. Nekateri izmed razgradnih produktov oksidacije lipidov so lahko tudi toksični. Ker se ti produkti vgrajujejo tudi v tkiva živali, obstaja možnost, da produkti takih živali niso obstojni in so nutritivno bolj revni. Ponavadi se zaradi tega v krmo dodaja sintetične antioksidante, ki zaščitijo maščobe pred oksidacijo. V poskusu na piščancih so z dodatkom antioksidantov (etoksikvina in propil-galata) dokazali, da dodajanje antioksidantov poveča ne le zauživanje krme, telesno maso piščancev in hitrost rasti, ampak izboljša tudi obstojnost mesa prsne mišice (Tavarez in sod., 2011).

Sposobnost rasti živali je odvisna od vpliva okolja, genetskih dejavnikov in zdravja živali. Pod stresom, med boleznijo ali z imunsko depresijo živali počasneje rastejo, zato snovi, ki spodbujajo delovanje imunskega sistema, lahko pripomorejo k boljši rasti in zdravju. Imunomodulatorne substance torej inducirajo boljše delovanje imunskega sistema, to so lahko inaktivirani antigeni ali različne snovi (umetne ali naravne), ki aktivirajo lasten imunski sistem. Eden izmed takih rastlinskih imunomodulatorjev, ki se ga že uporablja v humani medicini, je tudi ekstrakt ognjiča, ki poveča fagocitozo in aktivira limfocite. Imunomodulatorno delovanje je povezano z vsebnostjo cikorne kisline in alkamidov. V poskusu so v krmo za jarčke dodali ekstrakt ognjiča v dveh koncentracijah 0,17 % (2,5 mg/kg cikorne kisline) in 0,34 % (5 mg/kg cikorne kisline). Ugotovili so, da je bila rast jarkic v skupinah z ekstraktom ognjiča slabša kot v kontrolni skupini, pa tudi imunski

odziv živali se z dodatkom ekstrakta ni povečal (titer protiteles). Dodatek ekstrakta ognjiča je vplival na višino in širino črevesnih resic (v jejunumu). Z dodatkom ekstrakta so bile resice nižje, kar lahko negativno vpliva na absorpcijo hranljivih snovi iz črevesja. Raziskava je tako pokazala, da ekstrakt ognjiča ne prispeva k boljši rasti ali drugim koristim (Gurbuz in sod., 2010).

Lu in sod. (2014) so v poskusu na hitro rastočih piščancih prišli do zaključkov, da visoko oksidirana krma (3 % oksidirane sojinega olja) in veliko nenasičenih maščobnih kislin z dodatkom komercialne mešanice antioksidantov (Agrado Plus 135 mg/kg) vpliva na večjo končno maso živali, večje dnevne priraste ter boljše izkoriščanje krme v primerjavi z živalmi krmljenimi s kontrolno krmo (standardna krma z dodatkom 3 % neoksidiranega sojinega olja).

V Španiji je bila narejena serija poskusov, v katerih so raziskovalci poskušali kot vir polifenolov uporabiti stranske produkte proizvodnje vina ter različne ekstrakte grozdja in grozdnih pečk (Goni in sod., 2007). V enem izmed poskusov so v krmo na osnovi koruze in soje dodajali posušeno grozdno pulpo (v koncentracijah 5, 15 in 30 g/kg) in alfa-tokoferil acetat (200 mg/kg). Prišli so do zaključkov, da razlik v rasti ter prebavljivosti beljakovin in aminokislin med posameznimi skupinami ni bilo. Brenes in sod. (2008) so s koncentratom grozdne pulpe (F.Saura-Calixto in J.A. Larrauri. Consejo Superior de Investigaciones Cientificas. Dietary fiber concentrate from grape. ES 2430092 A1) v koncentracijah 15, 30 in 60 g/kg dobili enake rezultate. Razlik v relativnih masah maščob, ledvic, jeter in trebušne slinavke ni bilo. V drugem poskusu so Brenes in sod. (2010) v krmi pitovnih piščancev na osnovi koruze in soje preizkušali dodatek ekstrakta grozdnih pečk (95 % polifenolov- Naturex, Avignon, Francija) v koncentracijah 0,6, 1,8 in 3,6 g/kg. Dodatek ekstrakta ni vplival na rast piščancev, velikost jeter in trebušne slinavke, velikost ledvic pa se je pri živalih, krmljenih z ekstraktom, povečala. Chamorro in sod. (2012) so v poskusu na pitovnih piščancih uporabili vodni ekstrakt grozdnih pečk (Nor-Feed Sud, Angers, Francija) v koncentracijah 0,025, 0,25, 2,5 in 5 g/kg osnovne krmne mešanice (krmna mešanica na osnovi pšenice in soje). Ugotovili so, da učinka na proizvodne lastnosti ni bilo, pri višjih koncentracijah (5 g/kg) pa sta se izkoriščanje krme in prirast v primerjavi s krmo brez dodatkov celo poslabšala.

Ker se naravni dodatki z visoko vsebnostjo polifenolov poskušajo dodajati namesto nutritivnih antibiotikov, se od teh pričakuje, da izboljšajo rast in razvoj predvsem v stresnih obdobjih. Ko so živali izpostavljene stresu, se iz adrenalne žleze začnejo izločati

glukokortikoidi, eden izmed teh je tudi kortikosteron (KS). Eid in sod. (2003) so v raziskavi ugotavljali ali dodatek polifenolov zelenega čaja (komercialni pripravek Polyphenon 60) vpliva na rast pitovnih piščancev. Prišli so do zaključka, da živali, tretirane s KS, slabše priraščajo, dodatek polifenolov pa ta trend zmanjša, ublaži delovanje KS. Pri piščancih ima KS tudi hiperlipidemični učinek, saj se z dodatkom poveča količina abdominalne maščobe in plazmatskih trigliceridov, dodatek polifenolov pa ta učinek zmanjša. Podoben učinek je zaznati tudi pri TBARS, kjer KS poveča količino, dodatek polifenolov pa količino TBARS zmanjša. Vsi opaženi učinki so v linearni odvisnosti od količine dodanega KS in polifenolov. Polifenoli pri rastočih piščancih zmanjšajo inhibicijo rasti, hiperlipidemijo in oksidativni stres, povzročen s KS.

Bravo in sod. (2014) so v poskusu ugotavljali ali komercialna mešanica rastlinskih ekstraktov (100 g/t XTRACT 6930; Pancosma S.A.) s 5 % karvakrola, 3 % cinamaldehida in 2 % kapsikum oleorezina vpliva na izkoriščanje energije in rast pitovnih piščancev, krmljenih s krmo na osnovi koruze. Ugotovili so, da opisana mešanica ekstraktov izboljša priraste v primerjavi s kontrolno skupino za 14,5 %, izkoriščanje krme za 9,8 %, retencijo beljakovin v trupih za 16,1 %, in neto energijo za produkcijo za 12,5 %. Mešanica ekstraktov bi lahko vplivala tudi na retencijo energije v trupih ($P = 0,062$) in izgubo toplote ($P = 0,062$). Rastlinski ekstrakti niso imeli vpliva na retencijo maščob in metabolno energijo. V drugem poskusu so Bravo in sod. (2011) ugotavljali ali dodatek enakega dodatka v isti koncentraciji poveča metabolno energijo in izboljša rast. Pokazali so, da v krmi na osnovi koruze in soje dodatek ekstraktov poveča metabolno energijo in rast piščancev v primerjavi s kontrolno skupino.

Hashemipour in sod. (2014) so v poskusu na piščancih ocenjevali učinek timola in karvakrola (50/50 %; Novus International) v koncentracijah 0, 100 in 200 mg/kg in karboksilmetilceluloze (0 in 2 %). Prišli so do zaključkov, da dodatek karboksil metil celuloze v primerjavi s kontrolno skupino poslabša priraste za 2,2 %, drugih učinkov na rast pa ni imel. Timol in karvakrol sta v primerjavi s kontrolo izboljšala priraste in izkoriščanje krme v obeh koncentracijah. V drugem poskusu so z enakim dodatkom timola in karvakrola v koncentracijah 0, 60, 100 in 200 mg/kg krme prišli do zaključka, da je dodatek zmanjšal zauživanje krme, povečal pa dnevni prirast in izkoriščanje krme pri koncentraciji 200 mg/kg (Hashemipour in sod., 2013).

Jamroz in sod. (2003) so v poskusu na pitovnih piščancih uporabili rastlinski ekstrakt v koncentracijah 150 in 300 ppm (kapsaicin 1,98 g/100 g, karvakrol 4,95 g/100 g in

cinamaldehyd 2,97 g/100 g). Dodatek rastlinskega ekstrakta je izboljšal končno maso živali za 5,4 % in 8,1 % (150 in 300 ppm) ter izkoriščanje krme za 3,1 in 7,1 %. Z dodatkom ekstrakta se je izboljšala tudi navidezna ilealna prebavljivost dušika in amino kislin (treonina, serina, asparagina, fenilalanina, histidina in lizina).

Tako kot mnogi poskusi tudi poskus Rezar in Salobir (2014), dodatek biofenolov (73 % taninov) (Farmatan- Tanin Sevnica, Slovenija) v koncentracijah 0,07 in 0,20 %, ni imel vpliva na bilanco in izkoristljivost suhe snovi, organske snovi, dušika, kalcija in fosforja pri pitovnih piščancih. Prav tako ekstrakta nista imela vpliva na telesno maso, zauživanje krme, priraste in izkoriščanje krme pitovnih piščancev.

2.3.2 Vpliv dodatka biofenolov na prebavo in lastnosti ekskrementov

V rejah pitovnih piščancev si želimo čim boljše izkoriščanje krme, t.j. večje priraste ob čim manjši porabi krme. To lahko dosežemo le z dobro prilagojeno prehrano ter dobrim managementom reje. Na prebavo hranljivih snovi bi mogoče lahko vplivali tudi z različnimi rastlinskimi dodatki. Dodajanje dodatkov, ki bi spremenili potek prebave, bi lahko imelo učinke tudi na lastnosti ekskrementov. Na ta način bi lahko zmanjšali negativne učinke mokrega, preveč onesnaženega nastilja. Na tem področju zato potekajo intenzivne raziskave različnih naravnih krmnih dodatkov.

Chamorro in sod. (2014) so v poskusu pitovnim piščancem (od 1. do 21. dneva starosti) dodajali grozdno pulpo v različnih koncentracijah (0, 5 in 10 %) in hidrolizirajoče encime (karbohidrazni encimski kompleks in tanaze v koncentraciji 500 ppm). Za primerjalno skupino so uporabili dodatek 200 ppm α -tokoferil acetata. Uporaba naravnih antioksidantov grozdja v krmi z veliko nenasičenimi maščobnimi kislinami je lahko omejena z nizko dostopnostjo polifenolov, ki jo lahko izboljšamo z dodatkom encimov. Encimi, ki razgrajujejo celično steno, lahko izboljšajo dostopnost in ekstrakcijo fenolov. Piščanci krmljeni z grozdno pulpo so imeli več polifenolov v ileumu ter ekskrementih. Tanaza v obroku je povečala ilealno vsebnost polifenolov, razlik v količini polifenolov v ekskrementih pa ni bilo. Tanaza je povečala količino polifenolov v prebavilih, vendar to ni izboljšalo oksidativne stabilnosti mesa stegna (hlajeno meso na temperaturi hladilnika 1. in 4. dan). Razlik v telesni masi, konzumaciji in izkoriščanju krme niso zaznali.

V drugem poskusu so Chamorro in sod. (2012) z uporabo ekstrakta grozdnih pečk (opisano v prejšnjem poglavju) pokazali, da se z dodajanjem večjih koncentracij (5 g/kg) ekstrakta

navidezna ilealna prebavljivost beljakovin in arginina, histidina, fenilalanina, cistina, glutaminske kisline in prolina v primerjavi s kontrolno skupino močno zmanjša. Linearno s koncentracijo ekstrakta se je količina mineralov (bakra, cinka in železa) v plazmi zmanjšala. Količina holesterola, trigliceridov in lipoproteinov se z dodajanjem ekstrakta ni spremenila.

