



MOŽNOSTI UPORABE OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU

**POROČILO CILJNORAZISKOVALNEGA
PROJEKTA »CRP V4-1621«**



Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta



MOŽNOSTI UPORABE OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU

Poročilo ciljnoraziskovalnega projekta »CRP V4-1621«

Naročnik:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano
Dunajska 22
1000 Ljubljana

Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije
Bleiweisova cesta 30
1000 Ljubljana

Sodelujoče raziskovalne organizacije:

- Inštitut za oljkarstvo, Znanstveno-raziskovalno središče Koper, Garibaldijeva 1, 6000 Koper,
- Oddelek za živilstvo, Biotehniška Fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana,
- Oddelek za zootehniko, Biotehniška Fakulteta, Univerza v Ljubljani, Groblje 3, 1230 Domžale.

Koper, oktober 2019

MOŽNOSTI UPORABE OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU

Poročilo o ciljnoraiziskovalnem projektu »CRP V4-1621«

Avtorji besedila in vsebin: Maja Podgornik, Milena Bučar-Miklavčič, Alenka Levart, Janez Salobir, Vida Rezar, Nataša Poklar Ulrih, Mihaela Skrt, Bojan Butinar

Vodja projekta: Bojan Butinar

Tehnična urednica: Maja Podgornik

Lektorirala: Nina Novak Kerbler

Oblikovanje naslovnice: Alenka Obid

Založnik: Znanstveno-raziskovalno središče Koper, Annales ZRS

Za založnika: Rado Pišot

Spletna izdaja,
dostopno na: <https://www.zrs-kp.si/index.php/research-2/zalozba/monografije/>

Publikacija je nastala v okviru projekta CRP V4-1621 Možnosti uporabe ostankov proizvodnje v oljkarstvu, ki ga sofinancirata Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano in Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije iz državnega proračuna.

Katalogni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
[COBISS.SI-ID=304820736](https://nuk.ub.uni-lj.si/COBISS.SI-ID=304820736)
ISBN 978-961-7058-30-7 (pdf)

VSEBINA

DS1 POPIS STANJA IN PRIPRAVA PRIPOROČIL ZA KORISTNO UPORABO OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU	5
DS.1.1 PREGLED IN SINTEZA DO ZDAJ ZNANIH PODATKOV IN RAZISKAV S PODROČJA	5
DS.1.2 POPIS STANJA OSTANKOV V SLOVENSKEM OLJKARSTVU.....	11
DS.1.3 SPREMLJANJE UPORABE TROPIN IN RASTLINSKE VODE NA KMETIJSKIH ZEMLIŠČIH.....	12
DS2 PREHRANSKA VREDNOST IN KRMLJENJE ŽIVALI	18
DS2.1 PREGLED IN SINTEZA DO ZDAJ ZNANIH PODATKOV IN RAZISKAV	18
DS2.2 ANALIZA IN MERITVE HRANILNE VREDNOSTI OLJČNIH LISTOV IN TROPIN.....	18
<i>DS2.2.1 Analiza osnovnih parametrov hranilne vrednosti</i>	<i>18</i>
<i>DS2.2.2 Meritve prebavljivosti oz. presnovljivosti energije in hranil pri prašičih in perutnini.....</i>	<i>19</i>
DS2.3 IN VITRO RAZISKAVE PREHRANSKE VREDNOSTI ZA PREŽVEKOVALCE	23
DS2.4 OCENA MOŽNOSTI UPORABE OLJČNIH LISTOV IN TROPIN ZA SILIRANJE.....	29
DS3 PRIPRAVA EKSTRAKTOV, BOGATIH S FENOLNIMI SPOJINAMI, ZA PRIPRAVO PREHRANSKIH DOPOLNIL 33	
DS3.1 PREGLED IN SINTEZA DOSEDANJIH ZNANIH PODATKOV IN RAZISKAV	33
DS3.2 PRIPRAVA IN ANALIZA ETANOLNIH EKSTRAKTOV OLJČNIH LISTOV IN TROPIN.....	33
DS3.3 KAPSULACIJA S PROLIPOSONI IN KARAKTERIZACIJA	34
DS3.4 PRIPRAVA ALGINATNIH/HITZANSKIH KAPSUL IN KARAKTERIZACIJA IZ EKSTRAKTA OLJČNIH LISTOV	34
DS3.5 PRIPRAVA EKSTRAKTA ZA UPORABO V ŽIVILSKIH IZDELKIH Z METODO SUŠENJA Z RAZPRŠEVANJEM.....	34
DS3.6 TESTIRANJE STABILNOSTI EKSTRAKTOV V PREHRANSKEM DOPOLNILU	36
DS 4 IZDELAVA SMERNIC ZA TRAJNOSTNO UPORABO OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU	38
DS 5 KOMUNIKACIJA IN DISEMINACIJA.....	39
ZAHVALA	42

DS1 POPIS STANJA IN PRIPRAVA PRIPOROČIL ZA KORISTNO UPORABO OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU

DS.1.1 Pregled in sinteza do zdaj znanih podatkov in raziskav s področja

1 Načini predelave oljk in ostanki proizvodnje

Oljke prispejo v predelavo v različnih zabojih ali vrečah, kjer v katerih so lahko poleg prisotni tudi listje, veje, kamni, zemlja in pripomočki za obiranje oljk, ki pomotoma zaidejo mednje. Nečistoče lahko negativno vplivajo na kakovost olja in poškodujejo opremo pri predelavi. Zato se večje mehanske nečistoče odstranijo z rešetko, listje pa z vpihovanjem zraka (ventilatorjem). Zemlja in druge nečistoče z oljk pa se odstranijo s pranjem.

Oprane oljke se zmeljejo v oljčno drozgo. Za mletje se najpogosteje uporabljajo drobilniki (s kladivi, noži ali vrtljivimi valji) ali mlinski kamni. Oljčna drozga se mesi v posodah za mesenje ali se preša. Pri tem se iz oljčne drozge izloča oljčno olje.

Obstajata dva osnovna tehnološka postopka za izločanje oljčnega olja:

1. prešanje oljčne drozge (tradicionalna predelava oljk) – izloča se oljčno olje, pri tem ostanejo oljčne tropine (z majhnim deležem vode) in rastlinska voda, ki je pomešana z vodo, dodano v različnih fazah predelave.

2. mesenje in centrifugiranje oljčne drozge (tehnologija kontinuirne predelave oljk z uporabo dekanterjev) – s pomočjo centrifugalne sile se loči oljčno olje od trdnih delcev in vode. V ta namen se uporabljajo 3- ali 2-fazni dekanterji.

Za izločanje oljčnega olja iz oljčne drozge so se tradicionalno uporabljale preše. Za zagotavljanje gospodarsko upravičene predelave oljk in kakovostnega oljčnega olja je bila v 70. letih prejšnjega stoletja razvita nova tehnologija izločanja olja z uporabo 3-faznih dekanterjev.

Pri **3-faznem dekanterju** dobimo proizvod oljčno olje (1. faza), pri tem ostanejo oljčne tropine (2. faza) in rastlinska voda ter voda, dodana v različnih fazah predelave (3. faza).

Zaradi velike količine vode, dodane v različnih fazah predelave s 3-faznimi dekanterji, so bili ostanki iz predelave oljk problematičen odpadke. Zato so (Albuquerque in sod., 2004; Roig in sod., 2006) v začetku devetdesetih let prejšnjega stoletja razvili sistem predelave oljk z **2-faznim dekanterjem**. Ta sistem imenujejo tudi »ekološki sistem«, saj poleg tega, da močno zmanjša količine vode, dodane v različnih fazah predelave, zmanjša tudi izpiranje fenolnih spojin iz oljčnega olja (Dermeche in sod., 2013).

Pri **2-faznem dekanterju** dobimo oljčno olje (1. faza) in oljčne tropine z visoko vsebnostjo vode (2. faza). Količina vode vključuje rastlinsko vodo in vodo, uporabljeno v različnih fazah predelave – pri mesenju, centrifugiranju, separatorju. Pri tej tehnologiji se voda dodaja le izjemoma (suhe oljke, prezreli plodovi), zato je količina rastlinske vode bistveno manjša v primerjavi s 3-faznim dekanterjem. Večina novih oljarn iz oljčnih tropin z visoko vsebnostjo vode tudi ločuje koščice, ki se uporabljajo kot gorivo.

V preglednici 1 so opisane vrste ostankov pri predelavi oljčnega olja, ki jih je ob upoštevanju krožnega gospodarstva mogoče ponovno uporabiti. Ti ostanki se po trenutno veljavni slovenski zakonodaji uvrščajo med odpadke (Uredba o odpadkih, Uradni list RS, št. 37/15 in 69/15).

Preglednica 1: Ostanke proizvodnje oljk in mogoča uporaba.

Ostanke proizvodnje oljk	Slovenski izraz	Italijanski izraz	Španski izraz	Angleški izraz	Možnost uporabe
oljčne tropine	oljna pogača preša (vsebnost vode 25–28 %)	sansa vergine di oliva	orujo	olive cake olive pomace	<ul style="list-style-type: none"> • proizvodnja električne energije • ekstrakcija ostankov olja • ekstrakcija organskih spojin (pektin, antioksidanti) • prehrana živali
	vlažne tropine 3-fazni sistem (vsebnost vode 48–52 %)	sansa vergine di oliva di centrifugazioni a 3 fasi	orujo húmedo	olive cake olive pomace	<ul style="list-style-type: none"> • ekstrakcija ostankov olja • proizvodnja električne energije
	zelo vlažne tropine 2-fazni sistem (vsebnost vode 55–70 %)	sansa vergine di oliva di centrifugazioni a 2 fasi	alpeorujo	two-phase olive-mill waste olive wet pomace olive wet cake	<ul style="list-style-type: none"> • kompost • ponovno centrifugiranje (repaso)
voda	odpadna voda (voda za pranje oljk in čiščenje naprav za predelavo oljk)	aqua di lavaggio delle olive	alpechín (agua de vegetación junto con el agua de proceso)	olive mill wastewater	<ul style="list-style-type: none"> • za namakanje • za gnojenje
	rastlinska voda (rastlinska voda in voda, dodana v različnih fazah predelave)	aqua di vegetazione			
oljni listi	oljni listi	foglie	hojas	olive leaves	<ul style="list-style-type: none"> • organski substrat za kompostiranje • prehrana živali • direkten nanos na zemljišče • ekstrakcija fenolnih spojin • ekstrakcija sladkornega alkohola manitola
oljne koščice	oljne koščice	nocciolo di oliva	hueso	olive stones, olive pit	ogrevanje

Med ostanki proizvodnje, ki jih je mogoče ponovno uporabiti, pomeni največje ekološko tveganje rastlinska voda z vodo, dodano v različnih fazah predelave (v nadaljevanju rastlinska voda), ki nastane v večjih količinah pri tehnologiji kontinuirane predelave oljk z uporabo 3-faznih dekanterjev in tradicionalnih preš (Roig in sod., 2006).

Zrnčević (2018) v preglednem članku o vrednotenju odpadnih voda iz predelave oljk povzema, da pri predelavi 1000 kg oljk s prešo nastane 400–600 litrov rastlinske vode oz. odpadne vode, pri predelavi s 3-faznim dekanterjem pa 800–1000 litrov rastlinske oz. odpadne vode. Poudarja, da pri dvofaznem sistemu ne nastaja odpadna voda, temveč poltrdi proizvod.

Rastlinska voda ima lahko toksične učinke ob nenadzorovani in neustrezni uporabi, saj vsebuje organske kisline, lipide, alkohole in fenolne spojine in ima nizek pH (Dermeche in sod., 2013). Problematika toksičnosti rastlinskih voda je bila v različnih sredozemskih državah, pridelovalkah oljčnega olja, obravnavana različno (Giovacchino, 2010). Uvedene so bile te rešitve:

- Uvedba tehnologije kontinuirane predelave oljk z uporabo 2-faznih dekanterjev, pri kateri ne nastane rastlinska voda.
- Shranjevanje in odparevanje rastlinske vode v velikih zajetjih.
- Čiščenje rastlinske vode s fizikalno-kemijskimi ali biotehnološkimi postopki.
- Ekstrakcija organskih spojin iz rastlinske vode.
- Nadzorovan neposreden nanos rastlinske vode in oljčnih tropin na kmetijske površine kot gnojilo ali sredstvo za izboljšavo tal (Giovacchino, 2010; Roig in sod., 2006). Italijanska zakonodaja (zakon št. 574 z dne 11. 11. 1996) omejuje vnos rastlinske vode in oljčnih tropin glede na tehnološki postopek predelave:
 - pri tradicionalnem postopku je dovoljena letna količina raztrosa ostankov do 50 m³/ha površine;
 - pri kontinuiranem postopku je dovoljena letna količina raztrosa ostankov do 80 m³/ha površine.

Hkrati italijanska zakonodaja predvideva še dodatna določila glede obveščanja župana o vnosu ostankov, načina vnosa, shranjevanja ostankov predelave, sankcijah in nadzoru.

2 Vplivi rastlinske vode in oljčnih tropin na okolje

Ob nenadzorovanem neposrednem nanosu velikih količin rastlinske vode in oljčnih tropin v tla lahko le zaradi vsebnosti **fenolnih spojin** negativno vplivajo na rast rastlin in razvoj mikroorganizmov. Fenolne spojine lahko zaradi toksičnega vpliva na mikroorganizme in velike sposobnosti vezave beljakovin omejujejo proces mineralizacije dušika v tleh (De Neve in sod. 2004). Poleg tega lahko pri neprimerni uporabi zavirajo tudi arbuskularno mikorizo (simbioza med glivami iz debla Glomeromycota in večino družin kopenskih rastlin) (Martin in sod., 2002) in toksično delujejo na rastline (naravni herbicid ali zaviralec kalitve semen). Poleg tega se lahko v času delovanja oljarn (oktobra in novembra) ob nenadzorovanih velikih količinah nanosa rastlinske vode in oljčnih tropin po tleh fenolne spojine izpirajo v podtalnico. Vendar so najnovejše raziskave pokazale, da se fitotoksičnost fenolnih spojin v tleh v ugodnih okoljskih pogojih za razgradnjo hitro zmanjša (Barbera in sod., 2013 in Buchmann in sod., 2015). Barbera in sod. (2013) poročajo, da je najprimernejši čas nanosa oljčnih tropin na kmetijska zemljišča takrat, ko ugodne temperaturne in vlažne razmere v tleh spodbujajo biološko aktivnost in razgradnjo fenolnih spojin. Avtorji so ugotovili, da se fenoli v tropinah, ki so nanese po zemljišču, zelo hitro razgradljivi – proces razgradnje traja od enega do treh mesecev. Vsekakor pa Piotrowska in sod. (2011) ter Dermeche in sod. (2013) poudarjajo, da je pufrska sposobnost tal za nevtralizacijo vnosa rastlinske vode in oljčnih tropin močno odvisna od značilnosti in tipa tal.