Brenes in sod. (2010) so z uporabo ekstrakta grozdnih pečk (opisano v prejšnjem poglavju) odkrili, da se s krmljenjem ekstrakta piščancem zmanjša dolžina intestinalnih delov (duodenum, jejunum, ileum in caecum), izboljša se prebavljivost surovih beljakovin in prebavljivost polifenolov. Z ekstraktom se izboljša tudi sposobnost lovljenja prostih radikalov v krmi in ekskrementih živali. To so potrdili tudi v raziskavi Brenes in sod. (2008). Hernandez in sod. (2004) so pitovnim piščancem, krmljenim s krmo na osnovi pšenice, dodajali 200 ppm esencialnih oljnih ekstraktov iz origana, cimeta in popra ter 5.000 ppm ekstrakta ustnatic (žajblja, timijana in rožmarina). Ugotovili so, da dodatki v primerjavi s kontrolno skupino niso vplivali na zauživanje in izkoriščanje krme. Od 14. do 21. dneva poskusa so piščanci, krmljeni z ekstraktom ustnatic, imeli večjo rast kot skupina z oljnimi ekstrakti in s kontrolo. Omenjeni ekstrakt je izboljšal navidezno prebavljivost suhe snovi, oba ekstrakta pa prebavljivost eterskega ekstrakta ekskrementov. Vpliva na prebavljivost surovih beljakovin niso zaznali pri nobeni od skupin. Na ilealnem nivoju sta oba ekstrakta izboljšala zauživanje suhe snovi in škroba ter izboljšala ilealno prebavljivost suhe snovi in surovih beljakovin. Pokazali so torej, da omenjena ekstrakta lahko izboljšata prebavljivost krme pri pitovnih piščancih, kar pa se ni odrazilo na boljši rasti živali.

Polifenoli različnih dodatkov krmi imajo lahko vpliv na intestinalni imunski odziv. Pri ljudeh lahko polifenoli ublažijo učinke različnih bolezni povezane z intestinalnimi inflamatornimi napakami oz. boleznimi. Med te sodijo Kronova bolezen in ulcerativni kolitis. Dodajanje polifenolov pri ljudeh v otroštvu lahko zakasni ali ublaži pojav inflamatornih bolezni črevesja. Ker pa je pojav teh bolezni črevesja zelo kompleksen in odvisen od mnogih dejavnikov (okoljski, genetski, bakterijski (črevesna mikrobiota) in imunskih), so na tem področju potrebne dodatne raziskave (Romier in sod., 2009). Na podlagi rezultatov raziskave zgoraj lahko sklepamo, da v stresnih situacijah dodatek polifenolov izboljša zdravstveno in funkcionalno stanje prebavil.

V prejšnjem poglavju opisana raziskava Hashemipourja in sod. (2014) kaže, da dodatek karboksimetilceluloze statistično značilno poveča viskoznost ekskrementov, v nasprotju pa kombinacija timola in karvakrola zmanjša viskoznost. V drugem poskusu so z dodajanjem

timola in karvakrola pokazali, da dodatek zmanjša količino nasičenih maščobnih kislin v serumu, poveča pa se količina nenasičenih. Omenjeni dodatek poveča količino pankreasnega tripsina, lipaz in proteaz pri 24 dneh, ne pa pri 48 dneh (Hashemipour in sod., 2013).

Wang in sod. (2008) so z uporabo proantocianidinskega ekstrakta grozdnih pečk (Jianfeng Natural Products) v koncentracijah 5, 10, 20, 40 in 80 mg/kg potrdili hipotezo, da ekstrakt lahko živali zaščiti pred kokcidiozo. Ugotovili so, da ekstrakt v koncentracijah 10 in 20 mg/kg kaže najboljšo zaščito pri oralni okužbi z *Eimerio tanello*. Pri teh koncentracijah je bil pogin živali najmanjši, prirasti pa največji. Dodatek ekstrakta je v plazmi živali zmanjšal dušikove okside (NO_2^- in NO_3^-), povečal aktivnost superoksid dismutaze in zmanjšal koncentracijo malondialdehida, kar kaže na zmanjšanje oksidativnega stresa v primerjavi s kontrolno skupino.

Nekatere raziskave kažejo, da imajo lahko polifenoli/flavonoidi na črevesje in zdravje letga tako antioksidativno kot prooksidativno delovanje, zato bi bile potrebne poglobljene raziskave na tem področju. Pod določenimi reakcijskimi pogoji lahko učinkujejo kot prooksidanti npr. izčrpavanje celičnega glutationa (GSH), mobilizacija celičnih bakrovih ionov ipd.. Veliko polifenolov ima to slabost, da so *in vitro* in *in vivo* podvrženi avto-oksidaciji. Poznani so škodljivi učinki polifenolov/flavonoidov na delovanje različnih encimov, interference z absorpcijo nekaterih mineralov (Zn, Cu, Fe ...) in vitaminov. Nekaterе druge raziskave kažejo, da sta absorpcija polifenolov (ki jim pripisujemo antioksidativno delovanje) v črevesju in kasneje koncentracija v plazmi premajhni, da bi lahko prispevali k izboljšanju antioksidativne obrambe, pa tudi delovanje samih polifenolov je premalo raziskano, da bi lahko postavili trdne zaključke o učinkovitosti. Nekateri antioksidanti lahko v primeru tvorjenja novih spojin delujejo prooksidativno ali ovirajo absorpcijo določenih snovi. V nekaterih primerih dodajanje polifenolov povzroči slabše dnevne priraste, slabšo izkoristljivost hranil krme, vezavo žolčnih soli in s tem poslabšanje izkoristljivosti maščob, vezavo železa in drugih elementov v sledovih, zaviranje delovanja naravne mikrobiote črevesja, delujejo karcinogeno, slabšajo delovanje nekaterih organov (ledvic, jeter) ipd. Komercialno dodajanje rastlinskih biofenolov je zato lahko še preuranjeno. Na tem področju je potrebno opraviti več raziskav (Surai, 2014).

Pri reji pitovnih piščancev v intenzivnih rejah se srečujemo s čedalje večjim problemom povečane količine vode v ekskrementih živali in posledično z večjo količino vode v nastilu. Vlažen nastilj povzroči zdravstvene težave zaradi vlage, izhlapevanja amoniaka in

drugih hlapnih snovi, pri živalih se pojavijo žulji na nogah in prsih ter slabši proizvodni rezultati. Poleg tehnoloških faktorjev na vsebnost vode v ekskrementih živali vpliva tudi prehrana, ki lahko modulira zauživanje in izločanje vode ter sestavo ekskrementov. Z dodajanjem biofenolov oljk in ognjiča bi lahko izboljšali izkoriščanje in prebavo nekaterih snovi, kot so beljakovine, maščobe, neškrobni polisaharidi, nekateri minerali, in s tem zmanjšali vsebnost vode v ekskrementih. S tem bi preprečili nastajanje težav zaradi prevelike vsebnosti vode v nastilu (Rezar in sod., 2009).

2.3.3 Vpliv dodatka biofenolov na kakovost proizvodov

Ker moderna prehranska priporočila priporočajo pri ljudeh z neprimernimi prehranskimi navadami zamenjavo nasičenih maščobnih kislin z nenasičenimi, v ta namen proizvajamo jajca, ki so obogatena z n-3 MK (t.i. omega 3 jajca). Zaradi nevarnosti oksidacije lipidov v jajcih, se krmi dodajajo naravni ali sintetični antioksidanti. V poskusu so pokazali, da ima učinek dodajanja oljčnih listov zelo podoben učinek kot sintetični antioksidant α -tokoferil acetat (vitamin E) in da oba v primerjavi s kontrolo zmanjšata tvorbo lipidnega hidroperoksida in s tem podaljšata obstojnost. Ker sta metabolizem in vgrajevanje hranil v jajca podobna nalaganju hranil v tkiva predvidevamo, da bi do podobnih zaključkov prišli tudi z dodajanjem ekstrakta oljčnih listov ali ognjiča pitovnim piščancem (Botsoglou in sod., 2012).

Lu in sod. (2014) so v raziskavi ugotovili, da močno oksidirana krma in veliko nenasičenih maščobnih kislin v krmi z dodatkom komercialne mešanice antioksidantov (Agrado Plus 135 mg/kg) povzročijo spremembe v oksidativnem statusu pitovnih piščancev. Piščanci, krmljeni z opisano krmo, so v primerjavi s piščanci krmljenimi z visoko vsebnostjo vitamina E imeli nižjo vsebnost TBA (tiobarbiturna kislina) reaktivnih substanc v plazmi in višjo vsebnost α -1-glikoproteina (AGP) kot kontrola (standardna krma za piščance z dodatkom vit. E in 3 % neoksidiranega sojinega olja). Nižja vsebnost TBARS kaže na vpliv antioksidantov na izboljšano antioksidativno obrambo živali, višja vsebnost AGP pa je posledica povečanega stresa živali z dodatkom antioksidantov. V začetnem obdobju je skupina, krmljena z oksidirano krmo z veliko nenasičenimi maščobnimi kislinami in antioksidanti imela večjo vsebnost sečne kisline v plazmi kot skupina z visoko vsebnostjo vit. E. Ker ima sečna kislina lastnosti neencimskega antioksidanta, predpostavljajo, da imajo živali z višjo koncentracijo boljše antioksidativno zaščito.

Kot vir polifenolov so Goni in sod. (2007) uporabili grozdno pulpo v koncentracijah 5, 15 in 30 g/kg ter alfa-tokoferil acetat in prišli do zaključkov, da se s povečevanjem koncentracije grozdne pulpe v krmi zmanjšuje lipidna oksidacija v prsni in stegenski mišici, merjena kot količina TBARS na 4. in 7. dan poskusa. Avtorji zaključijo, da bi dodatek grozdne pulpe v krmi lahko uspešno nadomestil dodatek vitamina E kot enega glavnih antioksidantov v krmi za pitovne piščance. V drugem poskusu iste raziskovalne skupine so Sayago-Ayerdi in sod. (2009) pokazali, da koncentrat grozdne pulpe v koncentracijah 30 ali 60 mg/kg zniža količino MDA (malondialdehid - produkt lipidne oksidacije) pri dolgotrajnem skladiščenju surove in kuhane prsne mišice pri 4 °C (13 ali 20 dni). Avtorji so pokazali, da se polifenoli lahko nalagajo v tkivih in imajo lahko enak antioksidativen učinek kot vitamin E. Prsna mišica je namreč bila z večjo količino koncentrata grozdne pulpe manj podvržena lipidni oksidaciji kot z manjšo koncentracijo, zato lahko sklepamo na spremenjeno sestavo antioksidantov in večje nalaganje v tkivih živali. Chamorro in sod. (2014) so pitovnim piščancem (od 1. do 21. dneva starosti) dodajali grozdno pulpo v različnih koncentracijah (0, 5 in 10 %) in hidrolizirajoče encime (karbohidrazni encimski kompleks in tanaze v koncentraciji 500 ppm). Za primerjalno skupino so uporabili dodatek 200 ppm α -tokoferil acetata. Z dodatkom α -tokoferil acetata se je količina le-tega v mesu stegna povečala, kar lahko pripomore k boljši oksidativni zaščiti takega mesa. Piščanci, krmljeni z α -tokoferil acetatom in grozdno pulpo, so imeli v mesu stegna več večkrat nenasičenih maščobnih kislin in manj enkrat nenasičenih. Dodatek tanaz krmi z grozdno pulpo je izničil učinek na maščobnokislinski profil v mesu. Dodatek grozdne pulpe dosega antioksidativno zaščito α -tokoferil acetata na način, da je meso manj dovzetno za oksidativne poškodbe (merjeno kot MDA) v mesu stegna. Izboljšanje oksidativne stabilnosti (merjeno kot MDA) prsne mišice z dodatkom koncentrata grozdne pulpe so dokazali tudi Brenes in sod. (2008) (poskus opisan v enem izmed prejšnjih poglavij).

Polifenoli so zastopani tudi v kakavovih listih in listih zelenega čaja. Poskus Hassan in Fan (2005) je pokazal, da ima ekstrakt kakavovih listov (800 mg/kg) in zelenega čaja (200 mg/kg) v modelnem sistemu mesa (pripravljen po opisu Shahidi in Pegg, 1990, cit. po Hassan in Fan, 2005) podoben učinek na antioksidativno stabilnost mehanično razkoščičenega kuhanega piščančjega mesa kot 1:1 butiliran hidroksianizol (BHA)/butiliran hidroksitoluen (BHT). Nižje koncentracije ekstrakta kakavovih listov (200 in 400 mg/kg) izkazujejo antioksidativni potencial v rangi od 50-80 % BHA/BHT.