Pri neustreznih in velikih količinah nanosa na površino tal lahko tudi **emulgirane maščobe** (razpršene manjše kapljice maščob) v oljčnih tropinah ustvarijo pogoje, ki niso ugodni za ohranjanje dobre strukture tal (zlasti glinenih). Na površini tal lahko nastane nepropusten sloj, ki omeji izmenjavo plinov med tlemi in atmosfero in kroženje zraka v aktivni plasti tal, kar negativno vpliva na dihanje korenin in talnih organizmov (Nieto, 2016).

Hkrati pa primeren nanos oljčnih tropin poveča organsko snov v tleh, ki je vir rastlinskih hranil, sodeluje pri tvorbi strukturnih agregatov, poveča kationsko izmenjalno kapaciteto tal, ki se odraža v večji sorpcijski sposobnosti za vezavo rastlinskih hranil (zmanjšanje izpiranja rastlinskih hranil v podtalnico), izboljša sposobnost tal za zadrževanje vode in je vir ogljika za številne talne organizme, ki so aktiven in zelo pomemben del tal.

V sredozemskih tleh, v katerih je vsebnost organske snovi nizka, je gnojenje z oljčnimi tropinami priporočljiv ukrep za povečanje organske snovi (López - Piñeiro in sod. 2008, 2011). Na območjih, kjer v Sloveniji uspevajo oljke, so tla v prvem (zgornjem) horizontu slabo humozna (1–2 %) do srednje humozna (2–4 %) (slika 1 – Pedološka karta – Center za pedologijo in varstvo okolja). Optimalna vsebnost organske snovi oz. humusa v tleh se razlikuje glede na vrsto kulture (priporočena vrednost za tla oljčnih nasadov je vsaj 4 % organske snovi).

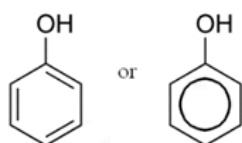
Oljčne tropine in rastlinska voda imajo rahlo **nizek pH** (4,3–5,5) in bi lahko ob neustrezni uporabi povzročile zakisanje tal. Na srečo ima velik del Slovenije tla, razvita na matičnih podlagah z veliko Ca- in Mg-kationov in karbonatov (ARSO, 2019). Pufrna sposobnost takih tal je velika, zato ni bojzani, da bi pri zmerni uporabi oljčnih tropin prišlo do zakisanja tal. Hkrati so zgornji horizonti tal na karbonatnem flišu obalnega in priobalnega območja in plitvih (skeletnih) tleh na apnencu nevtralni ali celo šibko bazični $\text{pH} > 7,2$.

3 Fenolne spojine

Fenolne spojine (naravni fenoli), ki so prisotne v rastlinski vodi in oljčnih tropinah, so sekundarni metaboliti (so eni izmed najbolj zastopanih sekundarnih metabolitov v rastlinah), zato so tudi močno zastopani mikronutrienti v človeški prehrani.

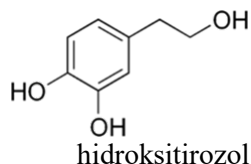
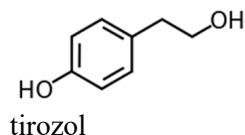
Njihovih značilnosti pa ne smemo zamenjati s t. i. »industrijskimi fenoli«, ki spadajo med enostavne fenole, so hlapni in toksični. Uporabljajo se kot osnovna surovina za vrsto industrijskih izdelkov – kot so fenol-formaldehidne smole. »Industrijski fenoli« so industrijsko proizvedeni iz nafte (premoga) in so uvrščeni med nevarne snovi za tla. Za hlapne »industrijske fenole« so predpisane mejne, opozorilne in kritične vrednosti v Uredbi o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Uradni list RS, št. 68/96).

Osnovna kemijska značilnost fenolnih spojin (»industrijskih« in »naravnih« fenolov) je aromatski obroč in nanj vezana ena ali več hidroksilnih skupin (slika 1).



Slika 1: Aromatski obroč z eno hidroksilno skupino.

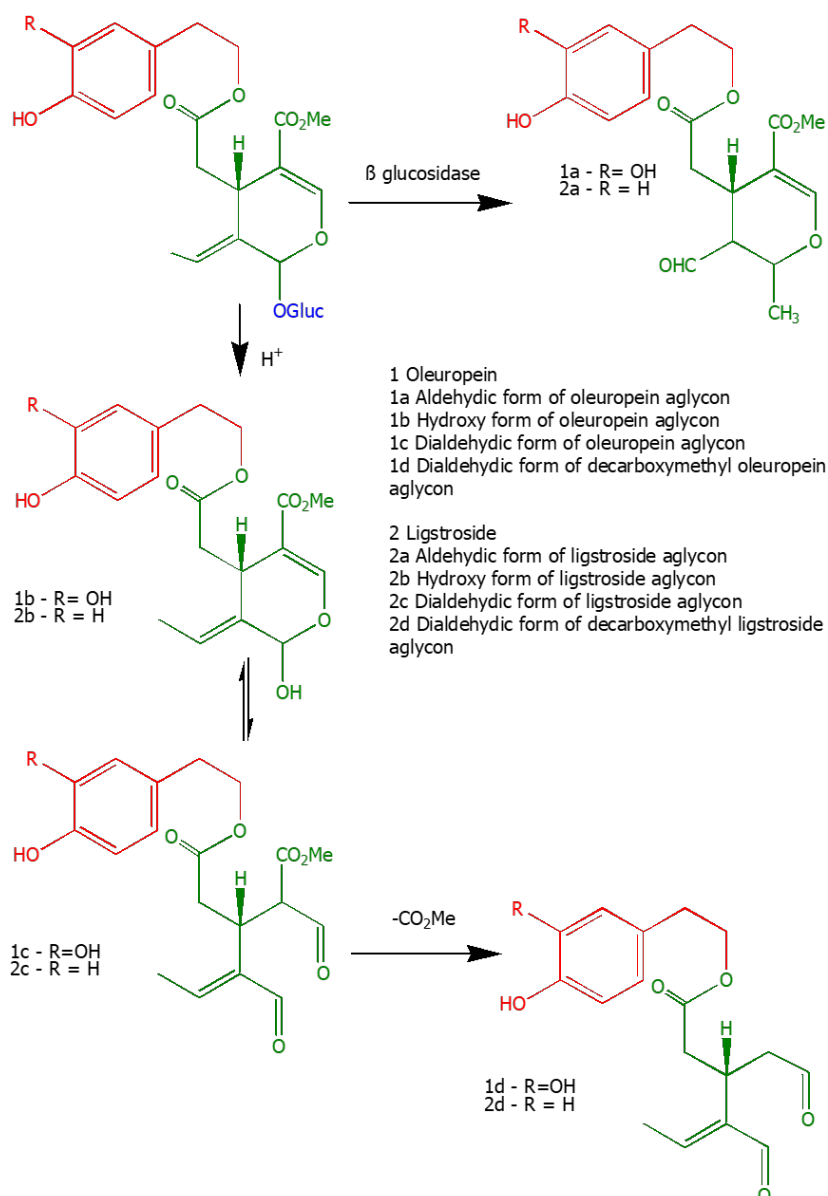
Industrijske fenolne spojine so enostavni fenoli z enim aromatskim obročem in nanj vezano eno ali več hidroksilnih skupin. Fenolne spojine, ki vsebujejo dva in več aromatskih obročev s hidroksilnimi skupinami, se uvrščajo v skupino polifenolov. Izraz polifenoli se je udomačil predvsem za rastlinske metabolite. Tukaj prihaja do zmede na področju izrazoslovja, saj so med rastlinskimi polifenoli tudi nekatere spojine, ki imajo samo en aromatski obroč in eno hidroksilno skupino (na primer tirozol). Kljub temu jih uvrščamo k polifenolom, saj nastanejo po podobnih metabolnih poteh in imajo podobne značilnosti ter vlogo v rastlinah. Številni rastlinski polifenoli so učinkoviti antioksidanti.



Slika 2: Fenolne spojine, ki imajo samo en aromatski obroč in eno hidroksilno skupino na aromatskem obroču (tirozol) oziroma dve (hidroksitirozol).

V rastlinskem svetu je poleg enostavnih polifenolov, kot sta tirozol in hidroksitirozol, še veliko kompleksnih fenolnih spojin, ki so zgrajene iz več enot osnovnega gradnika (fenola) in drugih bioloških gradnikov, kot so npr. sladkorji ali karboksilne kisline. To so po navadi zelo kompleksne spojine, ki so zelo odvisne od vrste rastlin, zato njihove kemijske in toksične značilnosti niso primerljive ne med seboj ne z industrijsko pridobljenimi fenolnimi spojinami.

V oljkah prevladujejo sekoiridoidne fenolne spojine, ki jih najdemo izključno v družini 'Oleaceae'. V skupino sekoiridoidov se uvrščajo sekoiridoidni glukozidi (npr. oleuropein, ligstrozid) in njihovi pretvorbeni produkti, kot sta tirozol in hidroksitirozol. Večinoma so sekoiridoidni glukozidi v izvorni oziroma pretvorbeni obliki (aglikoni) prisotni v vseh stopnjah predelave oljk – torej tudi v olju, tropinah in vodah iz oljarn – pač glede na stopnjo predelave in stopnjo kemijske pretvorbe.



Slika 3: Sekoiridoidne fenolne spojine (oleuropein, ligstrozid).

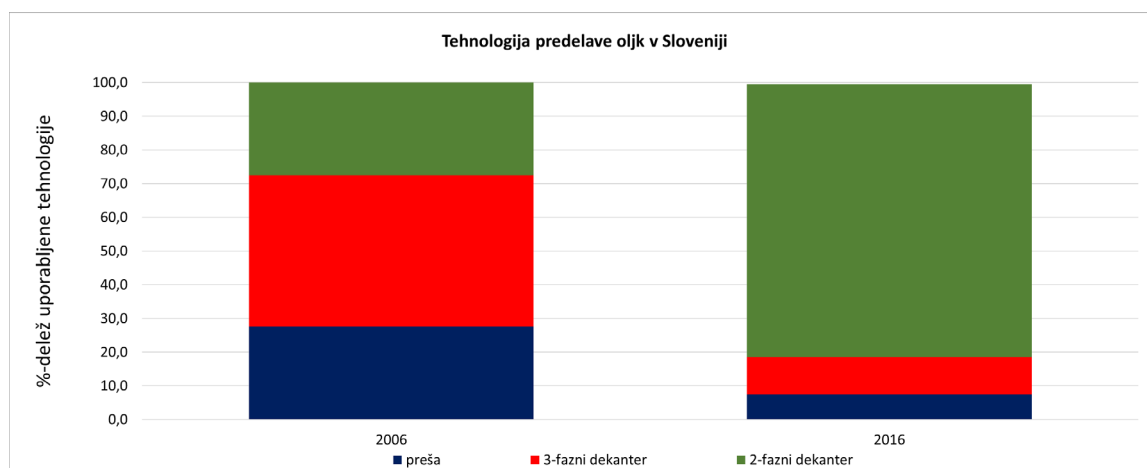
Ob sekoiridoidih je v oljkah in zato tudi v oljčnih tropinah še nekaj drugih fenolnih spojin, kot so flavonoidi (apigenin, luteolin in njuni glukozidi) ter verbaskozid in lignani. Zaradi vseh opisanih značilnosti se je na področju raziskav, ki se ukvarjajo z oljkami, udomačil izraz biofenoli (poenostavljeno za oljne bioaktivne fenolne spojine). V skladu s splošno terminologijo se lahko uporabljajo različni izrazi, npr. oljni biofenoli, biofenoli, oljni polifenoli, polifenoli in fenolne spojine.

Polifenoli (biofenoli) v oljčnem olju in oljčnih tropinah niso zdravju nevarne snovi, saj je zanje znanstveno ugotovljeno, da ugodno vplivajo na zdravje, zato se za oljno olje na podlagi uredbe Komisije (EU) št. 432/2012 o seznamu dovoljenih zdravstvenih trditev na živilih, razen trditev, ki se nanašajo na zmanjšanje tveganja za nastanek bolezni ter na razvoj in zdravje otrok, lahko uporablja zdravstvena trditev:

»Polifenoli v oljčnem olju prispevajo k zaščiti lipidov v krvi pred oksidativnim stresom. Trditev se lahko uporablja le za oljno olje, ki vsebuje vsaj 5 mg hidroksitirozola in njegovih derivatov (npr. kompleks oleuropeina in tirozol) na 20 g oljčnega olja. Za navedbo trditve je potrošnike treba obvestiti, da se koristni učinek doseže z dnevnim vnosom 20 g oljčnega olja.«

DS.1.2 Popis stanja ostankov v slovenskem oljkarstvu

Leta 2005 smo v Sloveniji imeli skupno 31 oljarn, od tega je bilo 20 takih, ki še niso bile registrirane v registru obratov, ki ga vodi Uprava Republike Slovenije za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin (Bandelj in sod. 2008). Danes je v register obratov vpisanih 39 oljarn, ocenjujemo pa, da jih je v slovenskem prostoru veliko več (okoli 60 oljarn). V okviru projekta CRP V4-1621 je bilo popisanih 27 oljarn. Ugotovljeno je bilo, da se v Sloveniji za predelavo oljk pretežno uporablja tehnologija kontinuirane predelave z uporabo 2-faznih dekanterjev (81 %) (slika 4).



Slika 4: Tehnologije predelave oljk, uporabljene v Sloveniji.