Hashemipour in sod. (2014) (poskus opisan v enem izmed prejšnjih poglavij) so na pitovnih piščancih pokazali, da dodatek karboksil metil celuloze, v primerjavi s kontrolno skupino, zmanjša skupni holesterol v krvi, na trigliceride, pH, HDL, LDL in druge metabolite v krvi pa nima vpliva. Timol in karvakrol zmanjšata skupni holesterol v krvi in povečata plazemsko aspartat-amino transferazo, proteine, albumine in globuline v plazmi. V drugem poskusu so odkrili, da dodatka timola in karvakrola povečata delovanje superoksid dismutaze in glutation peroksidaze v mesu stegna, zmanjša pa se koncentracija malondialdehida na 42. dan (Hashemipour in sod., 2013). Dodatek karvakrola in timola so raziskovali tudi Llana-Ruiz-Cabello in sod. (2015) ter pokazali, da različne koncentracije karvakrola in timola (0-2500 μM) ter kombinacije le-teh (10:1) vplivajo na oksidativni stres. V višjih koncentracijah karvakrol vpliva oksidativno na *in vitro* Caco-2 celično linijo (človeške intestinalne celice) (DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil test, in ABTS- 2,2-azobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kislina) test, v nižjih koncentracijah pa tako karvakrol kot timol in kombinacija obeh vplivajo protektivno proti poškodbam vodikovega peroksida.

Zaradi rezultatov v raziskavi Frankič in Salobir (2010), ki so pokazali antioksidativno učinkovitost dodajanja ekstrakta kostanjevega lesa pri mladih prašičih z induciranim oksidativnim stresom, je bila ta raziskava povod za raziskovanje podobnih učinkov na pitovnih piščancih. Voljč in sod. (2013) so v poskusu pokazali, da v primerjavi s kontrolno skupino brez ekstrakta vodni ekstrakt sladkega kostanja (Tanin Sevnica d.d, Slovenija) (3 g/kg) pri pitovnih piščancih, krmljenih s krmo na osnovi pšenice in soje, zmanjša DNA poškodbe v primeru dodatka oksidativno nestabilnih olj (laneno olje).

Bioaktivne snovi, kot so npr. polifenoli in nekatere maščobne kisline, imajo lahko vpliv na endokrino funkcijo in vnetja maščobnega tkiva, kar regulira metabolizem celotnega telesa. Z dodajanjem ekstraktov, bogatih s polifenoli in z nekaterimi nenasičenimi maščobnimi kisljinami, bi lahko povečali količino v animalnih proizvodih in posledično izboljšali delovanje maščobnega tkiva in celotnega metabolizma pri ljudeh. Take polifenolne snovi so kurkumin, resveratrol, flavonoidi (katehini, kvercetin, izoflavoni, mitogen aktiviran protein in kinaze ...), maščobne kisline pa eikozapentaenojska, dokozaheksaenojska, konjugirana linolna, oleinska itd. (Siriwardhana in sod., 2013).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 BILANČNI POSKUS

V bilančni poskus je bilo vključenih 36 mladih rastočih pitovnih piščancev provenience Ross 308 starih 23 dni in težkih v povprečju $1037 \pm 75,2$ g. Piščanci so bili uhlevljeni v individualne bilančne kletke, ki omogočajo spremljanje zauživanja krme in zbiranje celotne količine izločenih ekskrementov.

Pred bilančnim poskusom v kletkah so bile vse živali naseljene v talni reji krmljene z enako krmno mešanico brez dodatkov. V kletke smo jih naselili pri starosti 12 dni, naključno po spolu. Obdobje prilagajanja na nov način reje, ko so vse živali še vedno dobivale enako krmno mešanico kot v talni reji, je trajalo 6 dni. Nato smo živali naključno razdelili v šest po povprečni telesni masi izenačenih skupin, ki so dobivale različne krmne mešanice. Piščanci v posameznih skupinah so dobivali krmo z lanenim ali orehovim oljem ter brez ali z dodatkom ekstraktov oljčnih listov ali lističev cvetov ognjiča, kot je prikazano v tabeli 2.

Tabela 2: Prikaz sestave krmnih mešanic posameznih poskusnih skupin

	Lan			Oreh		
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič
Osnovna krmna mešanica	93 %	93 %	93 %	93 %	93 %	93 %
Orehovo olje				7 %	7 %	7 %
Laneno olje	7 %	7 %	7 %			
Ekstrakt oljčnih listov		+			+	
Ekstrakt listov ognjiča			+			+

Ob razdelitvi v skupine smo poskrbeli tudi za naključno razporeditev živali v prostoru, tako da niso bile vse živali ene skupine v enem delu hleva.

Pet dni po razdelitvi v skupine smo pričeli z bilančnim obdobjem, ki je trajalo pet dni (od 24. do 28. dneva starosti).

Piščanci so bili krmljeni po volji. Krmo so dobivali enkrat na dan, in sicer zjutraj, ob pobiranju ekskrementov. Krmna mešanica je glede energijske vrednosti in vsebnosti hranil ustrezala zahtevam standarda za sestavo krme za zaključek pitanja piščancev Ross 308

(Ross 308, 2014) (tabela 3). Da bi omogočili merjenje izboljšanja izkoriščanja hranil zaradi dodatka ekstraktov oljčnih listov in lističev ognjiča, je bila vsebnost naslednjih hranil zmanjšana za 20 %: surovih beljakovin, lizina, metionina + cisteina, treonina, triptofana, kalcija, fosforja, magnezija ter kalija.

Piščance smo tehtali na začetku in koncu bilančnega obdobja.

Ker nismo mogli preprečiti, da se z ekskrementi ne bi zbirala tudi ob pitju razlita voda, smo za določitev suhe snovi ekskrementov individualno zbirali ekskreme tako po izločitvi še prvi in tretji dan po koncu bilančnega obdobja. Zbrali smo vse ekskreme izločene med 8.00 in 14.00 h.

3.2 SESTAVA OBROKOV IN OSNOVNIH KRMNIH MEŠANIC

Osnovne krmna mešanica je bila za vse skupine enaka, krmne mešanice skupin so se razlikovali v vrsti dodanega olja ter dodatku ekstraktov. Osnovna krmna mešanica je bila iz pšenice, sojinih tropin, olja, apnenca, soli, monokalcijevega fosfata, metionina in premiksa (Tabela 3).

Tabela 3: Sestava in analiza osnovne krmne mešanice

	Količina
Sestava krmne mešanice:	
Pšenica (g/kg)	660,36
Sojine tropine (g/kg)	238,60
Olje (g/kg)	70,00
Apnenec (g/kg)	11,20
NaCl (g/kg)	4,41
Monokalcijev fosfat (g/kg)	9,44
Metionin (g/kg)	0,99
Premiks (g/kg)	5,00
Kemijska analiza krmne mešanice:	
Presnovljiva energija (MJ/kg)*	13,38
Surove beljakovine (g/kg)	178,48
Surove maščobe (g/kg)	82,50
Surova vlaknina (g/kg)	26,57
Surovi pepel (g/kg)	43,74
Fosfor (g/kg)	5,62
Kalcij (g/kg)	6,80
Magnezij (g/kg)	1,60

* Ocenjena vrednost

Tabela 4: Vsebnost hranil v premiksu

	Količina
Baker (Cu) (mg/kg)	3.200
Jod (I) (mg/kg)	250
Železo (Fe) (mg/kg)	8.000
Mangan (Mn) (mg/kg)	24.000
Selen (Se) (mg/kg)	60
Cink (Zn) (mg/kg)	20.000
Vitamin A (IU/kg)	2.000.000
Vitamin D ₃ (IU/kg)	1.000.000
Vitamin E (IU/kg)	1.820
Vitamin K (mg/kg)	600
Tiamin- vitamin B ₁ (mg/kg)	400
Riboflavin- vitamin B ₂ (mg/kg)	1.200
Niacin (mg/kg)	11.400
Pantotenska kislina- vitamin B ₅ (mg/kg)	2.800
Piridoksin- vitamin B ₆ (mg/kg)	700
Biotin- Vitamin H (mg/kg)	30
Folna kislina (mg/kg)	350
Vitamin B ₁₂ (mg/kg)	3,2
Holin (mg/kg)	150.000

Normativ za premiks je bil povzet po Ross-ovih normativih (Ross 308, 2014) za grover, razen za vitamina E, ki je bil preračunan glede na njegovo količino v oljih. Skupno smo dodali 12 IE vitamina E.

Tabela 5: Maščobnokislinska sestava lanenega in orehovega olja

Sestava MK (Dolžina in dvojne vezi)	Količina	
	Laneno olje	Orehovo olje
C 14:0 (g/kg)	0,04	0,03
C 15:0 (g/kg)	0,02	0,02
C 16:0 (g/kg)	5,55	7,3
Σ C 16:1 (g/kg)	0,09	0,15
C 17:0 (g/kg)	0,06	0,05
C 17:1 n-7 (g/kg)	0,02	0,03
C 18:0 (g/kg)	3,56	2,79
Σ C 18:1 (g/kg)	17,85	15,27
C 18:2 n-6 (g/kg)	15,84	61,85
C 19:1 n-9 (g/kg)	/	0,54
C 18:3 n-3 (g/kg)	56,39	11,40
C 20:0 (g/kg)	0,13	0,10
C 20:1 n-9 (g/kg)	0,14	0,22
C 22:0 (g/kg)	0,10	0,06
C 24:0 (g/kg)	0,08	0,02
Vsote		
Nasičene maščobne kisline (g/kg)	9,55	10,40
Enkrat nenasičene maščobne kisline (g/kg)	18,12	16,21
Večkrat nenasičene maščobne kisline (g/kg)	72,33	73,39
Večkrat nenasičene maščobne kisline n-3 (g/kg)	56,44	11,40
Večkrat nenasičene maščobne kisline n-6 (g/kg)	15,89	61,99
Razmerje n-6/n-3 PUFA	0,28	5,44

Tabela 6: Kemijska analiza krmnih mešanic

	Lan			Oreh		
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič
Bruto energija (MJ/kg)	17,73	17,71	17,56	17,68	17,56	17,64
Suha snov (g/kg)	891,31	883,52	888,83	891,43	885,36	888,92
Surove beljakovine (g/kg)	178,13	182,97	176,67	182,93	180,19	181,15
Surove maščobe (g/kg)	80,35	80,83	79,13	81,17	79,94	80,36
NDV (g/kg)	111,92	113,75	112,24	114,4	116,35	112,04
KDV (g/kg)	42,59	43,70	43,66	44,15	41,41	40,75
Surovi pepel (g/kg)	46,71	46,8	46,99	46,73	47,45	48,01
Fosfor (g/kg)	5,70	5,68	5,71	5,73	5,77	5,81
Kalcij (g/kg)	7,29	7,69	7,47	7,26	7,48	7,52
Magnezij (g/kg)	1,24	1,19	1,21	1,21	1,22	1,20
Železo (mg/kg)	157,88	160,13	159,00	136,25	175,88	156,63
Baker (mg/kg)	20,24	21,40	22,1	22,79	22,73	18,34
Cink (mg/kg)	126,25	140,31	140,63	126,56	135,94	120,31
Mangan (mg/kg)	270,94	298,13	283,75	272,19	290,63	263,13

Imena skupin so opisana na strani 26.

NDV = v nevtralnem detergentu netopna vlaknina

KDV = v kislem detergentu netopna vlaknina

V krmne mešanice smo v skladu z imeni skupin mešanic vmešali oljčni ali ognjičev ekstrakt.

Oljčni ekstrakt smo pripravili tako, da smo posušili oljčne liste in jim dodali 70 % etanol za uporabo v prehrani. Te vzorce smo 4 dni mešali v stresalniku, po koncu stresanja smo tekočino prefiltrirali skozi gazo in v peščeni kopeli etanol odparili do ostanka goste tekočine. Ekstrakt smo nato do uporabe shranili pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tak ekstrakt smo dodali v krmo v količini 1 % mase krme tako, da smo ekstrakt vmešali v laneno ali orehovo olje in nato dodali krmni mešanici (Müller in Hildebrand, 1998).

Kot navaja literatura o tradicionalni medicini, smo ognjičev ekstrakt pripravili kot tinkturo. V razmerju 1:4 smo po mletju cvetnih lističev (200 g) le-te namočili v mešanico (800 g) propilen glikola in vode (1:1). Ekstrakcija je v temi potekala 42 dni, mešanico smo medtem večkrat premešali. Pridobljeni ekstrakt smo krmni mešanici dodali tako, da smo 5 ml/kg krmne mešanice ekstrakta vmešali v olje in nato olje dodali v mešanico (Barnes in sod., 2002).