V Sloveniji imamo po podatkih iz dejanske rabe (2019) 2.356 ha oljčnikov, v katerih se po ocenah pridelava od 1.944 do 6.649 ton oljk. Pridelana količina oljk močno niha med posameznimi leti, kar vpliva tudi na količino ostankov proizvodnje oljk. V preglednici 2 so navedene ocene ostankov proizvodnje oljk, saj je v register kmetijskih gospodarstev vpisanih le 60 % oljkarjev, registra ostankov proizvodnje oljk pa v Sloveniji nimamo.

Ocenjena količina dobre letine je 1.000 t olja in okoli 7.000 ton oljk. Če bi v Sloveniji imeli samo tehnologijo pridelave 3-faznih dekanterjev, bi po podatkih (Zrnčević, 2018) iz 7.000 ton oljk pridelali 1.000 t olja, 7.000 m³ rastlinske oz. odpadne vode in okoli 3.000 ton suhih tropin, kar bi skupaj znašalo 10.000 m³ ostankov proizvodnje oljk. Če bi na celotno površino oljčnikov 2.356 ha neposredno nanесли 10.000 m³ ostankov proizvodnje oljk, bi na površino maksimalno nanесли 4,3 m³ ostankov proizvodnje oljk/ha, kar je znatno manj od dovoljene letne količine raztrosa ostankov, priporočene v italijanski zakonodaji za kontinuirani postopek predelave (do 80 m³/ha površine). Vendarle pa je treba poudariti, da je samo 11 % oljk v Sloveniji predelanih s tehnologijo kontinuirane predelave z uporabo 3-faznih dekanterjev.

Preglednica 2: Ocenjena količina ostankov proizvodnje oljk v slovenski Istri.

Parameter	dobra letina	povprečna letina	slaba letina
površina oljčnikov – dejanska raba (ha)	2.356	2.356	2.356
število dreves (200/ha)	471.200	471.200	471.200
ocena količine oljk (t)	6.649	3.989	1.944
količina olja (t)	1.000	600	300
količina oljčnih tropin (t) – skupaj (m³)	4.500	2.699	1.315
preša (m ³)	324	194	95
2-fazni dekanter (m ³)	3.716	2.229	1.086
3-fazni dekanter (m ³)	460	276	134
količina rastlinske vode in vode, dodane v različnih fazah predelave (t) – skupaj (m³)	717	430	209
preša (m ³)	279	167	81
2-fazni dekanter (m ³)	/	/	/
3-fazni dekanter (m ³)	438	263	128

DS.1.3 Spremljanje uporabe tropin in rastlinske vode na kmetijskih zemljiščih

V okviru projekta CRP V4-1621 so bile ugotovljene značilnosti oljčnih tropin pri različnih tehnologijah predelave oljk (preglednica 3). Značilnosti oljčnih tropin smo spremljali v letih 2016 in 2017. Skupno je bilo odvzeto 24 vzorcev (štirje vzorci – preša, osem vzorcev – 3-fazni dekanter, 14 vzorcev – 2-fazni dekanter). Oljčne tropine, pridobljene v sistemu predelave z 2-faznim dekanterjem, imajo v primerjavi z oljčnimi tropinami iz sistema predelave s prešami (tradicionalni sistem) in 3-faznim dekanterjem drugačne značilnosti.

Preglednica 3: Primerjalna preglednica značilnosti oljčnih tropin pri različnih tehnologijah predelave oljk v slovenski Istri za letnika 2016 in 2017.

Parameter (na suho snov)	preša	2-fazni dekanter	3-fazni dekanter
vsebnost vlage (% na svež vzorec)	32,5	68,7	55,7
skupni N (g/kg)	11,9	10,2	8,7
P (g/kg)	0,6	1,4	1,1
K (g/kg)	5,5	17,8	12,3
Ca (g/kg)	1,7	2,2	1,94
Fe (mg/kg)	107,89	168,0	132,50
Cu (mg/kg)	14,95	14,5	13,75
beljakovine (g/kg)	74,5	62,1	54,6
maščobe (g/kg)	144,5	155,7	152,7

Ker se danes v slovenski Istri pretežno uporablja tehnologija kontinuirane predelave z uporabo 2-faznih dekanterjev (81-odstotni delež) (slika 4), smo v projektu CRP V4-1621 proučili uporabo tropin, pridobljenih z novo tehnologijo predelave z 2-faznimi dekanterji.

Oljčne tropine iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem (preglednica 4), ki je prevladujoča tehnologija predelave oljk v Sloveniji, so bogate s kalijem (K: 4,79–23,72 g/kg suhe snovi), vendar zelo slabo založene s kalcijem (Ca: 1,41–5,16 g/kg suhe snovi) in fosforjem (P: 0,41–2,02 g/kg suhe snovi). V ostankih predelave oljk z 2-faznimi dekanterji je 7,5 od 14,4 g/kg suhe snovi skupnega dušika (N), ki pa je pretežno v organski obliki, zato rastlinam ni dostopen. Poleg tega je v oljčnih tropinah v primerjavi

z drugimi gnojili zelo malo dušika. Zaradi močne imobilizacije dušika v tropinah, pridobljenih s tehnologijo predelave z uporabo 2-faznih dekanterjev, ostanki predelave oljk niso primerni za gnojenje kmetijskih rastlin, ki potrebujejo za razvoj visoko količino dušika v prvih tednih rasti. Gnojenje z oljčnimi tropinami je zato priporočljivo v trajnih nasadih, kot so oljčniki in vinogradi (De Neve in sod. 2004). Glavno mikrohranilo v oljčnih tropinah je železo (Fe: 60,3–992,5 mg/kg suhe snovi). Druga mikrohranila, kot so baker (Cu), mangan (Mn) in cink (Zn), so v oljčnih tropinah prisotna v zelo majhnih količinah.

Preglednica 4: Značilnosti oljčnih tropin pri sistemu predelave z 2-faznim dekanterjem v slovenski Istri za letnika 2016 in 2017.

Parameter (na suho snov)	povprečje	interval	KV (%)*
vsebnost vlage (% na svež vzorec)	68,7	52,06–77,32	13,26
skupni N (g/kg)	10,2	7,52–14,43	22,23
P (g/kg)	1,4	0,41–2,02	41,56
K (g/kg)	17,8	4,79–23,72	44,46
Ca (g/kg)	2,2	1,41–5,16	42,62
Fe (mg/kg)	168,0	60,3–992,51	142,31
Cu (mg/kg)	14,5	8,20–21,39	22,44
beljakovine (g/kg)	62,1	47,00–90,20	21,01
maščobe (g/kg)	155,7	105,50–229,11	24,67

*KV% – koeficient variabilnosti

Sestava in vsebnost fenolnih spojin v oljčnih tropinah sta odvisni od sorte oljk, porekla, podnebnih razmer, zorenja plodov, tehnologije pridelave in postopka predelave oljk (Obied in sod., 2008). V okviru projekta CRP V4-1621 je bila ugotovljena fenolna sestava pri različnih tehnologijah predelave oljk (preglednica 5). Skupno je bilo odvzeto 24 vzorcev (štirje vzorci – preša, osem vzorcev – 3-fazni dekanter, 14 vzorcev – 2-fazni dekanter).

Preglednica 5: Primerjalna preglednica značilnosti oljčnih tropin pri različnih tehnologijah predelave oljk v slovenski Istri za letnika 2016 in 2017 (CS – spojine, potrjene na osnovi standarda, MS – spojine, potrjene na osnovi masnega spektra).

Parameter (na suho snov)			Povprečje (mg/kg)		
			preša	2-fazni dekanter	3-fazni dekanter
Asignirane (znane) fenolne spojine)	fenilni alkoholi	hidroksitirozol glukozid (MS)	855	438	557
		hidroksitirozol (CS, MS)	5.686	3.203	2.596
	feniletanoidni glukozidi	tirozol glukozid (MS)	751	314	442
		tirozol (CS, MS)	751	532	574
		verbaskozid (CS, MS)	1.264	2.434	1.510
		flavonoidi			
		luteolin-7-O- glukozid (CS, MS)	249	338	329
		luteolin (CS, MS)	835	710	536
		apigenin (CS, MS)	105	107	86
	Skupne assignirane (znane) fenolne spojine			10.077	6.769
Skupne neassignirane (neidentificirane) fenolne spojine, izražene kot tirozol			7.271	12.523	10.917
Skupne fenolne spojine			17.349	17.600	17.271

V okviru projekta CRP V4-1621 je bilo ugotovljeno, da v oljčnih tropinah iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem med fenolnimi spojinami prevladujeta hidroksitirozol (148–8505 mg/kg) in verbaskozid (preglednica 5). V oljčnih tropinah iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem so bile določene tudi druge fenolne spojine, kot so hidroksitirozol glukozid, tirozol glukozid, tirozol, luteolin-7-O-glukozid, luteolin in apigenin, vendar v znatno manjših koncentracijah. Rezultati raziskave so delno primerljivi s številnimi raziskavami (Japón-Luján & Luque de Castro, 2007; Rubio-Senent in sod., 2012), v katerih avtorji ugotavljajo, da je hidroksitirozol (1624 in 2872 mg/kg) glavna fenolna spojina v oljčnih tropinah. Oljčne tropine iz slovenske Istre se v primerjavi z oljčnimi tropinami iz drugih raziskav razlikujejo po višji vsebnosti verbaskozida, kar je najverjetneje izhaja iz stopnje (ne)zrelosti predelanih oljk in različne vsebnosti rastlinske vode v oljčnih tropinah.

V okviru raziskave CRP V4-1621 smo preverili tudi vsebnost fenolnih spojin v tleh po aplikaciji oljčnih tropin iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem na kmetijsko zemljišče. Upošteva se izsledke (Blagodatskaya & Kuzaykov, 2008), da se kemijska in mikrobiološka sestava tal najbolj spremenita v prvem tednu po nanosu sredstev za izboljšavo tal, so bile fenolne spojine v tleh določene teden dni po aplikaciji oljčnih tropin. Ugotovljeno je bilo, da je bila skupna vsebnost fenolnih spojin v oljčnih tropinah znatno večja (5.409–36.073 mg/kg) kot v tleh, na katera je bilo dodano 80 m³ oljčnih tropin iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem (156–767 mg/kg) (preglednica 6). Razlike so bile opazne tudi v sestavi fenolnih spojin. V oljčnih tropinah iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem sta med fenolnimi spojinami prevladovala hidroksitirozol in verbaskozid, medtem ko sta v tleh z nanosom oljčnih tropin prevladovala apigenin in hidroksitirozol. Nastale razlike najverjetneje izhajajo iz okoljskih pogojev v tleh (pH tal, temperatura, kisik ...), ki vplivajo na razgradnjo fenolnih spojin. Sinsabaugh (2010) je ugotovil, da obstaja pozitivna korelacija med aktivnostjo zunajceličnih encimov gliv (e. g. Basidiomycetes in Ascomycetes) in bakterij (npr. Pseudomonas), ki razgrajujejo fenolne spojine, in pH-vrednostjo tal.

Preglednica 6: Primerjalna preglednica vsebnosti fenolnih snovi v oljčnih tropinah iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem in tleh, na katera je bilo dodano 80 m³ oljčnih tropin iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem (CS – potrjene na osnovi standarda, MS – potrjene na osnovi masnega spektra).

		Oljčne tropine 2-fazni dekanter			Tla z dodanimi oljčnimi tropinami (80 m ³ /ha)				
			povprečje (mg/kg)	interval (mg/kg)	KV (%)*	povprečje (mg/kg)	interval (mg/kg)	KV (%)*	
Asignirane (znane) fenolne spojine)	fenilni alkoholi	hidroksitirozol glukozid (MS)	438	135–973	0,72	0,00	0,00	0,00	
		hidroksitirozol (CS, MS)	3.203	148–8.505	0,87	1,25	0,00–4,00	1,51	
		tirozol glukozid (MS)	314	205–466	0,36	0,75	0,00–2,00	1,28	
		tirozol (CS, MS)	532	176–963	0,59	0,25	0,00–1,00	2,00	
	feniletanoidni glukozidi	verbaskozid (CS, MS)	2.434	84–8.370	1,16	0,25	0,00–1,00	2,00	
	flavonoidi	luteolin-7-O-glu kozid (CS, MS)	338	93–901	0,73	0,00	0,00	0,00	
		luteolin (CS, MS)	710	310–1.368	0,48	0,00	0,00	0,00	
		apigenin (CS, MS)	107	55–184	0,36	3,25	3,00–4,00	0,15	
	Skupne asignirane (znane) fenolne spojine			6.769	1.388–12.399	0,68	5,50	3,00–8,00	0,43
	Skupne neasignirane (neidentificirane) fenolne spojine, izražene kot tirozol			12.523	3.327–25.393	0,52	404	148–760	0,66
Skupne fenolne spojine			17.600	5.409–36.073	0,61	459	156–767	0,66	

*KV% – koeficient variabilnosti

Tla z dodanimi oljčnimi tropinami se uvrščajo med rjava evtrična tla, za katera je značilna velika nasičenost z bazičnimi kationi (K⁺, Ca²⁺ in Mg²⁺). Ntougias in sod. (2006) navajajo, da dodajanje Ca(OH)₂ oljčnim tropinam iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem ugodno vpliva na razvoj bakterij, ki lahko za vir energije in ogljika (izgradnja celične biomase) učinkovito uporabijo fenolne spojine. Glede na to, da imajo na razgradnjo organskih snovi v tleh velik vpliv tudi podnebne razmere, kot so temperatura, segrevanje in suša, je pri neposrednem nanosu oljčnih tropin na kmetijsko površino treba upoštevati tudi značilnosti tal in okoljske parametre.

Predhodne raziskave so pokazale, da je zaradi nizke vsebnosti dušika v oljčnih tropinah iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem pri nanosu teh na kmetijsko površino treba dodati N.

Tako smo v okviru projekta CRP V4-1621 izvedli poljski poskus, kjer smo na štirih lokacijah v slovenski Istri v treh različnih datumih (21. marec 2017, 9. november 2017 in 30. marec 2018) spremljali vpliv dodanih oljčnih tropin na pH-vrednost, organski ogljik (C), skupni dušik (N), razmerje ogljika in dušika (C/N) in kalij (K).

Na podlagi rezultatov je bilo ugotovljeno, da uporaba oljčnih tropin iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem vpliva na značilnosti tal. Prve razlike med tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom (300 kg/ha – NPK 15 : 15 : 15) (KONTROLA), in tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom (300 kg/ha – NPK 15 : 15 : 15) in oljčnimi tropinami iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem (80 m³/ha) (TROPINE + NPK) smo opazili po drugi sezoni nanosa (30. marec 2018), in sicer v vsebnosti organskega ogljika (C) ter razmerja med ogljikom in dušikom (C/N) (preglednica 7). Pridobljeni rezultati so v skladu z rezultati predhodne raziskave, ki je pokazala, da aplikacija oljčnih tropin iz

sistema predelave z 2-faznim dekanterjem na kmetijskih površinah poveča vsebnost organske snovi in tako ugodno vpliva na strukturo tal ter izboljša sposobnost za zadrževanje vode v njih (Lopez-Piñeiro in sod., 2008; Cucci in sod., 2008).

Preglednica 7: Primerjava različnih parametrov med tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom (300 kg/ha – NPK 15 : 15 : 15) in dodanimi oljčnimi tropinami iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem (80 m³/ha) (TROPINE + NPK), in tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom (300 kg/ha – NPK 15 : 15 : 15) (KONTROLA).

	TROPINE + NPK	KONTROLA
skupni C (%)		
21. 3. 2017	3,1 ± 0,84 ^{ab}	2,0 ± 0,42 ^c
9. 11. 2017	2,4 ± 0,42 ^{bc}	2,3 ± 0,39 ^{bc}
30. 3. 2018	3,6 ± 1,02 ^a	2,5 ± 0,26 ^{bc}
skupni N (%)		
21. 3. 2017	0,29 ± 0,12 ^a	0,19 ± 0,04 ^a
9. 11. 2017	0,23 ± 0,04 ^a	0,21 ± 0,04 ^a
30. 3. 2018	0,28 ± 0,09 ^a	0,23 ± 0,02 ^a
C/N		
21. 3. 2017	11,5 ± 1,73 ^{ab}	11,0 ± 0,82 b
9. 11. 2017	10,7 ± 0,50 ^b	10,7 ± 0,96 b
30. 3. 2018	13,0 ± 0,82 ^a	10,2 ± 1,26 b
pH		
21. 3. 2017	7,3 ± 0,1 ^a	7,4 ± 0,05 ^a
9. 11. 2017	7,1 ± 0,19 ^b	7,3 ± 0,06 ^{ab}
30. 3. 2018	7,1 ± 0,07 ^b	7,2 ± 0,13 ^b
K₂O₅		
21. 3. 2017	61,0 ± 25,06 ^a	30,1 ± 5,78 ^b
9. 11. 2017	49,1 ± 24,11 ^{ab}	26,8 ± 3,33 ^b
30. 3. 2018	72,9 ± 23,96 ^a	33,5 ± 13,92 ^b

*Vrednosti z isto črko znotraj parametra tal se statistično ne razlikujejo (P > 0,05).

V tleh, gnojenih z mineralnim gnojilom, in v tleh, gnojenih z mineralnim gnojilom in oljčnimi tropinami iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem, nismo zaznali razlik v vsebnosti skupnega dušika.

Rezultati kažejo nizko vsebnost dušika v oljčnih tropinah iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem. Lopez-Piñeiro in sod. (2008) sicer navajajo, da se je skupna vsebnost dušika v tleh po dveh letih nanosa oljčnih tropin iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem linearno povečala, Gómez-Muñoz in sod. (2011) pa ugotavljajo, da je organski dušik močno imobiliziran v tropinah, zato v vodi ni topen in rastlinam ni dostopen.

Pomembne razlike med tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom, in tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom in oljčnimi tropinami iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem, so se pokazale pri primerjavi vsebnosti kalija (kot K₂O₅).

Vrednost pH tal se je v času poskusa nekoliko povečala, vendar to ni bila posledica nanosa oljčnih tropin iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem na kmetijske površine, saj ni bilo mogoče opaziti statistično značilnih razlik med tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom, in tlemi, gnojenimi z mineralnim gnojilom in oljčnimi tropinami iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem.

Literatura

- Albuquerque, J. A., González, J., García, D., Cegarra, J., 2004: Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource technology*. 91(2): 195–200.
- Barbera, A. C., Maucieria, C., Cavallarob, V., Ioppoloa, A., Spagna, G., 2013: Effects of spreading olive mill wastewater on soil properties and crops, a review. *Agricultural Water Management*. 119: 43–53.
- Blagodatskaya, E., Kuzaykov, Y., 2008: Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review. *Biology and Fertility of Soils*. 45(2): 115–131.
- Buchmann, C., Felten, A., Peikert, B., Muñoz, K., Bandow, N., Dag, A., Schaumann, G. E., 2015: Development of phytotoxicity and composition of a soil treated with olive mill wastewater (OMW): An incubation study. *Plant Soil*. 386 (1): 99–112.
- Cucci, G., Lacolla, G., Caranfa, L., 2008: Improvement of soil properties by application of olive oil waste. *Agronomy for Sustainable Devevelopment*. 28(4): 521–526.
- De Neve, S., Sáez, S. G., Chaves Daguilar, B., Sleutel, S., Hofman, G., 2004: Manipulating N mineralization from high N crop residues using on- and off-farm organic materials. *Soil Biology and Biochemistry*. 36: 127–134.
- Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., Michaud, P., 2013: Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry* 48: 1532–1552.
- Di Giovacchino, 2010: Tecnologie di lavorazione delle olive in frantoio. Rese di estrazione e qualità dell'olio. *Tecniche nuove*. 272.
- Japón-Luján, R., Luque de Castro, M. D., 2007: Static-dynamic superheated liquid extraction of hydroxytyrosol and other biophenols from alperujo (a semisolid residue of the olive oil industry). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 3629–3634.
- López-Piñeiro, A., Albarrán, A., Rato Nunes, J. M., Barreto, C., 2008: Short and medium-term effects of two- phase olive mill waste application on olive grove production and soil properties under semiarid Mediterranean conditions. *Bioresource Technology*. 99: 7982–7987.
- López-Piñeiro, A., Albarrán, A., Rato Nunes, J. M., Peña, D., Cabrera, D., 2011: Cumulative and residual effects of two-phase olive mill waste on olive grove production and soil properties. *Soil Science Society of America Journal*. 75: 1061–1069.
- Martin, J., Sampedro, I., Garcia-Romera, I., Garcia-Garrido, J. M., Ocampo, J. A., 2002: Arbuscular mycorrhizal colonization and growth of soybean (*Glycine max*) and lettuce (*Lactuca sativa*) and phytotoxic effects of olive mill residues *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 1769–1775.
- Nieto, L. M., 2016: Universidad de Jaen. La industria del aceite de oliva y el medio ambiente.
- Obied, H. K., Bedgood, D., Mailer, R., Prenzler, P. D., Robards, K., 2008: Impact of cultivar, harvesting time, and seasonal variation on the content of biophenols in olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 8851–8858.
- Piotrowska, A., Rao, M. A., Scotti, R., Gianfreda, L., 2011: Changes in soil chemical and biochemical properties following amendment with crude and dephenolized olive mill waste (OMW). *Geoderma* 161: 8–1.
- Roig, A., Cayuela, M. L., Sánchez-Monedero, M. A., 2006: An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*. 26: 960–969.
- Rubio-Senent, F., Rodríguez-Gutiérrez, G., Lama-Muñoz, A., Fernández-Bolaños, J., 2012: New phenolic compounds hydrothermally extracted from the olive oil byproduct alperujo and their antioxidative activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 1175–1186.
- Sinsabaugh, R. L., 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42 (3): 391–404.
- Thompson, R. B., Nogales, R., 1999: Nitrogen and carbon mineralization in soil of vermi-composted and unprocessed dry olive cake (“orujo seco”) produced from two-stage centrifugation for olive oil extraction. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 34: 917–928.
- Zrnčević, S., 2018: Valorizacija otpadnih voda prerade maslina. *Hrvatske vode* 26 (104) 75–90.

DS2 PREHRANSKA VREDNOST IN KRMLJENJE ŽIVALI

DS2.1 Pregled in sinteza do zdaj znanih podatkov in raziskav

Če želimo oljčne liste in tropine uporabljati kot krmila v živalski proizvodnji, moramo natančno poznati njihovo kemijsko sestavo, prehransko vrednost in njihov vpliv na izkoristljivost drugih hranil pri različnih živalskih vrstah. Avtorji do zdaj opravljenih raziskav poročajo o visoki variabilnosti sestave hranljivih snovi v različnih stanskih proizvodih pridelave in predelave oljk.

Listi in tropine vsebujejo tudi antinutritivne snovi (lignin, tanini, baker, polifenoli – kadar so v prevelikih količinah), zato jih v krmne obroke lahko dodajamo le v omejenih količinah. Raziskovalci priporočajo, naj se v prehrani prežvekovalcev uporabljajo sveži oljčni listi, oljčne tropine pa naj se konzervirajo, silirajo ali posušijo in peletirajo skupaj z drugimi komponentami.

Najbolj raziskana je njihova uporaba v prehrani prežvekovalcev (Molina-Alcaide in sod., 2008), kot vir vlaknine se uporabljajo v prehrani kuncev (De Blas in sod., 2015). Medtem ko višja vsebnost maščob v oljčnih tropinah omejuje njihovo vključevanje v krmne obroke prežvekovalcev, jih lahko kot vir energije izkoristimo v prehrani prašičev in piščancev (Joven in sod., 2008; Al-Harhi, 2017). V tem primeru omejitev za vključevanje v obrok predstavlja visoka vsebnost slabo razgradljivih strukturnih ogljikovih hidratov.

Pri vključevanju oljčnih tropin v obrok prežvekovalcev (Molina-Alcaide, 2008) moramo biti pozorni tudi na vsebnost in kakovost (oksidacija) maščob v krmnem obroku, ki negativno vpliva na mikrobno populacijo v vampu. Paziti moramo tudi na vsebnost bakra, predvsem v oljčnih listih, ki lahko omejuje delež tega stranskega produkta v obroku prežvekovalcev. Raziskovalci poročajo tudi o ugodnih učinkih na maščobnokislinsko sestavo mleka, saj se poveča delež enkrat nenasičenih maščobnih kislin in zmanjša delež nasičenih maščobnih kislin. Paiva-Martins in sod. (2009) so proučevali vpliv dodatka oljčnih listov (5 ali 10 %) v krmo pri rastočih prašičih in ugotovili, da dodatek oljčnih listov v primerjavi s komercialno krmno mešanico zniža dnevne priraste in zauživanje krme, predvsem zaradi višje vsebnosti vlaknine, sočasno pa se izboljša tudi kakovost mesa. Pri oljčnih tropinah obstaja omejitev za vključevanje v obrok pri prašičih zaradi visoke vsebnosti lignina. V obrok prašičev je mogoče vključiti do 100 g tropin/kg krme in ob tem celo nekoliko izboljšati nekatere proizvodne značilnosti (Joven in sod., 2004). Ugotovili so tudi ugodne učinke na kakovost klavnih trupov in maščobnokislinsko sestavo maščob. Raziskave tudi kažejo, da je oljčne pogače mogoče vključiti v obroke rastočih piščancev do 7,5 % (Abo Omar in sod., 2005), pri višjem deležu (10 %) se zmanjša prirast, uživanje in konverzija krme (Rabayaa in sod., 2001).

DS2.2 Analiza in meritve hranilne vrednosti oljčnih listov in tropin

DS2.2.1 Analiza osnovnih parametrov hranilne vrednosti

Zbiranje vzorcev in kemijske analize glavnih lastnosti oljčnih tropin glede na prehransko vrednost za krmljenje živali so potekale v letih 2016 in 2017. Skupaj smo zbrali in analizirali 39 vzorcev tropin iz različnih sistemov predelave oljk. Z weendsko analizo smo določili osnovno sestavo (suha snov – SS, surove beljakovine – SB, surove maščobe – SM, surovi pepel – SP, surova vlaknina – SV, v nevtralnem detergentu netopna vlaknina – NDV, v kislem detergentu netopna vlaknina – KDV), vsebnosti izbranih mineralov z atomsko absorpcijsko spektrometrijo (AAS) in bruto energijo z uporabo kalorimetrije (preglednica 8). Rezultati so pokazali, da vsebnost sušine v zbranih vzorcih oljčnih tropin zelo variira in je odvisna od tehnologije predelave. Oljčne tropine so v kilogramu suhe snovi v povprečju vsebovale $60,3 \pm 13,6$ g surovih beljakovin. Oljčne tropine po stiskanju olja v Sloveniji v nasprotju s tropinami po stiskanju olja iz nekaterih drugih držav vsebujejo visok delež surovih maščob (161 ± 40 g surovih maščob, ker slovenski oljarji tropin ne ekstrahirajo z organskimi topili. V tem primeru so maščobe najpomembnejši vir energije za živali. Olje vsebuje visok delež oleinske kisline, kar lahko ugodno vpliva

tudi na prehransko vrednost in tehnološko kakovost živalskih proizvodov. Vsebnost surove vlaknine je znašala 407 ± 101 g/kg SS. Tropine so v kg sušine v povprečju vsebovale $37,6 \pm 23$ g surovega pepela.

Podatkov o vsebnosti mineralov v oljčnih tropinah je zelo malo, tudi tu avtorji poročajo o visoki variabilnosti (Heuze in sod., 2015; Al-Rabadi, 2017), kar smo potrdili tudi v svoji raziskavi, v kateri je povprečni koeficient variabilnosti (KV) za vsebnost mineralov znašal 32 %. Povprečne vsebnosti fosforja v tropinah iz slovenskih oljčnikov so znašale 1,30 g/kg SS in so nekoliko višje od vsebnosti v dostopni literaturi (0,6–0,8 g/kg). V nasprotju z vsebnostjo fosforja smo v tropinah izmerili nižje vsebnosti kalcija (povprečje 2,07 g/kg SS), kar je manj kot za oljčne tropine navajajo drugi avtorji (3,0–7,3 g/kg SS). V najvišjih koncentracijah je bil v oljčnih tropinah prisoten kalij ($18,4 \pm 7,3$ g/kg SS), ki ga tropine iz slovenskih oljčnikov vsebujejo več, kot je navedeno v rezultatih drugih avtorjev.