3.3 ODVZEM VZORCEV EKSKREMENTOV

V času petdnevnega poskusa smo na posebnih pladnjih pod živalmi zbirali ekskreme, jih dnevno tehtali ter jih do analiz shranili v zamrzovalnih skrinjah na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Živali smo krmili s krmnimi mešanicami v količinah, po navodilih za Ross 308, priporočeni količini smo dodali še + 10 % krmne mešanice. Drugi in zadnji dan poskusa smo stehali ostanek krme v krmilnikih, dnevno pa smo tehtali raztros krme.

3.4 UPORABLJENE ANALITSKE METODE

3.4.1 Groba suha snov (GSS)

Ekskreme smo pred analizo odtajali, jih s pomočjo paličnega mešalnika homogenizirali in odvzeli reprezentativen vzorec, ki smo ga liofilizirali. Tako smo dobili zračno suhe vzorce, ki smo jih zmleli in iz razlike med suhim in svežim vzorcem izračunali zračno suho snov.

3.4.2 Suha snov (SS)

Po triurnem sušenju pri temperaturi $103\text{ }^{\circ}\text{C}$ smo gravimetrično določili količino suhe snovi (SS) (Methodenbuch, Band III, 1993a).

3.4.3 Surovi pepel (SP)

Surovi pepel (SP) smo v zračno suhem vzorcu do ostanka belega ali sivkastega prahu brez delcev ogljika gravimetrično določili z žarjenjem v žarilni peči pri temperaturi $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Methodenbuch, Band III, 1993b).

3.4.4 Organska snov (OS)

Organsko snov smo izračunali na način: $OS = SS - SP$.

3.4.5 Surove beljakovine (SB)

Surove beljakovine (SB) smo določili posredno prek vsebnosti dušika ob predpostavki, da beljakovine vsebujejo 16 % dušika. Dušik smo določevali po Kjeldahlu, ki temelji na metodi v treh korakih. Prvi korak je razklop vzorca v žveplovi (VI) kislini ob katalizatorju, nato se amoniak destilira v primerno raztopino in nazadnje določi množino amoniaka s titracijo (Methodenbuch, Band III, 1993c).

3.4.6 Surove Maščobe (SM)

Surove maščobe smo določili kot snov, ki se pri določenih pogojih ekstrahira v organskem topilu (petroletru), poleg maščob pa se v topilo ekstrahirajo še druge polarne spojine, kot so vitamini, steroli, klorofil, karoteni, fosfolipidi, voski. Za ekstrakcijo smo uporabljali univerzalni aparat za ekstrakcijo (Soxhlet) (Methodenbuch, Band III, 1993d).

3.4.7 Organski ostanek (OO)

Organski ostanek smo izračunali na način: $OO = SS - SB - SM - SP - NDV$.

3.4.8 V nevtralnem detergentu netopna vlaknina (NDV)

V nevtralnem detergentu netopno vlaknino smo določali v vrečkah po internih navodilih za aparat za določevanje vlaknine (Ankom Fiber analyser).

3.4.9 V kislem detergentu netopna vlaknina (KDV)

V kislem detergentu netopno vlaknino smo določali v vrečkah po internih navodilih za aparat za določevanje vlaknine (Ankom Fiber analyser).

3.4.10 Merjenje vsebnosti mineralov

Vsebnost elementov v vzorcih smo določevali v surovem pepelu po žarjenju na 550 °C. Pepel po žarjenju smo v žarilnem lončku omočili z deionizirano vodo in dodali 25 % HCl, dokler se le-ta ni raztopil (5 ml). Nato smo na peščeni kopeli izparili kislino skoraj do suhega in ponovno dodali 3 ml 25 % HCl. Nato smo dolili 2-5 ml deionizirane vode, še

enkrat segreli in prefiltrirali na filtrirnem papirju v 50 ml čašo. Pri tem smo večkrat sprali lonček in filter papir. Nato smo dodali do 50 ml vode, da je bila čaša polna in jo premešali. Tako pripravljene vzorce smo kasneje analizirali (Methodenbuch, Band III, 1993e).

Fosfor smo določevali spektrofotometrično, kar temelji na merjenju absorbance obarvane spojine kot rezultat reakcije med P in barvnim reagentom. Nastali spojini smo izmerili absorbanco pri 430 nm z aparatom Cary 50 Probe UV- Visible Spectrophotometer (Methodenbuch, Band III, 1993f).

Koncentracije Ca, Mg, Fe, Cu, Zn in Mn v solnokislinskem izvlečku smo merili s plamensko absorpcijsko spektrometrijo. Uporabljali smo aparat Perkin-Elmer 1100B Atomic Absorption Spectrophotometer pri valovnih dolžinah 422,7 nm (Ca), 285,5 nm (Mg), 372,0 nm (Fe), 327,4 nm (Cu), 213,9 nm (Zn) in 403,1 nm (Mn). Širina reže je znašala 0,2 mm, plamen je sestavljal acetilen-zrak. Pri merjenju smo se ravnali po internih navodilih proizvajalca.

3.4.11 Bruto (sežigna) energija (BE)

Bruto energijsko (BE) vrednost krme in ekskrementov smo izmerili v kalorimetru IKA C 200 po internih navodilih proizvajalca. Kalorimeter deluje na principu sežiga vzorca v komori s kontrolirano atmosfero kisika (31 bar), obdani s plaščem vode. Aparat iz razlike v temperaturi in količini vode, ki jo sam doda, izračuna bruto energijo vzorca. Pred začetkom merjenja smo aparat umerili s kapsulami benzojeve kisline, ki imajo točno poznano energijsko vrednost. Ves proces je avtomatiziran, zato poseben preračun ni potreben. Za potrebe merjenja BE vrednosti ekskrementov smo te zaradi lažjega sežiga vzorcev najprej v posebni komori s cilindrom preoblikovali v kapsulo, ki smo jih nato uporabili pri analizi. Za analizo krme smo uporabili posebne sežigne vrečke, ki imajo poznano energijsko vrednost, saj je imela krma v raziskavi tako veliko vsebnost maščob, da izdelava kapsul ni mogoča. Ob izdelavi kapsul maščoba v taki krmi namreč izstopi iz vzorca in vzorec ni več reprezentativen.

3.5 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Podatke smo obdelali s statističnim paketom SAS/STAT (SAS Institute Inc., 2002-2010). Za analizo variance smo uporabili proceduro MIXED in opisan statistični model. V rezultatih prikazujemo LSM (ocenjene vrednosti z metodo najmanjših kvadratov). Razlike med posameznimi ocenami smo ocenili s Scheffe testom. Parameter disperzije je podan kot standardna napaka ocene (SEM), značilnost posameznega vpliva pa opisuje p-vrednost.

V statistični model I, s katerim smo obdelali telesno maso na koncu poskusa in prirast, smo vključili samo vpliv skupine:

$$y_{ij} = u + S_i + e_{ij}$$

V statistični model II smo vključili vpliv olja, dodatka ekstrakta ter zauživanje krme oz. končno telesno maso^{0,75} kot regresijo. S tem modelom smo obdelali vse predstavljene lastnosti.

$$y_{ijk} = u + O_i + D_j + OD_{ij} + b(x_{ijk} - \bar{x}) + e_{ijk}$$

Kjer je:

u = srednja vrednost

y_{ijk} = posamezna lastnost

O_i = olje; 1 - laneno olje, 2 - orehovo olje

D_j = dodatek; 1 - kontrola, 2 - dodatek ekstrakta oljčnih listov, 3 - dodatek ekstrakta ognjiča

OD_{ij} = interakcija med oljem in dodatkom ekstrakta

b = regresijski koeficient za zauživanje krme / končna telesna masa^{0,75}

x = zauživanje krme / končna telesna masa^{0,75}

e_{ijk} = ostanek

4 REZULTATI

Poskus je potekal brez zaznanih težav. Živali v poskusu so normalno zauživale krmo in rastle, med poskusom pogina ni bilo. S pogoji poskusa nismo imeli težav, zagotavljali smo konstantne okoljske pogoje. Temperaturo smo uravnavali po priporočilih Ross (2014), in sicer je bila na začetku bilančnega poskusa okrog 25 °C in na koncu 22 °C. Vlaga se je spreminjala v odvisnosti od vremenskih pogojev. Piščanci so v hlevu imeli 18 ur luči in 6 ur teme dnevno. Nekaj težav smo v poskusu imeli z zbiranjem blata, saj se je zaradi nekoliko nerodne inštalacije vodovodnega sistema ter igranja piščancev z vodo, nekaj le-te razlivalo na pladnje in se pomešalo z ekskrementi, zato je primerjava vsebnosti suhe snovi v ekskrementih bila otežena. V ta namen smo po bilančnem poskusu izvedli ločeno zbiranje ekskrementov.

Tabela 7: Spreminjanje telesne mase v času bilance

	Lan			Oreh			SEM	p-vrednost
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič		
Telesna masa na začetku bilance (g)	1061,5	1073,83	992,3	1017,67	993,0	1083,83	28,6	0,09
Telesna masa na koncu bilance (g)	1506,2	1487,0	1368,2	1462,2	1371,7	1511,2	54,2	0,237
Dnevni prirast (g/dan)	88,9	82,6	75,2	88,9	75,7	85,5	5,8	0,367

Skupine so opisane na strani 26.

Rezultati prirasta začetne in končne telesne mase se med skupinami ne razlikujejo statistično značilno, čeprav lahko opazimo, da sta skupini 3 in 5 imeli nekoliko manjšo začetno in končno maso ter prirast (Tabela 7).

4.1 REZULTATI BILANČNEGA POSKUSA

4.1.1 Suha snov

Pri analizi suhe snovi smo ugotovili, da so se v poskusu pokazale razlike med skupinami v količini zaužite in izločene suhe snovi, kar se je odrazilo v razlikah v bilanci suhe snovi med skupinami. V izkoristljivosti SS med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik (Tabela 8).

Tabela 8: Rezultati bilance in izkoristljivosti suhe snovi (SS)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	p- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g SS/dan)	118,2 ^a	118,3 ^a	112,9 ^b	116,3 ^a	115,8 ^a	123,3 ^b	1,84	0,1303	0,7128	0,0026
Izločeno (g SS/dan)	27,4	27,6	27,7	25,2 ^a	27,0 ^a	29,4 ^b	1,09	0,6872	0,1426	0,2077
Bilanca (g SS/dan)	90,9 ^a	89,7 ^a	85,2 ^b	91,2 ^a	88,8 ^a	93,9 ^b	1,78	0,0730	0,5946	0,0218
Izkoristljivost (%)	76,8	76,6	75,5	78,3	76,9	76,3	0,84	0,2088	0,1694	0,7997

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.2 Vsebnost suhe snovi v ekskrementih

V dodatnem poskusu smo ugotovili, da dodatka ekstrakta oljke ali ognjiča v nobeni krmi nimata vpliva na koncentracijo SS v ekskrementih (Tabela 9).

Tabela 9: Rezultati analize koncentracije suhe snovi (SS)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	p- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g/kg)	211,81	220,16	229,71	210,55	223,57	208,73	11,39	0,5080	0,6381	0,5272

Skupine so opisane na strani 26.

4.1.3 Organska snov

Organska snov se je razlikovala v zauživanju in izločanju, kar je za posledico imelo razlike v bilanci, medtem ko razlik v izkoristljivosti ni bilo (Tabela 10).

Tabela 10: Rezultati bilance in izkoristljivosti organske snovi (OS)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p-dodatek	p-interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g OS/dan)	112,0 ^a	111,1 ^a	106,9 ^b	110,2 ^a	109,6 ^a	116,6 ^b	1,74	0,1422	0,7192	0,0028
Izločeno (g OS/dan)	24,5	24,8	24,9	22,4 ^a	24,2 ^a	26,3 ^b	1,06	0,6530	0,1591	0,2544
Bilanca (g OS/dan)	87,5 ^a	86,3 ^a	82,0 ^b	87,8	90,3	85,4	1,73	0,0839	0,5590	0,0258
Izkoristljivost (%)	78,1	77,8	76,7	79,6	78,2	77,5	0,87	0,2256	0,1871	0,8104

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.4 Surove beljakovine

Živali so tekom poskusa zauživale in izločale različno količino surovih beljakovin. V primeru krmjenja živali s krmo na osnovi lanenega olja je bil statistično značilen vpliv tudi pri bilanci SB in sicer je skupina z dodatkom ognjiča imela za 1,0 oz. 1,9 g manjšo bilanco SB kot kontrolna oz. skupina z ekstraktom oljčnih listov. Pri živalih s krmo z lanenim oljem se je vpliv ekstrakta statistično značilno odrazil tudi v izkoristljivosti SB in sicer je skupina z ekstraktom ognjiča imela za 4,1 % slabšo izkoristljivost kot skupina z ekstraktom oljčnih listov (Tabela 11).