Preglednica 8: Povprečna sestava ter vsebnost nekaterih mineralov in bruto energije v oljčnih tropinah iz slovenskih oljčnikov v letih 2016 (N = 19) in 2017 (N = 20).

	Povprečna vsebnost	STD ¹	RSD ¹	MIN ¹	MAX ¹
Sestava					
suha snov (SS), g/kg	378	137,2	36	214	736
surove beljakovine, g/kg SS	60,3	13,6	23	33,7	99,6
surove maščobe, g/kg SS	161,1	40,4	25	105,5	264,5
surova vlaknina, g/kg SS	407,1	100,9	25	253,4	574,5
NDV ² , g/kg SS	545,3	99,5	18	380,5	748,8
KDV ² , g/kg SS	403,5	76,3	19	281,4	574,0
BDI ² , g/kg SS	336,3	63,9	19	166,4	454,1
surovi pepel, g/kg SS	37,6	23,0	61	7,2	145,0
Minerali					
fosfor (P), g/kg SS	1,30	0,63	49	0,29	2,94
kalcij (Ca), g/kg SS	2,07	0,63	30	1,41	5,16
železo (Fe), mg/kg SS	118	50	42	60	262
baker (Cu), mg/kg SS	15,2	3,6	24	8,2	27,2
kalij (K), mg/kg SS	18,4	7,3	40	4,8	26,6
Bruto energija					
bruto energija, MJ/kg SS	23,1	1,0	4,5	19,8	25,6

¹ STD – standardni odklon, RSD – relativni standardni odklon (%), MIN – minimum, MAX – maksimum.

² NDV – v nevtralnem detergentu netopna vlaknina, KDV – v kislem detergentu netopna vlaknina, BDI – brezdušični izvleček.

Ugotovimo lahko, da je sestava hranilnih snovi in mineralov oljčnih tropin iz slovenskih oljčnikov variabilna, za uporabo kot krmilo, predvsem v reji visokoproduktivnih živali, bodo potrebne periodične analize. Pred uporabo je treba tropine posušiti, kar pomeni dodaten strošek. Ker je sezona obiranja oljk in stiskanja olja kratka, bo treba tropine, če bi jih v krmne obroke vključevati vse leto, konzervirati. Poleg vlaknine vsebujejo oljčne tropine tudi relativno visok delež maščob, ki se lahko v prehrani neprežvekovalcev koristno uporabijo kot vir energije.

DS2.2.2 Meritve prebavljivosti oz. presnovljivosti energije in hranil pri prašičih in perutnini

V okviru projekta smo izvedli bilančna poskusa na pitovnih piščancih (N = 36) in pujskih (N = 24), ki smo jih individualno vohlevili v ustrezne metabolne kletke, ki omogočajo spremljanje uživanja krme in zbiranje izločkov pri piščancih ter ločeno zbiranje blata in urina pri prašičih.

1. Pitovni piščanci

Pitovne piščance provenience ross 308 smo pri starosti 21 dni (ko so prebavila že bolj razvita) individualno vohlevili v metabolne kletke in jih razdelili v pet skupin: kontrolno skupino (KONT), ki ni dobivala dodatka ter po dve skupini z dodatkom oljčnih listov (OLi) ali tropin (OTr), ki smo jim na kilogram osnovne krme primešali 50 ali 100 g oljčnih listov (OLi 50, OLi 100) oziroma oljčnih tropin (OTr 50, OTr 100). Pri pripravi osnovne krmne mešanice (sestavljene iz koruze, pšeničnih otrobov, dehidrirane lucerne, rastlinskega olja, soli, apnenca, monokalcijevega fosfata, lizina, metionina, treonina in premiksa) smo upoštevali normative za pitovne piščance ross 308, ki smo jih zmanjšali za 20 %. Po štirih dneh prilagajanja smo bilančni poskus (spremljanje uživanja krme in zbiranje izločkov) izvajali pet dni. V vzorcih krme in izločkov smo analizirali vsebnost suhe snovi, surovih beljakovin, surovih maščob, surove vlaknine, v nevtralnem (NDV) in kislem (KDV) detergentu netopne vlaknine, surovega pepela, vsebnosti mineralov kalcija, fosforja, kalija, magnezija, mangana, železa, bakra in cinka ter izmerili vsebnost bruto energije in izračunali vsebnosti organske snovi. Izkoristljivost hranilnih snovi (HS) podajamo kot odstotek absorbiranih hranil ((zaužita HS – izločena HS)/zaužita HS*100 %) iz krmnih mešanic (preglednica 9). Izkoristljivost hranilnih snovi in energije oljčnih listov in tropin smo določili tudi z diferenčno metodo (preglednica 10).

Preglednica 9: Vpliv oljčnih listov in tropin na izkoristljivost (%) hranilnih snovi, mineralov in energije in navidezna presnovljiva energija (MJ/kg SS) pri pitovnih piščancih.

	KONT	OLi 50	OLi 100	OTr 50	OTr100	SEM ¹	p
Hranilne snovi							
suha snov	74,62 ^a	71,38 ^{bc}	69,07 ^c	72,76 ^{ab}	70,45 ^{bc}	0,57	< 0,0001
organska snov	76,53 ^a	73,30 ^{bc}	71,36 ^c	74,72 ^{ab}	72,39 ^c	0,53	< 0,0001
surove beljakovine	64,31 ^a	62,92 ^{ab}	59,86 ^{bc}	63,63 ^a	59,42 ^c	0,74	< 0,0001
surove maščobe	81,93 ^a	81,98 ^a	81,27 ^a	85,76 ^b	87,41 ^b	0,80	< 0,0001
surova vlaknina	9,56	6,84	7,46	9,02	10,52	1,46	0,3777
NDV	24,98 ^{ab}	29,46 ^a	26,46 ^{ab}	20,04 ^b	23,61 ^{ab}	1,53	0,0033
KDV	6,84	6,95	4,92	0,75	-0,22	2,08	0,0507
surovi pepel	33,40	30,02	28,93	31,27	29,81	1,18	0,0847
Minerali							
kalcij (Ca)	40,27	31,60	30,65	40,45	34,91	2,40	0,0144
fosfor (P)	35,92	33,67	34,13	35,83	32,88	1,28	0,3772
magnezij (Mg)	14,09	13,24	10,66	14,36	12,58	1,54	0,4763
železo (Fe)	2,14	1,82	2,29	4,86	2,67	2,04	0,8289
cink (Zn)	11,51	14,68	10,55	12,04	10,48	1,59	0,3242
mangan (Mn)	0,46	-1,26	2,60	-1,41	-0,84	1,82	0,5193
baker (Cu)	25,82 ^a	23,17 ^{ab}	20,33 ^{ab}	27,23 ^a	13,82 ^b	2,53	0,0074
Energija							
energija	76,32 ^a	72,98 ^{bc}	70,10 ^d	74,51 ^{ab}	72,01 ^{cd}	0,56	< 0,0001
AMEn ² (MJ/kg SS)	13,90 ^a	13,49 ^{ab}	13,02 ^c	13,74 ^{ab}	13,38 ^{bc}	0,10	< 0,0001

¹SEM – standardna napaka srednje vrednosti

^{abc} – skupine, označene z različnimi črkami, se med seboj razlikujejo (p ≤ 0,05).

²AMEn – navidezna presnovljiva energija, korigirana na ničelno nalaganje dušika.

Preglednica 10: Izkoristljivost hranil in energije iz oljčnih listov in tropin (diferenčna metoda) pri pitovnih piščancih (v % oz. MJ ME/kg SS).

	OLi 50	OLi 100	OTr 50	OTr 100	SEM ¹	p
Hranilne snovi						
suha snov	8,22 ^a	17,73 ^{ab}	38,61 ^b	32,19 ^{ab}	7,22	0,0281
organska snov	10,01 ^a	19,19 ^{ab}	40,78 ^b	33,90 ^{ab}	7,13	0,0237
surove beljakovine	31,75 ^{ab}	-1,66 ^b	48,95 ^a	-5,70 ^b	0,45	0,0070
surove maščobe	85,20	68,89	104,47	100,00	17,46	0,4846
surova vlaknina	-5,87	2,33	-0,53	12,02	6,26	0,2579
NDV	45,72 ^a	29,64 ^a	-9,49 ^b	19,61 ^{ab}	8,18	0,0008
KDV	6,98	1,02	-18,94	-13,5	7,23	0,0662
Energija						
AME _{N-kor}	5,777 ^a	5,035 ^a	12,566 ^b	9,079 ^{ab}	3,95	0,0139

¹SEM – standardna napaka srednje vrednosti.

^{abc} – skupine, označene z različnimi črkami, se med seboj razlikujejo ($p \leq 0,05$).

Pri prirastu, začetni in končni masi piščancev v bilančnem poskusu nismo ugotovili statistično značilnih razlik. Treba pa je poudariti, da so bili piščancem listi in tropine v krmo dodani po 21. dnevu starosti, ko so prebavila že bolj razvita, in da je bilančni poskus potekal le devet dni, zato bi bilo treba izvesti dodaten pitovni poskus. Nekateri avtorji, ki so poročali o negativnih vplivih stranskih proizvodov oljkarstva na proizvodne značilnosti piščancev (Shafey in sod., 2013), te pripisujejo višjemu deležu vlaknine v krmi, kar poslabša njeno izkoriščanje predvsem v prvi fazi pitanja, pozneje pa lahko živali zaradi bolj razvitih prebavil bolje izkoriščajo krmo, tudi če ta vsebuje višje deleže vlaknine. Ugotovili smo, da pri živali, ki so dobivale krmne mešanice z dodatkom oljčnih listov in tropin, v primerjavi s kontrolno skupino ni bilo negativnih vplivov na izkoriščanje surove vlaknine, surovega pepela in mineralov (razen bakra). Živali, ki so dobivale krmne mešanice z dodatkom oljčnih listov, so v obeh dodanih koncentracijah slabše izkoriščale suho in organsko snov, v višji koncentraciji pa tudi surove beljakovine. Živali, ki smo jih krmili s krmnimi mešanicami z dodatkom oljčnih tropin, so pri višji koncentraciji dodatka slabše izkoriščale suho in organsko snov ter surove beljakovine. Živali, ki smo jih krmili s krmno mešanico z dodatkom oljčnih tropin, so bolje izkoriščale maščobe, kar je posledica spremenjene maščobnokislinske sestave krme. Znano je, da se absorpcija nasičenih maščobnih kislin (SFA) ob prisotnosti nenasičenih maščobnih kislin v prebavilih izboljša, saj se SFA v tem primeru učinkoviteje vgrajujejo v micle. Dodajanje oljčnih listov v obeh koncentracijah in tropin v višji koncentraciji v krmne mešanice zmanjša izkoristljivost energije.

Z diferenčno metodo smo ovrednotili vpliv obeh dodatkov, oljčnih listov in tropin na izkoristljivost nekaterih hranilnih snovi in energije. Ugotovili smo, da se iz oljčnih listov izkoristi le manjši delež suhe in organske snovi ter surovih beljakovin, pri višji koncentraciji listov pa se izkoristljivosti hranilnih snovi pogosto zmanjšujejo. Izkoristljivost maščob in oljčnih tropin je visoka, z naraščanjem koncentracije pa se poslabšuje izkoristljivost suhe in organske snovi ter surovih beljakovin. Energijska in hranilna vrednost listov pri pitovnih piščancih je majhna, saj vsebujejo pri 5-odstotni koncentraciji v krmni mešanici le 5,8 MJ ME/kg SS (podobno kot slama), ki pa se pri 10-odstotni koncentraciji zmanjša za okoli 15 %. Energijska vrednost oljčnih tropin pri pitovnih piščancih je bistveno boljša, saj vsebujejo pri 5-odstotni koncentraciji v krmni mešanici 12,6 MJ ME/kg SS, ki pa se pri 10-odstotni koncentraciji zmanjša za okoli 18 % na 9,1 MJ ME/kg SS. Zaradi tako velike energijske vrednosti so tropine pri pitovnih piščancih bistveno bolj uporabne, predvsem v manjših koncentracijah, saj večje koncentracije očitno negativno vplivajo na izkoristljivost hranil (razen maščob) in energije celotnega obroka.

2. Pujski

V bilančni poskus smo vključili 24 rastočih prašičev (tekačev) s povprečno telesno maso $11,00 \pm 0,10$ kg, ki smo jih v hlevih individualno v metabolne kletke, ki omogočajo spremljanje uživanja krme ter ločeno zbiranje blata in urina. Živali smo razdelili v tri skupine, kontrolno skupino (KONT), ki ni

dobivala dodatka, in skupini, ki smo jima v krmo primešali 7,5 % oljčnih listov (OLi) ali oljčnih tropin (OTr). Živali smo krmili restriktivno (2,5-kratno kritje vzdrževalnih potreb po energiji). Krmne mešanice smo sestavili po priporočilih NRC (2012), pri čemer smo zaradi merjenja izkoristljivosti za 20 % zmanjšali količino energije, prebavljivih beljakovin, aminokislin in mineralov. Z bilančnim poskusom (zbiranje blata in urina, pet dni) smo začeli po petdnevem obdobju prilagajanja. V krmnih mešanicah in blatu smo analizirali suho snov, surove beljakovine, surove maščobe, v nevtralnem (NDV) in kislem (KDV) detergentu netopno vlaknino, minerale in bruto energijo. Prebavljivost hranilnih snovi (HS) navajamo kot odstotek absorbiranih hranil ((zaužita HS – izločena HS)/zaužita HS*100 %) iz krmnih mešanic (preglednica 11). Prebavljivost hranilnih snovi in energije oljčnih listov in tropin smo določili tudi z diferenčno metodo (preglednica 12).

Preglednica 11: Vpliv oljčnih listov in tropin na prebavljivost (%) hranil, mineralov in energije pri pujskih.