Tabela 11: Rezultati bilance in izkoristljivosti surovih beljakovin (SB)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p-dodatek	p-interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g SB/dan)	23,6 ^a	24,3 ^a	22,4 ^b	23,9 ^a	23,6 ^a	25,1 ^b	0,38	0,0228	0,8605	0,0003
Izločeno (g SB/dan)	7,9	7,7	7,8	7,8 ^a	7,7 ^a	8,5 ^b	0,20	0,1843	0,1224	0,1042
Bilanca (g SB/dan)	15,7 ^a	16,6 ^a	14,7 ^b	16,1	15,8	16,6	0,33	0,0650	0,2479	0,0012
Izkoristljivost (%)	66,7 ^{ab}	68,2 ^a	65,4 ^b	67,4	67,1	66,1	0,73	0,8463	0,0383	0,3834

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.5 Surove maščobe

Pri analizi bilance surovih maščob smo pokazali statistično značilne razlike v zauživanju ter bilanci le-teh. Izkoristljivost maščob se med preučevanimi skupinami ni razlikovala (Tabela 12).

Tabela 12: Rezultati bilance in izkoristljivosti surovih maščob (SM)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	p- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g SM/dan)	10,66 ^a	10,73 ^a	10,05 ^b	10,60 ^a	10,46 ^a	11,1 ^b	0,17	0,0744	0,9824	0,0005
Izločeno (g SM/dan)	0,67	0,59	0,63	0,60	0,63	0,76	0,06	0,4649	0,3523	0,2678
Bilanca (g SM/dan)	9,99	10,15	10,00	10,0 ^{ab}	9,83 ^a	10,39 ^b	0,15	0,0922	0,8064	0,0006
Izkoristljivost (%)	93,78	94,57	93,78	94,35	94,05	93,29	0,52	0,7343	0,3236	0,4949

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.6 V nevtralnem detergentu netopne vlaknine

Z analizo bilance NDV smo ugotovili, da razlik med skupinami v izkoriščanju, bilanci in izločanju ni bilo. Do razlik v zauživanju NDV je prišlo pri skupinah, krmljenih z lanenim oljem (Tabela 13).

Tabela 13: Rezultati bilance in izkoristljivosti v nevtralnem detergentu netopne vlaknine (NDV)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	p- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g NDV/dan)	14,84 ^{ab}	15,10 ^a	14,26 ^b	14,93	15,20	15,55	0,24	0,0167	0,4577	0,0220
Izločeno (g NDV/dan)	8,26	8,56	8,49	8,21	8,67	9,26	0,39	0,3940	0,2953	0,5481
Bilanca (g NDV/dan)	6,58	6,55	5,76	6,72	6,52	6,29	0,40	0,5269	0,2850	0,7874
Izkoristljivost (%)	43,9	43,5	40,4	44,7	43,4	39,7	2,5	0,9919	0,2363	0,9576

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.7 V kislem detergentu netopna vlaknina

Pri analizi bilance KDV so bile razlike v skupinah z lanenim oljem samo v zauživanju, medtem ko pri izločanju, bilanci in izkoriščanju razlik ni bilo. Pri skupinah z orehovim oljem pa smo izmerili razlike v zauživanju, izločanju, bilanci ter izkoriščanju KDV. Kontrolna skupina pri skupinah z orehovim oljem je za 16,1 oz. 10,0 % boljše izkoriščala KDV kot skupini z ekstraktom oljčnih listov oz. ognjiča (Tabela 14).

Tabela 14: Rezultati bilance in izkoristljivosti v kislem detergentu netopne vlaknine (KDV)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	p- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g KDV/dan)	5,65 ^{ab}	5,81 ^a	5,54 ^b	5,77 ^a	5,42 ^b	5,67 ^{ab}	0,087	0,4913	0,4137	0,0093
Izločeno (g KDV/dan)	3,28	3,31	3,19	3,31 ^a	3,36 ^a	3,63 ^b	0,057	0,0010	0,1393	0,0015
Bilanca (g KDV/dan)	2,37	2,50	2,35	2,46 ^a	2,07 ^b	2,03 ^b	0,083	0,0029	0,0395	0,0095
Izkoristljivost (%)	41,9	43,0	42,4	42,2 ^a	35,4 ^b	38,0 ^b	1,1	0,0001	0,0222	0,0040

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.8 Organski ostanek

Rezultati bilance OO so pokazali, da obstajajo statistično značilne razlike v zauživanju in bilanci OO pri skupinah krmljenih s krmo na osnovi lanenega olja. Razlik v izkoristljivosti med skupinami ni bilo (Tabela 15).

Tabela 15: Rezultati bilance in izkoristljivosti organskega ostanka (OO)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	P- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g OO/dan)	62,94	60,94	60,15	60,83 ^a	60,40 ^a	64,82 ^b	0,95	0,4047	0,1724	0,0035
Izločeno (g OO/dan)	7,73	7,90	7,98	5,83	7,15	7,82	0,77	0,1503	0,3683	0,5225
Bilanca (g OO/dan)	55,21	53,05	52,17	55,00 ^{ab}	53,25 ^a	57,00 ^b	1,14	0,0970	0,2276	0,0626
Izkoristljivost (%)	87,76	87,14	86,76	90,36	88,51	88,31	1,20	0,0723	0,4320	0,8553

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.9 Bruto energija

Izkoristljivost bruto energije se z dodatki različnih ekstraktov oz. uporabo različnih olj ni spremenila. Do razlik je med skupinami prišlo pri obeh oljih pri zauživanju in bilanci, medtem ko je do razlik v izločanju med skupinami prišlo samo pri skupinah s krmo z orehovim oljem (Tabela 16).

Tabela 16: Rezultati bilance in izkoristljivosti bruto energije (BE)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	P- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (kJ/dan)	2096,2 ^a	2077,3 ^a	1981,9 ^b	2056,6 ^a	2035,0 ^a	2175,3 ^b	32,4	0,1737	0,7474	0,0010
Izločeno (kJ/dan)	393,0	395,6	408,9	365,4 ^a	390,3 ^{ab}	425,2 ^b	17,0	0,6970	0,1031	0,4390
Bilanca (kJ/dan)	1703,1 ^a	1681,8 ^a	1573,0 ^b	1691,2 ^{ab}	1644,7 ^a	1750,0 ^b	31,5	0,1134	0,4773	0,0036
Izkoristljivost (%)	81,2	81,0	79,4	82,2	81,0	80,5	0,76	0,2958	0,0980	0,7245

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.10 Surovi pepel

Živali so tekom poskusa zauživale različno količino SP med skupinami, v skupini s krmo z orehovim oljem pa so dodatki ekstraktov tudi statistično značilno vplivali na izločanje tega. Bilanca je bila med skupinami različna tako pri živalih s krmo z lanenim kot tudi z orehovim oljem, vendar pa se to ni pokazalo pri izkoristljivosti SP, kjer razlik med skupinami ni bilo (Tabela 17).

Tabela 17: Rezultati bilance in izkoristljivosti surovega pepela (SP)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	P- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g SP/dan)	6,19 ^{ab}	6,21 ^a	5,97 ^b	6,10 ^a	6,21 ^a	6,66 ^b	0,10	0,0225	0,2525	0,0006
Izločeno (g SP/dan)	2,86	2,81	2,80	2,74 ^a	2,79 ^a	3,04 ^b	0,07	0,5859	0,1861	0,0494
Bilanca (g SP/dan)	3,35 ^a	3,40 ^a	3,17 ^b	3,36 ^a	3,42 ^a	3,62 ^b	0,06	0,0043	0,6018	0,0024
Izkoristljivost (%)	53,96	54,77	53,17	55,20	55,40	54,44	0,79	0,1180	0,2745	0,8997

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.11 Fosfor

Pri analizi bilance fosforja smo ugotovili, da do razlik pri skupini z lanenim oljem ni prišlo. Pri skupinah z orehovim oljem so se statistično značilne razlike pokazale pri zauživanju in izločanju fosforja.

Tabela 18: Rezultati bilance in izkoristljivosti fosforja (P)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	p- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g P/dan)	0,76	0,75	0,73	0,75 ^a	0,76 ^a	0,81 ^b	0,01	0,0182	0,5071	0,0011
Izločeno (g P/dan)	0,34	0,34	0,33	0,33 ^a	0,33 ^a	0,37 ^b	0,009	0,2422	0,1114	0,0121
Bilanca (g P/dan)	0,42	0,42	0,39	0,42	0,42	0,43	0,009	0,0301	0,8119	0,0598
Izkoristljivost (%)	55,17	55,21	54,38	56,19	56,11	53,88	0,86	0,5089	0,1399	0,6152

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.12 Kalcij

Pri analizah bilance kalcija smo ugotovili, da so se pri obeh oljih skupine statistično razlikovale v zauživanju ter bilanci Ca, vendar razlik v izkoristljivosti nismo zaznali (Tabela 19).

Tabela 19: Rezultati bilance in izkoristljivosti kalcija (Ca)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	p- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g Ca/dan)	0,97 ^a	1,02 ^b	0,95 ^a	0,95 ^a	0,98 ^a	1,04 ^b	0,016	0,4096	0,0173	0,0002
Izločeno (g Ca/dan)	0,40	0,40	0,40	0,40	0,42	0,45	0,021	0,3034	0,4639	0,4777
Bilanca (g Ca/dan)	0,56 ^a	0,62 ^b	0,54 ^a	0,55 ^b	0,56 ^{ab}	0,59 ^a	0,016	0,5836	0,0834	0,0067
Izkoristljivost (%)	58,20	60,69	57,50	58,28	58,05	57,49	1,7	0,5452	0,5417	0,6668

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.13 Magnezij

V zauživanju magnezija so se vse skupine razlikovale, medtem ko razlik v izločanju ni bilo. Pri skupinah s krmno mešanico na osnovi lanenega olja je prišlo še do razlik v bilanci in izkoristljivosti, kjer je skupina z dodatkom ekstrakta ognjiča za 17,4 oz. 17,6 % slabše izkoriščala magnezij kot kontrolna skupina oz. skupina z dodatkom ekstrakta oljčnih listov (Tabela 20).

Tabela 20: Rezultati bilance in izkoristljivosti magnezija (Mg)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	P- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g Mg/dan)	0,165 ^a	0,158 ^{ab}	0,154 ^b	0,158 ^a	0,160 ^{ab}	0,167 ^b	0,003	0,1996	0,6555	0,0021
Izločeno (g Mg/dan)	0,105	0,101	0,108	0,105	0,104	0,114	0,004	0,2257	0,0652	0,6663
Bilanca (g Mg/dan)	0,0598 ^a	0,0573 ^a	0,0460 ^b	0,0530	0,0554	0,0523	0,004	0,7854	0,0923	0,2081
Izkoristljivost (%)	36,05 ^a	36,11 ^a	29,77 ^b	33,13	34,96	31,19	2,15	0,6204	0,0579	0,5972

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)

Skupine so opisane na strani 26.

4.1.14 Mangan

Pri analizi bilance mangana smo ugotovili, da so se vse skupine razlikovale v zauživanju in bilanci le-tega, medtem ko razlik v izločanju ni bilo. Razlike so se pojavile še v izkoriščanju, kjer skupina z ekstraktom oljčnih listov za 86,0 % bolje izkoriščala Mn kot kontrola v primeru lanenega olja (Tabela 21).

Tabela 21: Rezultati bilance in izkoristljivosti mangana (Mn)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	P- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g Mn/dan)	35,9 ^a	39,7 ^b	36,0 ^a	35,5 ^a	37,9 ^b	36,6 ^{ab}	0,57	0,2551	0,0001	0,1482
Izločeno (g Mn/dan)	30,0	28,1	29,1	30,4	29,0	30,1	1,5	0,5721	0,5814	0,9762
Bilanca (g Mn/dan)	5,9 ^a	11,5 ^b	7,0 ^a	5,1 ^a	8,9 ^b	6,5 ^{ab}	1,4	0,2671	0,0056	0,7120
Izkoristljivost (%)	15,8 ^a	29,4 ^b	19,1 ^{ab}	14,7	24,5	17,1	3,8	0,4026	0,0135	0,8749

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)

Skupine so opisane na strani 26.

4.1.15 Železo

Razlike v zauživanju železa smo zaznali v vseh skupinah, razlike v izločanju in bilanci pa smo ugotovili samo pri skupinah s krmo z orehovim oljem. V teh skupinah je prišlo do razlik tudi pri izkoriščanju Fe in sicer sta skupini z dodatkom ekstrakta oljčnih listov oz. ognjiča za 191,0 oz. 94,9 % boljše izkoriščali Fe kot kontrolna skupina (Tabela 22).

Tabela 22: Rezultati bilance in izkoristljivosti železa (Fe)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	P- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g Fe/dan)	20,9 ^{ab}	21,3 ^a	20,2 ^b	17,7 ^a	21,7 ^b	22,9 ^c	0,33	0,8634	0,0001	0,0001
Izločeno (g Fe/dan)	16,3	15,7	15,8	15,7 ^{ab}	15,2 ^a	16,9 ^b	0,51	0,9572	0,2212	0,1960
Bilanca (g Fe/dan)	4,7	5,6	4,4	2,0 ^a	7,6 ^b	4,9 ^c	0,49	0,8623	0,0001	0,0002
Izkoristljivost (%)	22,5	26,2	21,7	11,8 ^a	34,4 ^b	23,0 ^c	2,3	0,8419	0,0001	0,0010

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.16 Baker

Pri analizi bakra so se pokazale razlike med skupinami v zauživanju in bilanci le-tega, medtem ko razlik v izločanju ni bilo. Pri skupinah z orehovim oljem smo prišli do zaključka, da ekstrakt ognjiča, v primerjavi s kontrolo oz. dodatkom ekstrakta oljčnih listov, izkoriščanje poslabša za 33,8 oz. 37,8 % (Tabela 23).

Tabela 23: Rezultati bilance in izkoristljivosti bakra (Cu)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	p- dodatek	P- interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g Cu/dan)	2,7 ^a	2,9 ^b	2,8 ^{ab}	3,0 ^a	3,0 ^a	2,6 ^b	0,05	0,1556	0,0001	0,0001
Izločeno (g Cu/dan)	1,8	1,8	1,8	1,8	1,7	1,8	0,06	0,3034	0,3859	0,3463
Bilanca (g Cu/dan)	0,84 ^a	1,00 ^b	0,97 ^{ab}	1,20 ^a	1,24 ^a	0,68 ^b	0,05	0,0158	0,0001	0,0001
Izkoristljivost (%)	31,5	35,2	34,4	40,0 ^a	42,6 ^a	26,5 ^b	1,6	0,0515	0,0001	0,0001

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

4.1.17 Cink

Analiza cinka je pokazala razlike v zauživanju in bilanci le-tega v vseh skupinah, medtem ko je do razlik v izločanju prišlo samo pri skupinah z orehovim oljem. Pri krmah z lanenim oljem se je pokazalo, da ekstrakt oljčnih listov izboljša izkoriščanje Zn v primerjavi s kontrolo za 27,9 %. Pri skupinah z orehovim oljem ekstrakt ognjiča, v primerjavi s kontrolo oz. dodatkom ekstrakta oljčnih listov, izkoriščanje poslabša za 63,5 oz. 56,4 % (Tabela 24).

Tabela 24: Rezultati bilance in izkoristljivosti cinka (Zn)

	Lan			Oreh			SEM	p-olje	P-dodatek	P-interakcija
	Kontr	Oljke	Ognjič	Kontr	Oljke	Ognjič				
Zaužito (g Zn/dan)	16,7 ^a	18,7 ^b	17,8 ^c	16,5 ^a	17,7 ^b	16,7 ^a	0,27	0,0017	0,0001	0,2224
Izločeno (g Zn/dan)	14,0	13,6	14,1	12,3 ^a	13,9 ^{ab}	15,1 ^b	0,6	0,7890	0,0755	0,0832
Bilanca (g Zn/dan)	2,7 ^a	5,1 ^b	3,7 ^{ab}	4,2 ^a	3,8 ^a	1,7 ^b	0,5	0,1430	0,0064	0,0038
Izkoristljivost (%)	16,5 ^a	27,3 ^b	21,1 ^{ab}	26,0 ^a	21,8 ^a	9,5 ^b	3,1	0,3294	0,0194	0,0062

^{abc} Rezultati z različnimi črkami se med seboj statistično razlikujejo = $p \leq 0,05$ (vpliv znotraj skupine olj)
Skupine so opisane na strani 26.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Prehranski dodatki se v prehrani domačih živali že dolgo časa s pridom uporabljajo. Vse od prepovedi uporabe nutritivnih antibiotikov ter čedalje večje želje (laičnih) porabnikov po zmanjšanju uporabe sintetičnih dodatkov v prehrani živali, se povečujeta želja in potreba po uporabi naravnih krmnih dodatkov.

Oba prehranska dodatka (oljke in ognjič) smo izbrali na podlagi do sedaj opisanih učinkov dolgoletne uporabe, predvsem v tradicionalni medicini in na podlagi novejših raziskav, ki ognjiču in oljki pripisujejo mnoge zdravilne in druge za živali potencialno koristne učinke (Jamroz in sod., 2005; Obied in sod., 2005).

Tradicionalna medicina ognjiču in oljki pri ljudeh pripisuje nekatere ugodne učinke, vendar je, vsaj pri živalih, narejenih zelo malo *in vivo* raziskav, ki bi njihovo koristnost tudi potrdile. Naravni krmni dodatki, kot sta oljka in ognjič, vsebujejo različne sekundarne metabolite (predvsem polifenole), ki imajo različne učinke na stimulacijo apetita, zauživanje krme, lahko izboljšajo endogeno sekrecijo encimov, delujejo imunomodulatorno, antioksidativno, antimikrobno, antiinflamatorno, antivirusno itd. (Jamroz in sod., 2005; Obied in sod., 2005). Kompleksnost polifenolov v oljkah in ognjiču je izredno velika, odvisna tudi od sort, podnebja, zemlje, pogojev procesiranja itd. (Cardoso in sod., 2005), zato lahko od poskusa do poskusa pričakujemo izredno variabilne rezultate.

Kar nekaj raziskav v preteklosti je pokazalo, da dodatek rastlinskih ekstraktov izboljša proizvodne rezultate pitovnih piščancev, kar pa se v našem poskusu ni odrazilo, saj tako dodatek ekstrakta oljk kot ognjiča nista vplivala na telesno maso živali, ki je ena izmed proizvodnih lastnosti. Pri tem je treba dodati, da bilančni poskusi zaradi majhnega števila živali in specifičnih pogojev reje niso reprezentativni za merjenje proizvodnih lastnosti. Zaradi genetskih razlik med živalmi prihaja do velike variabilnosti, zaradi česar ne moremo ovrednotiti vpliva opazovanih dodatkov. Z večjim številom živali v poskusu bi lahko statistično značilne razlike zaznali že pri manjših razlikah med posameznimi skupinami. Mogoče je količina dodatkov v poskusu bila premajhna, da bi vplivala na telesno maso živali, zato bi v poskusu morali uporabiti različne koncentracije preučevanih dodatkov na večjem vzorcu živali.

Sicer raziskav o vplivu dodatka oljk ali ognjiča kot sredstva za izboljšanje proizvodnih lastnosti, izkoristljivosti hranil in energije pri pitovnih piščancih ni zaslediti. Kljub temu nekatere raziskave kažejo, da nekateri dodatki, bogati s sekundarnimi rastlinskimi metaboliti, lahko spremenijo proizvodne lastnosti, vendar so rezultati izredno variabilni: različni dodatki namreč proizvodne rezultate živali izboljšajo (Tavarez in sod., 2011; Lu in sod., 2014; Eid in sod., 2003; Bravo in sod., 2014), spet drugi jih poslabšajo ali učinkov ni (Gurbuz in sod., 2010; Goni in sod., 2007; Brenes in sod., 2010; Rezar in Salobir, 2014).

Dodatek polifenolov lahko ugodno vpliva na prebavo in lastnosti ekskrementov, kar lahko vodi do boljše prebavljivosti nekaterih hranilnih snovi (Chamorro in sod., 2014; Chamorro in sod., 2012; Hernandez in sod., 2004), boljše izkoristljivosti (retencije) hranil in energije (Brenes in sod., 2010), vpliva na zdravje prebavil (Wang in sod., 2008) in vsebnost vode v ekskrementih in s tem na kakovost nastila (Rezar in Salobir, 2014) itd.

Rezultati kažejo, da dodatek ekstrakta ognjiča v krmi z lanenim oljem izkoriščanje surovih beljakovin poslabša. V primerjavi s skupino z dodanim ekstraktom oljčnih listov se je ta poslabšala za 4,1 %. Podobne rezultate so pokazali tudi Chamorro in sod. (2012), kjer je dodatek ekstrakta grozdnih pečk zmanjšal ilealno prebavljivost beljakovin in posameznih aminokislin. Poslabšanje izkoristljivosti beljakovin pri dodatku ekstrakta ognjiča je verjetno odraz negativnega učinka polifenolov na delovanje encimov (proteaz) (Surai, 2014). Izkoristljivost maščob se med skupinami ni razlikovala, prav tako ne izkoristljivost suhe snovi, organske snovi, organskega ostanka, surovega pepela in energije. Možno je, da razlik nismo zaznali zaradi premajhnega števila živali v poskusu ali pa polifenoli v opazovanih dodatkih na mehanizme in encime prebave nimajo zadostnega vpliva ali ga sploh nimajo.

Pri KDV smo zaznali poslabšanje izkoristljivosti pri skupinah živali, krmljenimi z orehovim oljem, v skupini krmljeni z ekstraktom oljčnih listov oz. ognjiča za 16,1 oz. 10,0 % slabše kot v kontrolni skupini. To je mogoče razložiti z antimikrobnim učinkom polifenolov, ki lahko v nekaterih primerih negativno delujejo na zaželeno mikrobioto črevesja, ki skrbi za pravilno prebavo vlaknine (KDV) (Surai, 2014). To hipotezo pa nam nekoliko zamegli analiza izkoristljivosti NDV, ki je pokazala, da je dodatek ekstraktov ne spremeni.

Po nekaterih raziskavah lahko ekstrakti, bogati z bioaktivnimi sekundarnimi metaboliti, doprinesejo preko izboljšanja prebavljivosti določenih hranljivih snovi, med njimi beljakovin, maščob, neškrobnih polisaharidov ter nekaterih mineralov, nižjo vsebnost vode v ekskrementih živali. Ekskrementi so posledično bolj suhi, zato ne prihaja do zdravstvenih težav, ki jih vlažen nastil lahko povzroča. Zato lahko pričakujemo uspešnejšo rejo ter tako boljši končni ekonomski uspeh (Rezar in sod., 2009). Raziskave kažejo, da lahko npr. dodatek tanina v krmo pitovnih piščancev statistično značilno zmanjša količino vode v ekskrementih (Rezar in Salobir, 2014), v naši raziskavi pa razlik v koncentraciji suhe snovi v ekskrementih nismo ugotovili. To je morda lahko tudi posledica težav pri poskusu o vsebnosti vode v ekskrementih. V povezavi z dodajanjem ekstraktov ne moremo podati konstruktivne ocene. V ta namen smo izvedli ločeno zbiranje ekskrementov, vendar razlik med skupinami vseeno nismo zaznali.

Pri analizah mineralov smo ugotovili, da dodatka ekstrakta oljk ali ognjiča lahko vplivata na izkoristljivost, vendar to nima značilnega vpliva na telesno maso živali. Medtem ko se izkoriščanje kalcija in fosforja med skupinami ni statistično značilno razlikovalo, je bilo izkoriščanje magnezija pri živalih, krmljenih s krmo z lanenim oljem, pri skupini z ekstraktom ognjiča za 17,4 oz. 17,6 % slabše kot pri kontrolni oz. skupini z ekstraktom oljčnih listov. Pri živalih, krmljenih z lanenim oljem, je skupina z ekstraktom oljčnih listov za 86,0 % boljše izkoriščala mangan kot kontrolna skupina. Na izkoristljivost železa so ekstrakti imeli vpliv le pri skupinah, krmljenih z orehovim oljem, in sicer sta skupini z ekstraktom oljčnih listov oz. ognjiča za 191,0 oz. 94,9 % bolje izkoriščali kot kontrola. Baker je skupina z ekstraktom ognjiča za 33,8 oz. 37,8 % slabše izkoriščala kot kontrolna skupina oz. skupina z oljčnimi listi v primeru orehovega olja. Pri cinku so se razlike pojavile pri obeh oljih. Pri krmi z lanenim oljem je ekstrakt oljčnih listov povečal izkoristljivost za 65,5 % v primerjavi s kontrolo, v primeru orehovega olja pa je ekstrakt ognjiča zmanjšal izkoristljivost za 63,5 oz. 56,4 % v primerjavi s kontrolo oz. skupino z dodatkom ekstrakta oljčnih listov.