	KONT	OLi	OTr	SEM	p
Hranilne snovi					
suha snov	88,33 ^a	83,71 ^b	84,88 ^b	1,383	< 0,001
organska snov	89,32 ^a	84,71 ^b	85,75 ^b	1,341	< 0,001
surove beljakovine	84,65 ^a	77,51 ^b	78,53 ^b	0,975	0,0001
surove maščobe	85,87 ^a	79,49 ^b	87,46 ^a	0,735	< 0,0001
NDV	63,50 ^a	59,61 ^{ab}	55,77 ^b	1,527	0,0077
KDV	50,40 ^a	44,38 ^{ab}	37,60 ^b	2,288	0,0033
surovi pepel	66,57	62,74	65,51	1,222	0,0980
Minerali					
kalcij (Ca)	44,85	42,69	48,99	1,985	0,0903
fosfor (P)	61,76	56,96	61,65	1,575	0,0673
magnezij (Mg)	42,29	33,41	42,80	2,694	0,0359
železo (Fe)	30,73	25,70	33,78	2,762	0,1282
cink (Zn)	37,41	29,66	35,08	2,494	0,1039
mangan (Mn)	18,06	14,99	17,66	2,894	0,7172
baker (Cu)	47,11 ^a	27,43 ^b	26,53 ^b	2,442	< 0,0001
Energija					
energija	87,31 ^a	81,56 ^b	83,24 ^b	1,605	< 0,001

Preglednica 12: Prebavljivost (%) hranil in energije iz oljčnih listov in tropin ter njihova energijska vrednost (diferenčna metoda) pri pujskih in metabolna energija (MJ/kg).

	Listi	Tropine
Suha snov	28,6 ± 20,3	45,3 ± 18,6
Organska snov	28,4 ± 20,1	45,0 ± 18,7
Surove beljakovine	-103,1 ± 79,7	-135,2 ± 112,8
Surove maščobe	-10,2 ± 49,2	91,4 ± 12,0
Bruto energija	23,6 ± 19,9	45,6 ± 18,5
Prebavljiva energija (MJ/kg SS)	4,78 ± 4,0	10,1 ± 4,1

¹SEM – standardna napaka srednje vrednosti.

^{abc} – skupine, označene z različnimi črkami, se med seboj razlikujejo (p ≤ 0,05).

Pujski, ki smo jim v krmne mešanice dodali oljčne liste, so v primerjavi s kontrolno skupino slabše prebavljali suho in organsko snov, surove beljakovine in surove maščobe. Krmne mešanice z dodatkom

oljčnih listov niso vplivale na prebavljivost mineralov (razen bakra). Krmljenje z mešanico z dodatkom oljčnih listov je poslabšalo prebavljivost energije. Pujski, ki smo jim v krmne mešanice dodali oljčne tropine, so v primerjavi s kontrolno skupino slabše prebavljali suho in organsko snov, surove beljakovine, v nevtralnem in kislem detergentu netopno vlaknino, ni pa bilo vpliva na prebavljivost surovih maščob in večine mineralov.

Prebavljivosti hranilnih snovi so pri tropinah pričakovano višje v primerjavi z oljčnimi listi. Oljčni listi in tropine izrazito negativno vplivajo na prebavljivost beljakovin. Medtem ko so maščobe iz oljčnih listov zelo slabo prebavljive, za oljčne tropine velja ravno nasprotno. Nenasičene maščobne kisline, ki jih vsebuje olje v tropinah, se zelo učinkovito prebavijo. Ugotovimo lahko tudi, da je prebavljivost energije iz tropin boljša v primerjavi z listi. Meritve vsebnosti prebavljive energije (PE) pri pujskih kažejo, da je energijska vrednost listov za pujske nizka, saj vsebujejo le okoli 4,8 MJ PE/kg SS, energijska vrednost tropin pa je okoli 10 MJ PE/kg SS. Vsaj pri pujskih se listi z vidika krmljenja prašičev kot vir energije kažejo kot neuporabni, tropine pa bi v krmne mešanice lahko vključevali, toda le v majhnih količinah (nekaj %). Ker imajo pitanci drugačna, bolj razvita prebavila, je lahko uporabnost tropin, morda tudi listov, pri njih večja. Vendar bi bilo to potrebno proučiti.

DS2.3 In vitro raziskave prehranske vrednosti za prežvekovalce

In vitro navidezno in pravo razgradljivost suhe snovi (ivNRSS in ivPRSS) smo določili tako, da smo iz fistuliranih ovnov odvzeti vampov sok prefiltrirali skozi štiri pasti bombažne gaze in ga razredčili z raztopino puфра v razmerju 1: 2 (v/v). Okoli 300 mg zmletega substrata (obroki z dodatkom oljčnih listov ali tropin oz. obroki, v katerih je bil del obroka nadomeščen z oljčnimi listi in tropinami) smo zatehtali v filtrske vrečke ANKOM F57 (ANKOM Technology, Macedon, NY, ZDA) in jih toplotno zavarili. Za vsak substrat smo pripravili dve vrečki in jih vstavili v inkubacijsko posodo (dve vrečki/posodo). V vsako posodo smo vstavili 24 vrečk F57 (dve vrečki/substrat + dve prazni vrečki (slepi vzorec)) in dodali dva litra puferiranega vampovega soka, ki smo ga predhodno preprihovali z ogljikovim dioksidom. Posode smo vstavili v inkubator na 39 °C za 24 ur. V času inkubacije je bilo zagotovljeno mešanje puferiranega vampovega soka v inkubacijskih posodah. Po končani inkubaciji smo vrečke intenzivno sprali pod tekočo vodo, posušili na 103 °C, stehali in izračunali ivNRSS. Vrečke smo v nadaljevanju tretirali še eno uro v raztopini nevtralnega detergenta pri 100 °C v aparaturi ANKOM220 fibre analyser (ANKOM Technology, Macedon, NY, ZDA), jih sprali v vodi, posušili in stehali ter izračunali in vitro pravo razgradljivost suhe snovi (ivPRSS) in vitro razgradljivost v nevtralnem detergent netopne vlaknine (ivNDV).

Inokulum za izvedbo plinskega testa smo pripravili na enak način kot inokulum za določanje in vitro razgradljivosti in prebavljivosti. Okoli 200 mg substrata smo inkubirali v anaerobnih pogojih pri 39 °C v 100-mililitrskih steklenih brizgalkah, ki so vsebovale 30 ml puferiranega vampovega soka (inokuluma). Količino sproščenega plina smo odčitali po 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 in 96 urah. Po 24 urah smo tekočino dveh od štirih brizgalk prenesli v 50-mililitrske centrifugirne epruvete in jih do analize hlapnih maščobnih kislin (HMK) zamrznili na -20 °C. V vsaki seriji smo inkubirali tri brizgalke s slepim vzorcem (vsebovale so samo inokulum brez substrata) in tri brizgalke s standardnim vzorcem.

Ekstrakte za analizo HMK smo pripravili iz puferiranega vampovega soka po 24 urah inkubacije po modificirani metodi Holdeman in sod. (1977). HMK smo določili s plinskim kromatografom Hewlett Packard 5890 A (Hewlett Packard, Bellefonte, Pensilvanija, ZDA), opremljenim s split/splitless injektorjem in FID-detektorjem. Za ločevanje HMK smo uporabili 30 m NUKOL TM, FUSED SILICA kapilarno kolono (SUPELCO, Bellefonte, Pensilvanija, ZDA).

Dobljene rezultate ivNRSS, ivPRSS in količine plina smo korigirali na 1 g suhe snovi substrata. Prostornine plina smo korigirali tudi na količino plina, sproščenega iz slepega vzorca. Kazalnike plinskega testa smo za vsak substrat ocenili s pomočjo Gompertzove enačbe (Lavrenčič in sod., 1997): $Y_t = B \times \exp(-C \times \exp(-D \times t))$, kjer je Y_t količina sproščenega plina (ml/g DM) v času 't', 'B' največja

količina sproščene plina (skupna potencialna količina plina; (ml/g SS)); 'C' specifična hitrost sproščanja plina, na katero vpliva konstantni faktor 'D', s katerim opisujemo zmanjševanje specifične hitrosti sproščanja plina (ki je posledica zmanjševanja hitrosti rasti mikroorganizmov in zmanjševanja količine fermentabilnega substrata) in 't' čas v urah. Za oceno kazalnikov smo uporabili statistični paket SAS (PROC NLIN; SAS, 2015). Poleg kazalnikov produkcije plina smo izračunali tudi količine plina, sproščene po 24 urah inkubacije, s pomočjo prvega in drugega odvoda Gompertzove enačbe po času pa še največjo hitrost produkcije plina (MFR) in čas, v katerem je bila dosežena največja hitrost produkcije plina (TMFR; Lavrenčič in sod., 1997).

Neto količino HMK, sproščeno v 24 urah inkubacije, smo izračunali tako, da smo od bruto količine posameznih HMK odšteli posamezne HMK, ki so se sprostile v tem času v slepem vzorcu. Dobljene količine smo nato korigirali na 1 g inkubirane suhe snovi substrata.

Rezultate smo nato analizirali z one-way analizo variance s proceduro splošnega linearnega modela (GLM) statističnega paketa SAS/STAT različica 9.4 (SAS, 2015). Primerjali smo razlike med substrati. Rezultate predstavljamo kot povprečne vrednosti najmanjših kvadratov (least square means). Kot statistično značilne smo sprejeli razlike pri $P \leq 0,05$, medtem ko smo kot trende obravnavali razlike pri $0,05 < P < 0,10$.

1. Uporaba oljčnih listov in tropin kot dodatka v obroke za krave molznice – govedo

V tem poskusu smo oljčne liste in tropine vključili v obrok kot dodatek. Pri tem smo ugotavljali, kakšen je vpliv dodatka oljčnih listov in tropin v primerih, da bi govedu s telesno maso 650 kg v obrok (TMR) dodali še 25 g (L25 in T25), 50 (L50 in T50) oz. 100 g oljčnih listov in tropin dnevno (L100 in T100). Dobljeni rezultati so prikazani v preglednicah 13 in 14.

Preglednica 13: *In vitro* navidezna (IVNRSS) in prava razgradljivost suhe snovi (IVPRSS) ter *in vitro* razgradljivost NDV (IVRNDV), TMR in TMR z dodanimi oljčnimi listi in tropinami v različnih koncentracijah.

Substrat	IVNRSS (g/kg SS)	IVPRSS (g/kg SS)	IVRNDV (ml/g DM)
TMR	555	719	270
L25	547	724	283
L50	529	710	247
L100	581	734	310
T25	582	737	319
T50	555	719	270
T100	540	719	269

TMR = popoln krmni obrok za 30 kg mleka dnevno; L25 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; L50 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; L100 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan; T25 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; T50 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; T100 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan.

Dodatek oljčnih listov in tropin v količinah od 25 do 100 g na žival na dan ne vpliva na razgradljivost in prebavljivost suhe snovi in razgradljivost NDV.

Preglednica 14: Ocenjeni kazalniki *in vitro* produkcije plina, nastalega ob inkubaciji TMR in TMR z dodatkom oljčnih listov in tropin v različnih koncentracijah.

Substrat	B [‡] (ml/g DM)	C [‡]	D [‡]
TMR	307	2,36 ^b	0,144
L25	303	2,65 ^a	0,152
L50	303	2,53 ^{ab}	0,143
L100	318	2,53 ^{ab}	0,143
T25	299	2,54 ^{ab}	0,148
T50	290	2,57 ^{ab}	0,157
T100	311	2,54 ^{ab}	0,145

[‡]B = skupna potencialna produkcija plina; C = specifična hitrost produkcije plina, na katero vpliva čas (t), in konstantni faktor D (zmanjšanje specifične hitrosti sproščanja plina, ki je posledica zmanjšanja hitrosti rasti mikroorganizmov in zmanjšanja količine fermentabilnega substrata).

TMR = popoln krmni obrok za 30 kg mleka dnevno; L25 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; L50 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; L100 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan; T25 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; T50 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; T100 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan.

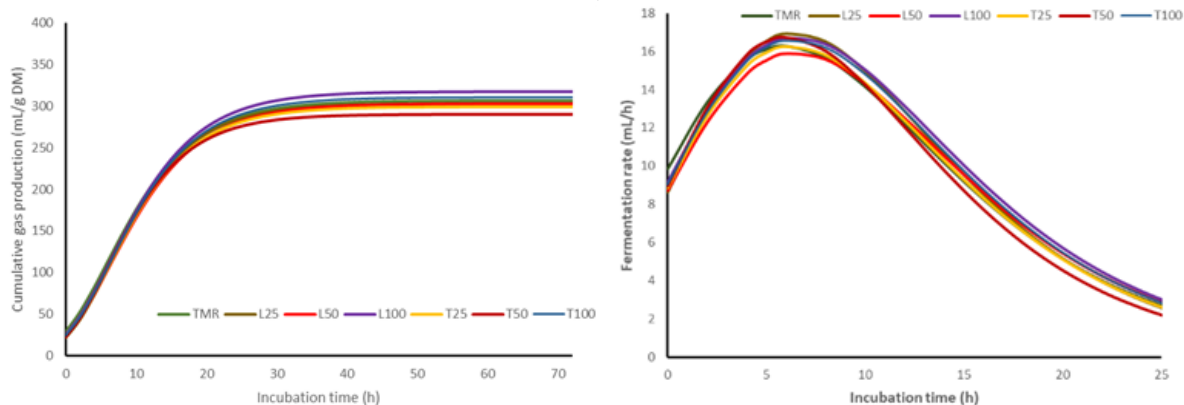
Preglednica 15: Izračunani kazalniki *in vitro* produkcije plina, nastalega ob inkubaciji TMR in TMR z dodatkom oljčnih listov in tropin v različnih koncentracijah.

Substrat	TMFR [‡] (h)	MFR [‡] (ml/h)	Gas24 [‡] (ml/g DM)
TMR	6,01	16,27	284
L25	6,42	16,94	282
L50	6,48	16,28	279
L100	6,51	16,75	293
T25	6,29	16,29	277
T50	6,25	16,65	269
T100	6,49	16,54	286

[‡]TMFR = čas, v katerem je hitrost fermentacije največja; MFR = največja hitrost fermentacije; Gas24 = količina plina, nastala po 24 urah fermentacije.

TMR = popoln krmni obrok za 30 kg mleka dnevno; L25 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; L50 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; L100 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan; T25 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; T50 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; T100 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan.