Naši rezultati so v skladu z nekaterimi spoznanji, da lahko rastlinski polifenoli interferirajo z absorpcijo nekaterih mineralov (predvsem z vezavo nekaterih mikro hranil: Zn, Fe, Cu itd.) (Surai, 2014). Uporaba ekstrakta grozdnih pečk je v raziskavi Chamorro in sod. (2012) povzročila znižanje koncentracije Cu, Zn in Fe v plazmi pitovnih piščancev, kar kaže na slabšo izkoristljivost in se ujema z našimi ugotovitvami, da dodatek izbranih ekstraktov značilno zmanjša izkoristljivost nekaterih hranil (Mg, Zn in Cu). Tudi Ma in sod. (2011) so v raziskavi na Caco 2 celični liniji pokazali, da polifenoli različnih rastlin

lahko inhibirajo absorbcijo železa v črevesju. Podobne rezultate so v raziskavi dobili tudi Afsana in sod. (2004), ki so dokazali, da polifenoli poslabšajo absorbcijo Fe, na Zn, Cu, Mn pa nimajo vpliva. To ni v skladu z našimi rezultati, ki kažejo na to, da dodatek ekstraktov celo izboljša izkoriščanje Fe in Mn, poslabša pa izkoriščanje Mg, Zn in Cu. Možno je, da je profil polifenolov, uporabljen v naši raziskavi, drugačen kot profil polifenolov v ostalih raziskavah. To je sicer malo verjetno, saj vse raziskave kažejo enak trend pri različnih uporabljenih virih polifenolov.

S poskusom pridobljeni rezultati nam kažejo možnost vpliva dodanih ekstraktov na izkoristljivost nekaterih hranil, predvsem SB, KDV ter nekaterih mineralov, vendar ta vpliv ni vedno pozitiven. Pokazali smo, da dodajanje ekstraktov ognjiča oz. oljčnih listov poslabša izkoriščanje hranljivih snovi, razen železa, mangana in cinka, kar pa ne vpliva na telesno maso živali.

Iz rezultatov torej lahko zaključimo, da dodatek »naravnih« prehranskih aditivov mogoče škoduje živalim in jih postavlja v večji stres, kot je to v navadnih okoliščinah. Zaradi slabše izkoristljivosti hranljivih snovi lahko pričakujemo večje onesnaževanje okolja s hranili iz ekskrementov, česar pa si pri reji živali ne želimo. Naši dobljeni rezultati in vse raziskave, ki so že bile opravljene s področja dodajanja najrazličnejših ekstraktov, kažejo na to, da so učinki in delovanje ekstraktov zelo variabilni, zato bi morali dodatke boljše standardizirati, opraviti več raziskav na več živalih v različnih okoljih, da bi lahko podali konstruktivno oceno o koristnosti dodajanja ekstraktov.

Dodatek izbranih ekstraktov poslabša izkoriščanje nekaterih mineralov (kovin = Cu, Zn), kar bi lahko imelo pozitiven učinek na oksidacijski stres živali, saj kovinski ioni delujejo prooksidativno. Rezultati so si nasprotujoči, saj smo predvidevali, da imata ekstrakta zaradi skupnih mehanizmov prebave z železom enak učinek, tega pa v poskusu nismo potrdili.

Na izkoristljivost hranil in prebavo vpliva tudi viskoznost ekskrementov oz. vsebina prebavil. Hashemipour in sod. (2014) so pokazali, da nekateri polifenoli (timol in karvakrol) zmanjšajo viskoznost v primeru visoko viskoznih ekskrementov in tudi na ta način pripomorejo k izboljšanju izkoristljivosti hranljivih snovi. Morda bi morali poskus ponoviti v razmerah, kjer bi živali imele višjo viskoznost vsebine prebavil kot v našem poskusu.

Razlik med oksidativno stabilnejšim orehovim oljem in oksidativno slabše stabilnim lanenim oljem nismo pokazali. Sicer smo med oljema pokazali razlike pri posameznih hranilih, vendar te niso imele nikakršnega trenda, ki bi kazal na značilne razlike.

Obe delovni hipotezi lahko v veliki meri ovržemo, saj noben izmed uporabljenih ekstraktov ni izboljšal razmer v prebavilih in prebavi krme do te mere, da bi značilno izboljšal izkoriščanje hranil (razen pri železu, manganu in cinku). Pokazali smo tudi, da med oksidativno bolj ali manj stabilnim oljem ni značilnega trenda, ki bi nakazoval na to, da bi dodatka bolj vplivala na enega izmed olj.

5.2 SKLEPI

Na podlagi rezultatov poskusa lahko navedemo naslednje sklepe:

- Uporabljena rastlinska ekstrakta nimata vpliva na telesno maso pitovnih piščancev.
- Dodatka ekstraktov oljčnih listov in ognjiča vplivata na izkoriščanje nekaterih hranil, predvsem surovih beljakovin, v kislem detergentu netopne vlaknine, Mg, Mn, Fe, Cu in Zn.
- Pozitiven vpliv na izkoriščanje sta ekstrakta pokazala samo pri železu, manganu in cinku.
- Dodatek uporabljenih ekstraktov poslabša izkoriščanje nekaterih hranljivih snovi, zato je dodajanje le-teh lahko vprašljivo ali celo nesmiselno.
- Ker dodatek ekstraktov poslabša izkoriščanje nekaterih kovinskih ionov, lahko izboljša oksidacijski status živali, saj le-ti delujejo prooksidativno.
- Za analizo vpliva ekstraktov na količino vode v ekskrementih bi bilo potrebno poskus ponoviti (opravljen je bil ločen odvzem ekskrementov).
- Rezultati delno potrjujejo našo hipotezo, vendar v negativnem smislu. Dodatka ekstrakta ognjiča in oljčnih listov vplivata na izkoristljivost hranil, vendar jo v večini primerov poslabšata (predvsem mineralov).
- Hipoteze, da dodatka bolj vplivata na oksidativno bolj nestabilno olje, ne moremo potrditi, saj to drži le pri določenih hranilih.
- Učinek naravnih dodatkov je zelo variabilen in težko predvidljiv, kar kaže naša in druge raziskave na tem področju.

6 POVZETEK

Različni rastlinski dodatki, bogati z bioaktivnimi sekundarnimi metaboliti, lahko predstavljajo uspešen nadomestek nutritivnim antibiotikom, ki smo jih v Evropski uniji z zakonom prepovedali. V prehrani se poskuša zamenjavo doseči s široko paleto rastlinskih dodatkov, ki pa nimajo vedno želenega in predvidenega učinka, zato bo potrebno poglobiti raziskave na omenjenem področju.

V bilančnem poskusu smo preučevali 36 pitovnih piščancev proveniencie Ross 308. Živali so bile razdeljene v 6 homogenih skupin s po 6 živalmi. Po 5-dnevnem prilagoditvenem obdobju smo izvedli 5-dnevni poskus krmljenja z izoenergijsko krmo na osnovi orehovega oz. lanenega olja. Ti dve skupini živali sta bili razdeljeni še v 3 podskupine in sicer kontrolno, skupino z dodatkom ekstrakta ognjiča ter skupino z dodatkom ekstrakta oljčnih listov. Krmo in vodo so živali imele na voljo ves čas poskusa. Dnevno smo zbirali ekskreme te jih tehtali in merili količino zaužite krme. Na začetku in ob koncu poskusa smo živali stehali. V laboratoriju smo analizirali krmne mešanice in ekskreme. Ekskreme smo homogenizirali in liofilizirali, da smo dobili laboratorijski vzorec. Te vzorce smo analizirali na vsebnost suhe snovi, surovih beljakovin, maščob in pepela, izvedli analizo detergenske vlaknine, s kalorimetrom izmerili sežigno/bruto energijo ter iz solnokislinskih izvlečkov izvedli analize mineralov: Ca, P, Mg, Mn, Fe, Cu in Zn.

V raziskavi smo izmerili razlike v izkoristljivosti in drugih merjenih parametrih. Na KDV sta opazovana ekstrakta pri skupinah z orehovim oljem delovala negativno na izkoriščanje in sicer se je izkoristljivost poslabšala za 16,1 oz. 10,0 % v primerjavi s kontrolno skupino. Ekstrakt ognjiča je v primerjavi z dodatkom ekstrakta oljčnih listov pri skupini z lanenim oljem poslabšal izkoriščanje SB za 4,1 %. Izkoriščanje magnezija pri živalih krmljenih s krmo z lanenim oljem je bilo pri skupini z ekstraktom ognjiča za 17,4 oz. 17,6 % slabše kot pri kontrolni oz. skupini z ekstraktom oljčnih listov. Ekstrakt oljčnih listov je pri skupinah z lanenim oljem izboljšal izkoristljivost mangana za 86,0 % v primerjavi s kontrolno skupino. Pri izkoriščanju železa so živali krmljene s kontrolno krmo na osnovi orehovega olja za 191,0 oz. 94,9 % slabše izkoriščale Fe kot živali z ekstraktoma oljčnih listov oz. ognjiča. Pri bakru in cinku je pri skupinah krmljenih s krmo na osnovi orehovega olja ekstrakt ognjiča značilno zmanjšal izkoristljivost le-teh za približno 30-60 % v primerjavi s skupino z ekstraktom oljčnih listov oz. kontrolno skupino. Pri cinku je v primeru lanenega olja ekstrakt oljčnih listov povečal izkoristljivost za 65,5 % v primerjavi s kontrolo.

7 VIRI

- Afsana K., Shiga K., Ishizuka S., Hara H. 2004. Reducing effect of ingestive tannic acid on the absorption of iron, but not zinc, copper and manganese by rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68, 3: 584-592
- Amirghofran Z., Azadbakht M., Karimi M. 2000. Evaluation of the immunomodulatory effects of five herbal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 167-172
- Barnes J., Anderson L. A., Phillipson J. D. 2002. *Herbal Medicines*. 2nd ed. London, Pharmaceutical Press: 103–105
- Botsoglou E., Govaris A., Fletouris D., Botsoglou N. 2012. Effect of supplementation of the laying hen diet with olive leaves (*Olea europea L.*) on lipid oxidation and fatty acid profile of α -linolenic acid enriched eggs during storage. *British Poultry Science*, 53, 4: 508-519
- Bravo D., Pirgozliev V., Rose S.P. 2014. A mixture of carvacrol, cinnamaldehyde, and capsicum oleoresin improves energy utilization and growth performance of broiler chicken fed maize-based diet. *Journal of Animal Science*, 92: 1531-1536
- Bravo D., Utterback P., Parsons C.M. 2011. Evaluation of mixture of carvacrol, cinnamaldehyde, and capsicum oleoresin for improving growth performance and metabolizable energy in broiler chicks fed corn and soybean meal. *Journal of Applied Poultry Research*, 20: 115-120
- Braun L., Cohen M. 2014. *Herbs and Natural Supplements*. 4th ed. Sydney, Elsevier Australia: 136-141
- Brenes A., Viveros A., Goni I., Centeno C., Saura-Calixto F., Arija I. 2010. Effect of grape seed extract on growth performance, protein and polyphenol digestibilities, and antioxidant activity in chickens. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8, 2: 326-333
- Brenes A., Viveros A., Goni I., Centeno C., Sayago-Ayerdi S.G., Arija I., Saura-Calixto F. 2008. Effect of Grape Pomace Concentrate and vitamin E on Digestibility of Polyphenols and Antioxidant Activity in Chickens. *Poultry Science*, 87: 307-316
- Bučar-Miklavčič M., Butinar B., Jančar M., Sotlar M., Vesel V. 1997. *Oljka in oljčno olje*. 1. izdaja. Ljubljana, Kmečki glas: 143 str.
- Cardoso S.M., Guyot S., Marnet N., Lopes-da-Sativa J.A., Renard C.M., Coimbra M.A. 2005. Characterization of phenolic extracts from olive pulp and olive pomace by electrospray mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 21-32