Iz rezultatov, prikazanih v preglednicah 14 in 15, lahko ugotovimo, da dodatek 25, 50 in 100 g oljčnih listov in tropin v obrok za govedo s telesno maso 650 kg ne vpliva na ocenjene in izračunane kazalnike fermentacije v predželodcih prežvekovalcev. Ugotovili smo, da se kazalnika »C« TMR (kontrola) in L25 razlikujeta, vendar menimo, da je do tega prišlo naključno, razlika pa nima večjega vpliva na potek sproščanja plina (slika 5).



Slika 5: Potek sproščanja plina ob fermentaciji substratov z dodatnimi oljčnimi listi in tropinami.

Preglednica 16: Sproščanje hlapnih maščobnih kislin (HMK) in njihovi deleži, nastali po 24 urah inkubacije TMR in TMR z dodanimi oljčnimi listi in tropinami v različnih koncentracijah.

Substrat	HMK (mmol/g SS)	Ocetna kislina (mol/mol HMK)	Propionska kislina (mol/mol HMK)	Maslena kislina (mol/mol HMK)
TMR	11,29	0,786 ^a	0,107 ^b	0,090
L25	11,66	0,773 ^{ab}	0,112 ^{ab}	0,096
L50	10,88	0,755 ^b	0,124 ^{ab}	0,102
L100	11,81	0,767 ^{ab}	0,118 ^{ab}	0,097
T25	9,74	0,761 ^{ab}	0,120 ^{ab}	0,100
T50	9,06	0,760 ^{ab}	0,124 ^{ab}	0,100
T100	9,88	0,759 ^{ab}	0,129 ^a	0,097

TMR = popoln krmni obrok za 30 kg mleka dnevno; L25 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; L50 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; L100 = dodatek listov v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan; T25 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 50 g/žival na dan; T50 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 25 g/žival na dan; T100 = dodatek tropin v obrok (TMR) v količini 100 g/žival na dan.

Dodatek oljčnih listov in tropin ne vpliva ($P > 0,05$) na sintezo HMK, čeprav so količine, sproščene iz substratov s tropinami, numerično nekoliko manjše. Opazili smo, da so razlike v deležu očetne in propionske kisline razlikujejo ($P < 0,05$) med TMR in L50 oz. med TMR in T100, vendar menimo, da je do tega prišlo naključno ter da ne gre za sistematski vpliv dodatka oljčnih listov in tropin.

2. Uporaba oljčnih listov in tropin kot sestavin obroka za krave molznice – govedo

V tem delu raziskave smo poskušali ugotoviti, kako se spremenita prebavljivost in fermentabilnost obroka (TMR), če ga v določenem deležu nadomestimo z oljčnimi listi in tropinami.

Preglednica 17: *In vitro* navidezna (IVNRSS) in prava razgradljivost suhe snovi (IVPRSS) ter *in vitro* razgradljivost NDV (IVRNDV) TMR in TMR, kjer je z oljčnimi listi in tropinami nadomeščen del TMR.

Substrat	IVNRSS (g/kg SS)	IVPRSS (g/kg SS)	IVRNDV (ml/g DM)
TMR	721 ^a	856 ^b	625 ^{ab}
L5 %	657 ^{bcd}	898 ^a	514 ^{bcd}
L10 %	646 ^d	890 ^a	368 ^{efg}
L25 %	654 ^{cd}	799 ^c	493 ^{cd}
L50 %	596 ^e	756 ^d	401 ^{def}
L75 %	522 ^{fg}	708 ^{ef}	302 ^{fgh}
L100 %	466 ^h	674 ^f	239 ^{hi}
P5 %	654 ^{cd}	893 ^a	476 ^{cde}
P10 %	688 ^{abcd}	903 ^a	508 ^{cd}
P25 %	666 ^{bcd}	804 ^c	515 ^{bcd}
P50 %	555 ^{ef}	732 ^{de}	367 ^{efg}
P75 %	476 ^{gh}	685 ^f	286 ^{gh}
P100 %	384 ⁱ	609 ^g	151 ⁱ

TMR = popoln krmni obrok za 30 kg mleka dnevno; L5 % = 5 % listov v obroku (TMR); L10 % = 10 % listov v obroku (TMR); L25 % = 25 % listov v obroku (TMR); L50 % = 50 % listov v obroku (TMR); L75 % = 75 % listov v obroku (TMR); L100 % = 100 % listov v obroku (TMR); T5 % = 5 % tropin v obroku (TMR); T10 % = 10 % tropin v obroku (TMR); T25 % = 25 % tropin v obroku (TMR); T50 % = 50 % tropin v obroku (TMR); T75 % = 75 % tropin v obroku (TMR); T100 % = 100 % tropin v obroku (TMR).

Rezultati (preglednica 18) kažejo, da nadomestitev 25 % obroka z oljčnimi listi in tropinami ne vpliva na *in vitro* navidezno in pravo razgradljivost suhe snovi ter *in vitro* razgradljivost NDV. Še pri večji koncentraciji oljčnih listov in tropin v obroku (TMR) se začnejo prebavljivosti in razgradljivost linearno zmanjševati.

Preglednica 18: Ocenjeni kazalniki *in vitro* produkcije plina, nastalega ob inkubaciji TMR in TMR, kjer je z oljčnimi listi in tropinami nadomeščen del TMR.

Substrat	B [‡] (ml/g DM)	C [‡]	D [‡]
TMR	291 ^{abc}	2,38 ^{dfe}	0,149 ^{cdde}
L5 %	300 ^{ab}	2,55 ^c	0,115 ^{de}
L10 %	301 ^{ab}	2,75 ^{ab}	0,114 ^e
L25 %	256 ^{bcd}	2,34 ^{gfe}	0,137 ^{de}
L50 %	239 ^{cde}	2,18 ^{ih}	0,122 ^{de}
L75 %	198 ^{ef}	2,08 ⁱ	0,120 ^{de}
L100 %	169 ^{gf}	2,07 ⁱ	0,115 ^{de}
T5 %	310 ^a	2,61 ^{bc}	0,113 ^e
T10 %	290 ^{abc}	2,84 ^a	0,137 ^{de}
T25 %	252 ^{bcd}	2,21 ^{gih}	0,142 ^{de}
T50 %	176 ^{gf}	2,35 ^{gfe}	0,201 ^{ab}
T75 %	136 ^g	2,29 ^{gfh}	0,192 ^{abc}
T100 %	86 ^h	2,28 ^{gfh}	0,230 ^a

[‡]B = skupna potencialna produkcija plina; C = specifična hitrost produkcije plina, na katero vpliva čas (t), in konstantni faktor D (zmanjšanje specifične hitrosti sproščanja plina, ki je posledica zmanjšanja hitrosti rasti mikroorganizmov in zmanjšanja količine fermentabilnega substrata).

TMR, L5 %, L10 %, L25 %, L50 %, L75 %, L100 %, T5 %, T10 %, T25 %, T50 %, T75 %, T100 % = glej razlago pri preglednici 13.

Preglednica 19: Izračunani kazalniki *in vitro* produkcije plina, nastalega ob inkubaciji TMR in TMR, kjer je z oljčnimi listi in tropinami nadomeščen del TMR.

Substrat	TMFR [‡] (h)	MFR [‡] (ml/h)	Gas24 [‡] (ml/g DM)
TMR	5,79 ^{cd}	15,99 ^a	272 ^a
L5 %	8,41 ^a	12,61 ^{bcd}	252 ^{abc}
L10 %	8,86 ^a	12,61 ^{bcd}	252 ^{abc}
L25 %	6,18 ^{bc}	12,95 ^{bc}	235 ^{bcdde}
L50 %	6,35 ^{bc}	10,75 ^{de}	213 ^e
L75 %	6,12 ^c	8,74 ^{fg}	176 ^f
L100 %	6,30 ^{bc}	7,20 ^g	149 ^{gh}
P5 %	8,52 ^a	12,86 ^{bc}	260 ^{ab}
P10 %	7,96 ^{ab}	13,98 ^b	251 ^{abc}
P25 %	5,69 ^{cd}	13,00 ^{bc}	232 ^{cde}
P50 %	4,34 ^{de}	12,88 ^{bc}	171 ^{fg}
P75 %	4,31 ^{de}	9,60 ^{ef}	133 ^h
P100 %	3,63 ^e	7,29 ^g	86 ⁱ

[‡]TMFR = čas, ko je hitrost fermentacije največja; MFR = največja hitrost fermentacije; Gas24 = količina plina, nastala po 24 urah fermentacije.

TMR, L5 %, L10 %, L25 %, L50 %, L75 %, L100 %, T5 %, T10 %, T25 %, T50 %, T75 %, T100 % = glej razlago pri preglednici 13.

Podobno kot smo ugotovili za IVNRSS, IVPRSS in IVRNDV (preglednica 20), velja tudi za sproščanje plina med fermentacijo v pogojih vampa. Šele količina oljčnih listov in tropin, s katero nadomestimo več kot 25 % obroka, statistično značilno vpliva na ocenjene in izračunane kazalnike *in vitro* fermentacije v vampu.

Preglednica 20: Sproščanje kratkoverižnih maščobnih kislin (HMK) in njihovi deleži, nastali ob inkubaciji TMR in TMR, kjer je z oljčnimi listi in tropinami nadomeščen del TMR.

Substrat	HMK (mmol/g SS)	Ocetna kislina (mol/mol HMK)	Propionska kislina (mol/mol HMK)	Maslena kislina (mol/mol HMK)
TMR	9,95 ^{ab}	0,790 ^{bcd}	0,111 ^a	0,090 ^{bc}
L5 %	9,57 ^{ab}	0,761 ^{de}	0,107 ^{abc}	0,115 ^{ab}
L10 %	8,42 ^{ab}	0,760 ^{de}	0,101 ^{abcd}	0,126 ^a
L25 %	5,67 ^{bc}	0,910 ^a	0,066 ^e	0,022 ^{de}
L50 %	3,33 ^{cd}	0,893 ^a	0,073 ^e	0,033 ^d
L75 %	/	/	/	/
L100 %	/	/	/	/
P5 %	9,09 ^{ab}	0,763 ^{de}	0,106 ^{abcd}	0,114 ^{ab}
P10 %	9,65 ^{ab}	0,772 ^{cde}	0,100 ^{abcd}	0,115 ^{ab}
P25 %	10,59 ^a	0,873 ^b	0,095 ^d	0,072 ^c
P50 %	8,61 ^{ab}	0,873 ^b	0,097 ^{cd}	0,071 ^c
P75 %	5,80 ^{bc}	0,807 ^{bc}	0,107 ^{abc}	0,081 ^c
P100 %	1,75 ^c	0,901 ^a	0,096 ^{cd}	0,003 ^e

[‡] B = skupna potencialna produkcija plina; C = specifična hitrost produkcije plina, na katero vpliva čas (t), in konstantni faktor D (zmanjšanje specifične hitrosti produkcije plina).

TMR, L5 %, L10 %, L25 %, L50 %, L75 %, L100 %, T5 %, T10 %, T25 %, T50 %, T75 %, T100 % = glej razlago pri preglednici 13.

Tudi za sintezo HMK velja, da nanjo vplivajo predvsem količine oljčnih listov in tropin, s katerimi nadomestimo več kot 25 % obroka (TMR). Če je obrok sestavljen samo iz oljčnih listov (L100 %) ali je teh v obroku 75 % (L75 %), smo ugotovili, da listi popolnoma onemogočijo tvorbo HMK, saj so bile korigirane količine nastalih HMK negativne.

DS2.4 Ocena možnosti uporabe oljčnih listov in tropin za siliranje

1. Oljčni listi in tropine kot silirni dodatki – travna silaža, pripravljena z dodatkom oljčnih listov in tropin

Travno silažo smo pripravili iz trave naravnega travnika. Travo smo pokosili jeseni (oktobra) in jo takoj po prevozu v laboratorij silirali v pilotne silose (kozarci prostornine 2,5 litra), jih ustrezno potlačili in pustili na sobni temperaturi okoli 30 dni. Po 30 dneh smo kozarce odprli, odstranili zgornjo plast (okoli 3 cm), vsebino pa pretresli na pladnje, na katerih smo jo najprej premešali, nato pa odvzeli del vzorca za določanje pH, HMK, amonijaka in maščobnih kislin. Preostali del vzorca smo posušili in uporabili za določanje kemijske sestave silaž.

Preglednica 21: Kemijska sestava silaž (g/kg SS), pripravljenih z dodatkom oljčnih listov in tropin.

	TS	TS + oljčni listi		TS + oljčne tropine	
	(kontrola)	10 g/kg	40 g/kg	10 g/kg	40 g/kg
SS (g/kg)	283	292	305	298	312
SB	186	183	177	180	173
SM	36	36	36	39	50
SV	230	237	224	234	231
SP	148	138	133	135	143
BDI	400	406	429	412	402
NDV	417	399	406	400	412

TS = travna silaža.

SS = suha snov; SB = surove beljakovine; SM = surova maščoba; SV = surova vlaknina; SP = surovi pepel; BDI = brezdušični izvleček; NDV = vlaknina, netopna v nevtralnem detergentu.

Kemijska sestava silaž se ni bistveno razlikovala od kontrole (preglednica 22). Nekoliko večja vsebnost suhe snovi v silažah z dodatkom listov in tropin je posledica večje vsebnosti suhe snovi v listih in tropinah, kakor je tudi manjša vsebnost SB posledica majhne vsebnosti SB v oljčnih listih in tropinah. Dodatek tropin poveča vsebnost SM v silažah.

Preglednica 22: Vsebnost hlapnih maščobnih kislin in amonijaka (g/kg SS), pH-vrednosti in peroksidno število v silažah, pripravljenih z dodatkom oljčnih listov in tropin.

	TS	TS + oljčni listi		TS + oljčne tropine	
	(kontrola)	10 g/kg	40 g/kg	10 g/kg	40 g/kg
Ocetna kislina	9,12	9,13	8,68	9,38	13,24
Propionska kislina	1,52	0,85	0,48	0,56	0,86
Maslena kislina	34,23	22,54	19,91	13,78	16,52
Amonijak	1,90	1,58	1,39	1,38	1,56
pH	4,6	4,6	4,6	4,4	4,4
Peroksidno število	6,99	1,60	1,93	3,31	1,19

TS = travna silaža.