- Chamorro S., Viveros A., Centeno C., romero C., Arija I., Brenes A. 2012. Effects of dietary grape seed extract on growth performance, amino acid digestibility and plasma lipids and mineral content in broiler chicks. *Animal*, 7, 4: 555-561
- Chamorro S., Viveros A., Rebole A., Rica B.D., Arija I., Brenes A. 2014. Influence of dietary enzyme addition on polyphenol utilization and meat lipid oxidation of chicks fed grape pomace. *Food Research International*, 73: 197-203
- Cicerale S. Lucas L.J., Keast R.S.J. 2012. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 129-135
- Efstratiou E., Hussain A.I., Nigam P.S., Moore J.E., Ayub M.A., Rao J.R. 2012. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 18: 173-176
- EFSA. 2011. Scientific opinion. *EFSA Journal*, 9, 4: 2033.
<http://www.efsa.europa.eu/en/search/doc/2033.pdf> (15. jul. 2015)
- Eid Y.Z., Ohtsuka A. Hayashi K. 2003. Tea polyphenols reduce glucocorticoid- induced growth inhibition and oxydative stress in broiler chickens. *British Poultry Science*, 44: 127-132
- Ercetin T., Senol F.S., Orhan I.E., Toker G. 2012. Comparative assessment of antioxidant and cholinesterase properties of marigold extracts from *Acalandula arvensis L.* and *Calendula officinalis L.* *Industrial Crops and Products*, 36: 203-208
- Frankič T., Salobir J. 2010. *In vivo* antioxidant potential of Sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood extract in young growing pigs exposed to n-3 PUFA- induced oxidative stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 1432-1439
- Frankič T., Salobir K., Salobir J. 2008. The comparison of *in vivo* antigenotoxic and antioxidative capacity of two propylene glycol extracts of *Calendula officinalis* (marigold) and vitamin E in young growing pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93: 688-694
- Frankič T., Voljč M., Salobir J., Rezar V. 2009. Use of herbs and spices and their extracts in animal nutrition. *Acta agriculturae Slovenica*, 94, 2: 95-102
- Frankič T. 2009. Vpliv nekaterih rastlinskih ekstraktov na oksidacijski status pri rastočih prašičih. Doktorska disertacija. Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko: 2-3
- Galle-Toplak K. 2002. Zdravilne rastline na Slovenskem. Ljubljana, Mladinska knjiga: 70-71

- Goni I., Brenes A., Centeno C., Viveros A., Saura-Calixto F., Rebole A., Arija I. Estevez R. 2007. Effect of Dietary Grape Pomace and Vitamin E on Growth Performance, Nutrient Digestibility, and Susceptibility to Meat Lipid Oxidation in Chickens. *Poultry Science*, 86, 3: 508-516
- Gurbuz E., Balevi T., Kurtoglu V., Coskun B., Oznurlu Y., Kan Y. Kartal M. 2010. Effects of Echinacea extract on the performance, antibody titres, and intestinal histology of layer chicks. *British Poultry Science*, 51, 6: 805-810
- Hashemipour H., Kermanshahi H., Golian A., Khaksar V. 2014. Effects of carboxyl methyl cellulose and thymol + carvacrol on performance, digesta viscosity and some blood metabolites of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98: 672-679
- Hashemipour H., Kermanshahi H., Golian A., Veldkamp T. 2013. Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 2059-2069
- Hassan O., Fan L.S. 2005: The anti-oxidation potential of polyphenol extract from cocoa leaves on mechanically deboned chicken meat (MDCM). Elsevier, *LWT- Food Science and Technology*, 38: 315-321
- Hernandez F., Madrid J., Garcia V., Orengo J., Medias M.D. 2004. Influence of Two Plant Extracts on Broilers Performance, Digestibility, and Digestive Organ Size. *Poultry Science*, 83: 169-174
- Jamroz D., Orda J., Kamel C., Wiliczekiewicz A., Wertelecki W., Skorupinska J. 2003. The influence of phytogetic extracts on performance, nutrient digestibility, carcass characteristics and gut microbial status in broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 12, 3: 583-596
- Jamroz D., Wiliczekiewicz A., Wertelecki T., Orda J. J. Skorupinska J.. 2005. Use of active substances of plant origin chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British Poultry Science*, 46, 4: 485-493
- Korakhashvili A., Kacharava T., Kiknavelidze N.. 2007. Biochemical structure of *Calendula officinalis*. *Georgian Med News*, 148-149: 70-73
- Llana-Ruiz_cabello M., Gutierrez-Praena D., Puerto M., Pichardo S., Jos A. 2015. *In vitro* pro-oxidant/antioksidant role of carvacrol, thymol and their mixture in the intestinal CACO-2 cell line. *Toxicology in Vitro*, 29: 647-656
- Loggia R., Tubaro A., Sosa S., Becker H., Saar St., Isaac O. 1994. The Role of Triterpenoids in the Topical Anti-Inflammatory Activity of *Calendula officinalis* Flowers. *Planta Med*, 60: 516-520

- Lu T., Harper A. F., Zhao J., Dalloul R. A. 2014. Effects of dietary antioxidant blend and vitamin E on growth performance, oxidative status, and meat quality in broiler chickens fed a diet high in oxidants. *Poultry Science*, 93, 7: 1649- 1657
- Ma Q., Kim E-Y., Lindsay E. A., Han O. 2011. Bioactivedietary polyphenols inhibit heme iron absorption in a dose-dependent manner in human intestinal Caco-2 cells. *Journal of Food Science*, 76, 5: 143-150
- Medina E., Castro A., Romero C. in Brenes M. 2006. Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils: Correlation with Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4954-4961
- Medina E., Castro A., Romero C., Ramirez A. in Brenes M. 2013. Effect of antimicrobial compounds from olive products on microorganisms related to health, food and agriculture. *Formatex*. <http://www.formatex.info/microbiology4/vol2/1087-1094.pdf> (15. jul. 2015)
- Methodenbuch, Band III. 1993a. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung 1993. 3.1., Bestimmung der Feuchtigkeit, Amtliche methode. Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Methodenbuch, Band III. 1993b. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung 1993. 3.1., Bestimmung von Rohasche, Amtliche methode, Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Methodenbuch, Band III. 1993c. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung 1993. 4.1.1., Bestimmung von Rohprotein, Amtliche methode, Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Methodenbuch, Band III. 1993d. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung 1993. 5.1.1., Bestimmung von Rohfett, Amtliche methode, Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Methodenbuch, Band III. 1993e. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung 1993. 8.2., Salsaeurenloesliche Asche, Bestimmung von Salsaeurenloeslicher Asche, Amtliche methode, Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Methodenbuch, Band III. 1993f. Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Ergänzungslieferung 1993. 10.6.1., Bestimmung von Gesamtphosphor, Amtliche methode, Darmstadt, VDLUFA-Verlag
- Müller R.H., Hildebrand G.E. 1998. *Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen*. 2nd ed. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: 471 str.
- Obied H. K., Allen M. S., Bedgood D. R., Prenzler P. D., Robards K. Stockmann R.. 2005. Bioactivity and analysis of Biophenols recovered from olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 823-837

- Papadopoulus g., in Boskou D. 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 68, 9: 669-671
- Pereira A.P., Ferreira I.C.F.R., Marcelino F., Valentao P., Andrade P.B., Seabra R., Estevinho L., Bento A. in Pereira J.A. 2007. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. *Cobrançosa*) leaves. *Molecules*, 12: 1153-1162
- Ramos A., Edreira A., vizoso A., Betancourt J., Lopez M., Decalo M. 1998. Genotoxicity of an extract of *Calendula officinalis* L.. *Journal of Ethnopharmacology*, 61: 49-55
- Rezar V., Voljč M., Salobir J. 2009. Vpliv prehrane na vsebnost suhe snovi v izločkih pitovnih piščancev. V: 18. Mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali »Zdravčevi-Erjavčevi dnevi«, Radenci, 5.- 6. nov. 2009. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 216-218
- Rezar V., Salobir J. 2014. Effects of tannin-rich sweet chesnut (*Castanea sativa mill*) wood extract supplementation on nutrient utilisation and excreta dry matter content in broiler chickens. *European Poultry Science*, 78: 1-10
- Romier B., Schneider Y-J., Larondelle Y., During A. 2009. Dietary polyphenols can modulate the intestinal inflammatory response. *Nutrition reviews*, 67, 7: 363-378
- Ross. Nutrition Specifications. 2014.
http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross308BroilerNutritionSpecs2014-EN.pdf (15. jul. 2015)
- Salobir J., Levart A., Lupšina K., Tomažin U., Rezar V. 2013 Uporaba stranskih proizvodov predelave oljk v prehrani nesnic. V: 22. Mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali »Zdravčevi –Erjavčevi dnevi«, Radenci, 14.- 15. nov. 2013. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 107-112
- Salobir J. 2011. Prehrana živali in zdravje živali, ljudi in okolja. V: 20. Mednarodno znanstveno posvetovanje o prehrani domačih živali »Zdravčevi-Erjavčevi dnevi«, Radenci, 10. – 11. nov. 2011. Murska Sobota, Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije: 50-61
- SAS Institute Inc. 2002-2010. SAS/STAT 9.3. Cary, NC, SAS Institute
- Sayago-Ayerdi S.G., Brenes A., Viveros A., Goni I. 2009: Antioxidative effect of dietary grape pomace concentrate on lipid oksidation of chilled and long-term frozen stored chicken patties. *Meat Science*, 83: 528-533.
- Siriwardhana N., Kalupahana N.S., Cekanova M., LeMieux M., Greer B., Moustaid-Moussa N. 2013. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24: 613-623
- Surai P.F. 2014. Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98: 19-31.

- Tavarez M. A., Boler D. D., Bess K. N., Zhao J. Yan F., Dilger A. C. McKeith F. K. In Killefer J. 2011. Effect of antioxidant inclusion and oil quality on broiler performance, meat quality, and lipid oxidation. *Poultry Science*, 90, 4: 922-930
- Ukiya M., Akihisa T., Yasukawa K., Tokuda H., Suzuki T., Kimura Y. 2006. Anti-Inflammatory, Anti-Tumor-Promoting, and Cytotoxic Activities of Constituents of Marigold (*Calendula officinalis*) Flowers. *Journal of Natural Products*, 69: 1692-1696
- Vesel V., Valenčič V., Jančar M., Čalija S., Butinar B., Bučar-Miklavčič M. 2009. Oljka-živilo, zdravilo, lepotilo. Ljubljana, ČZD Kmečki glas: 13-26
- Visioli F., Poli A. in Galli C. 2002. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22, 1: 65-75
- Voljč M., Levart A., Žgur S., Salobir J. 2013. The effect of α -tocopherol, sweet chestnut wood extract and their combination on oxidative stress *in vivo* and the oxidative stability of meat in broilers. *British Poultry Science*, 54, 1: 144-156
- Wallace R.J., Oleszek W., Franz C., Hahn I., Baser K. H. C., Mathe A., Teichmann K. 2010. Dietary plant bioactives for poultry health and productivity. *British Poultry Science*, 51, 4: 461-487
- Wang M.L., Suo X., Gu J.H., Whang W.W., Fang Q., Wang X. 2008. Influence of Grape Seed Proanthocyanidin Extract in Broiler Chickens: Effect on Chicken Coccidiosis and Antioxidant Status. *Poultry Science*, 87: 2273-2280
- Windisch., Chedle K., Plitzner C., Kroismayr A. 2008. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 86: 140-148

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Janezu Salobirju in somentorici doc. dr. Vidi Rezar za ogromno spodbude, strokovnih nasvetov, časa in potrpljenja, da smo s pozitivno naravnostjo zaključili zastavljeno raziskovalno delo.

Zahvala gre tudi recenzentu doc. dr. Dušanu Terčiču in predsedniku komisije doc. dr. Silvestru Žgurju za vso strokovno pomoč pri urejanju magistrskega dela.

Zahvaljujem se tudi dr. Alenki Levart, Marku Kodri, Anici Mušič in ostalim zaposlenim na Katedri za prehrano, Oddelka za zootehniko za prijazno pomoč pri izvajanju analiz in ostalem delu v laboratoriju, dr. Tini Trebušak za vsestransko pomoč v poskusnem hlevu, dr. Nataši Siard za tehnični pregled dela in vsem ostalim, ki so na kakršen koli način sodelovali pri mojem delu in me v času raziskovanja sprejeli medse.

Posebna zahvala gre tudi domačim, bratoma in sestri, predvsem pa staršema, ki sta mi v času študija stala ob strani in me podpirala. Zahvaljujem se tudi puncu Cilki za vse spodbude in dobre želje ob delu.