Siliranje neovele trave z dodatkom oljčnih listov ni imelo velike vpliva na pH-vrednost silaž. Vsebnost očetne kisline se je ob uporabi oljčnih listov zmanjšala, ob dodatku tropin pa povečala. Oba dodatka pa sta zmanjšala vsebnosti propionske in maslene kisline ter vsebnost amonijaka, iz česar bi lahko sklepali, da oljčni listi in tropine zmanjšajo delovanje saharolitičnih in proteolitičnih klostridijev ter drugih v silažah nezaželenih mikroorganizmov. Ob dodatku listov in tropin se je zmanjšalo tudi peroksidno število, kar pomeni da je bila krma (silaža) v tem primeru manj podvržena oksidaciji.

Preglednica 23: Maščobnokislinska sestava silaž (g/kg SS silaže), pripravljenih z dodatkom oljčnih listov in tropin.

	TS	TS + oljčni listi		TS + oljčne tropine	
	(kontrola)	10 g/kg	40 g/kg	10 g/kg	40 g/kg
C16:0	4,57	4,67	4,66	4,73	5,86
ΣC16:1	2,17	2,16	2,02	2,02	1,97
C18:0	0,45	0,46	0,46	0,53	0,83
ΣC18:1	0,82	1,01	1,27	4,13	12,90
C18:2 n-6	4,29	4,30	4,28	4,20	4,81
C18:3 n-3	12,51	12,18	12,30	11,61	10,27
C20:0	0,31	0,31	0,28	0,37	0,34
C22:0	0,52	0,56	0,49	0,55	0,48
C23:0	0,10	0,11	0,10	0,09	0,09
C24:0	0,38	0,41	0,38	0,47	0,42
SFA	8,88	8,78	8,59	8,93	9,90
MUFA	3,20	3,40	3,48	6,38	15,17
PUFA	16,89	16,63	16,69	15,95	15,16
n-6 PUFA	4,29	4,34	4,28	4,25	4,82
n-3 PUFA	12,54	12,21	12,33	11,64	10,28
n-6/n-3 PUFA	0,34	0,36	0,35	0,37	0,47

TS = travna silaža.

SS = suha snov; SB = surove beljakovine; SM = surova maščoba; SV = surova vlaknina; SP = surovi pepel; BDI = brezdušični izvleček; NDV = vlaknina, netopna v nevtralnem detergentu.

Dodatek tropin poveča vsebnost SM v silažah. Z uporabo oljčnih tropin se močno poveča vsebnost oleinske kisline, medtem ko se vsebnost linolenske kisline nekoliko zmanjša, zaradi česar se nekoliko razširi razmerje med n-6- in n-3-maščobnimi kislinami. Dodatka oljčnih listov in tropin nista imela drugih večjih vplivov na kakovost travne silaže.

1. Priporočila za uporabo oljčnih listov in tropin kot silirnih dodatkov

Za postavitev priporočil o uporabi oljčnih listov in tropin kot silirnih dodatkov bi morali opraviti še dodatne raziskave o vplivih teh dveh dodatkov na vsebnost mlečne kisline. Do trdnejših ugotovitev bi prišli tudi tako, da bi siliranje ponovili in ali potrdili ali ovrgli dobljene rezultate. Vendar pa naši rezultati kažejo, da bi bili oljčni listi in tropine primerni za uporabo pri siliranju v omenjenih količinah. Primerni bi bili predvsem, če bi želeli zmanjšati oksidacijo maščobnih kislin oz. če bi želeli preprečiti klostridijsko kvarjenje silaž.

Literatura:

- Heuze, V., Tran, G., Gomez Cabarera, A., Lebas, F., 2015: Olive oil cake and by-products. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. <http://www.feedipedia.org/node/32>. Last updated on may 11, 2015, 14:32 (dostop: 18. 2. 2016).
- Joven, M., Pintos, E., Lattore, M. A., Suarez-Belloch, J., Guada, J. A., Fondevila, M., 2008: Effect of replacing barley by increasing levels of olive cake in the diet of finishing pigs: Growth performances, digestibility, carcass, meat and fat quality. *Animal Feed Science and Technology*. 197: 185–193.
- Molina-Alcaide, E., Yáñez-Ruiz, D. R., 2008: Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Animal Feed Science and technology*. 147: 247–264.
- Paiva-Martins, F., Barbosa, S., Pinheiro, V., Mourao, H. L., Outor-Monteiro, D., 2008: The effect of olive leaves supplementation on the feed digestibility, growth performances of pigs and quality of pork meat. *Meta Science*. 82: 438–443.
- Rabayaa, E., Abo Omar, J. M., Othman, R. A., 2001: Utilization of olive pulp in broiler rations. *An-Najah University Journal for Research*. 15: 133–144.

DS3 PRIPRAVA EKSTRAKTOV, BOGATIH S FENOLNIMI SPOJINAMI, ZA PRIPRAVO PREHRANSKIH DOPOLNIL

DS3.1 Pregled in sinteza dosedanjih znanih podatkov in raziskav

Na svetovnem trgu se tržijo prehranska dopolnila iz ekstraktov oljčnih listov, ki pa se razlikujejo v vsebnosti ključne fenolne spojine, olevropeina in drugih dodanih učinkovin v prehranskem dopolnilu. Prehranska dopolnila v obliki kapsul vsebujejo po navadi 6, 10, 18 ali 20 % olevropeina/kapsulo, v kateri je vsebnost ekstrakta iz oljčnih listov različna, od 500 do 750 mg. Prodajana prehranska dopolnila z ekstraktom oljčnih listov vsebujejo poleg ekstrakta iz oljčnih listov po navadi še deklarirane spojine, kot so celuloza, magnezijev stearat in silika. Nekatera prehranska dopolnila vsebujejo še ameriški slamnik in selen. Prehranska dopolnila z ekstraktom oljčnih listov se po navadi reklamirajo kot prehranska dopolnila z veliko vsebnostjo antioksidantov ter protibakterijskim, protimikotičnim in protivirusnim učinkovanjem.

Druga prodajna oblika ekstrakta oljčnih listov je v obliki tinkture, ki je pripravljena s 65-odstotnim alkoholom oz. je razmerje suhega ekstrakta oljčnih listov in alkohola 1 : 3. Prodajajo se lahko v 30-mililitrskih temnih dozirnih stekleničkah in imajo rok uporabe dve leti. Natančnejša sestava tinktur ni navedena.

Oljčni listi so lahko poceni vir za zelo pomembno polifenolno spojino olevropein, za katerega vse več znanstvenih raziskav potrjuje, da ima antioksidativne, protivnetne, protimikrobne, hipoglikemične in protivirusne učinke ter druge pozitivne učinke na zdravje človeka (Omar, 2010). Leta 2019 je bila objavljena raziskava o pozitivnem vplivu olevropeina iz ekstrakta oljčnih listov na sistemski eritematozni lupus, kronično avtoimunska bolezen vezivnega tkiva, ki lahko prizadene različne celice, tkiva in organe (Castejon in sod., 2019). Na primeru miši so je bilo dokazano, da so testni primerki, ki so uživali olevropein kot dodatek k prehrani z veliko vsebnostjo maščob, precej manj pridobili na teži kot kontrolni primerki, ki so uživali le prehrano z visoko vsebnostjo maščob (van der Stelt in sod., 2015).

Uporaba ekstrakta oljčnih listov v živilih pa je še vedno na raziskovalni ravni. Največ raziskav vključuje razvoj inovativnih filmov z vsebnostjo ekstraktov oljčnih listov za pakiranje živil (Licciardello et al. 2015, Moudache et al., 2016, Moudache et al., 2017), metode za kapsulacijo ekstrakta oljčnih listov z namenom vključevanja kapsuliranega ekstrakta za daljšo obstojnost živila, večjo oksidativno stabilnost.

DS3.2 Priprava in analiza etanolnih ekstraktov oljčnih listov in tropin

Vsebnost fenolnih spojin v ekstraktih iz nerazmaščenih tropin se med letnikoma 2015 in 2016 ni bistveno razlikovala in je dosegla vrednost okoli 70 µg GA/mL. Vsebnost fenolnih spojin v ekstraktih iz razmaščenih tropin pa se je med letnikoma pomembno razlikovala in je bila pri letniku 2016 okoli 230 µg GA/mL večja kot pri letniku 2015. V obeh primerih je bila vsebnost fenolnih spojin, izražena kot ekvivalent galne kisline, le nekoliko večja v primerjavi z ekvivalentom kavne kisline. Čas ekstrakcije v UZ-kopeli ni bistveno vplival na učinkovitost ekstrakcije fenolnih snovi. Antioksidativni potencial je bil v ekstraktih iz razmaščenih tropin večji v primerjavi z ekstrakti iz nerazmaščenih tropin in je dosegal vrednosti okoli 125 µg GA/mL za letnik 2015 in 150 µg GA/mL za letnik 2016, pri ekstraktih iz nerazmaščenih vzorcev pa okoli 24 µg GA/mL za letnik 2015 in 35 µg GA/mL za letnik 2016. Čas ekstrakcije v UZ-kopeli ni bistveno vplival na učinkovitost ekstrakcije fenolnih snovi.

DS3.3 Kapsulacija s proliposomi in karakterizacija

Proliposomi s kapsuliranim ekstraktom oljčnih listov so bili pripravljani po metodi, ki jo opisujejo Perret in sod. (1991), in sicer z mešanico sojinega lecitina Phospholipon 90 G, etanola, ekstrakta oljčnih listov oz. čistega olevropeina in vode. Mešanica je vsebovala 0,5 mg/mL ekstrakta oljčnih listov oz. čistega olevropeina. Učinkovitost kapsulacije ekstrakta oljčnih listov je bila 83 %, v primeru kapsulacije čistega olevropeina pa 75 %. Rezultati testov stabilnosti pri različnih temperaturah in pH-vrednostih so pokazali, da je olevropein v obeh primerih v liposomih stabilen vsaj prvih 24 ur. Stabilnejši je olevropein v ekstraktu oljčnih listov kot čist olevropein v liposomih. Pri 25 °C in pH-vrednosti 2 se je v 24 urah sprostil le 4,3 % olevropeina iz liposomov z ekstraktom iz oljčnih listov in 10,9 % olevropeina iz liposomov s čistim olevropeinom, pri 90 °C pa le 9,5 % iz liposomov z ekstraktom oljčnih listov in 28,8 % olevropeina iz liposomov s čistim olevropeinom.

Glede na rezultate lahko sklepamo, da ima liposomski ovoj zaščitno vlogo pri preprečevanju hidrolize oz. zavira hidrolizo kapsuliranega olevropeina pri nizkih pH-vrednostih, ki so pomembne pri metabolizmu človeka. Iz tega lahko sklenemo, da bi bila proliposomska formulacija z ekstraktom oljčnih listov dovolj stabilna v želodčnem soku.

DS3.4 Priprava alginatnih/hitozanskih kapsul in karakterizacija iz ekstrakta oljčnih listov

Učinkovitost kapsulacije standardnega olevropeina ali olevropeina iz ekstrakta oljčnih listov je bila v alginatnih kapsulah zelo nizka, od 1,8 do 4,2 %. Da bi izboljšali učinkovitost kapsulacije, smo poleg parametrov mikrokapsulatorja preskušali tudi druge parametre, kot so koncentracija zamreževalne raztopine CaCl₂ (2–10 %), pH-vrednost raztopine CaCl₂ (2–6), vendar večje učinkovitosti nismo dosegli.

Test stabilnosti alginatnih mikrokapsul z olevropeinom ali ekstraktom oljčnih listov pa je pokazal, da se je ves olevropein izločil iz mikrokapsul že v času testiranja.

Kapsulacija čistega olevropeina ali ekstrakta iz oljčnih listov le v alginatne/hitozanske kapsule ni primerna, ker je učinkovitost kapsulacije zelo nizka, nestabilna in tako tudi neekonomična.

DS3.5 Priprava ekstrakta za uporabo v živilskih izdelkih z metodo sušenja z razprševanjem

V obdobju poročanja smo za pripravo novih funkcionalnih živil ponovno ovrednotili vsebnost olevropeina v zmletih oljčnih listih iz slovenske Istre, ki smo jih zbirali med projektom med letoma 2015 in 2016. Tokrat smo analizo nadgradili tudi z ovrednotenjem hidroksitirozola. V ta namen smo pripravili ekstrakte iz oljčnih listov, zbranih aprila 2015, maja 2016 in oktobra 2016.

Za pripravo izdelkov z dodano vrednostjo smo izbrali tekoče jogurte proizvajalca Ljubljanske mlekarne z razponom vsebnosti maščob od 1,3 do 6,0 %. Za dodano vrednost smo izbrali dodatek v obliki zmletih oljčnih listov iz slovenske Istre, ki smo jih zbirali med projektom med letoma 2015 in 2016. Ves material za pripravo listov je bil že zmlet v fin prah. Ekstrakcija je bila izvedena po že objavljenem protokolu, v treh neodvisnih paralelkah, in ekstrakti so bili analizirani s HPLC-metodo. Vsebnost olevropeina je bila največja v ekstraktih iz listov iz aprila 2015 ($37,2 \pm 0,1$ mg olevropeina/g suhih listov), nekoliko nižja je bila v ekstraktih iz listov iz oktobra 2016 ($32,68 \pm 0,08$ mg olevropeina/g suhih listov) in najnižja v ekstraktih iz listov iz maja 2016 ($20,42 \pm 0,06$ mg olevropeina/g suhih listov). Vrednosti hidroksitirozola pa so bile v obratnem sorazmerju s količino olevropeina. Najvišja vrednost je bila določena v ekstraktih z najnižjo vrednostjo olevropeina v razponu od $0,352 \pm 0,004$ do $0,837 \pm 0,011$ mg hidroksitirozola/g suhih listov.

Na osnovi vsebnosti olevropeina v ekstraktih smo se odločili, da bomo kot dodatek uporabili zmlet prah iz oljčnih listov iz aprila 2015. Za poskus smo izbrali tri dodatke zmletih oljčnih listov v vrednosti 0,5, 1 in 3 % neto mase tekočega/trdnega jogurta. Izbrali smo jogurte z različno vsebnostjo maščob (od 1,3 do 6,0 %). Jogurti so bili kupljeni v trgovini Ljubljanskih mlekarn in shranjeni v hladilniku do naslednjega dne. Ob odprtju smo dodali ustrezno količino zmletih oljčnih listov, pretresli in ocenili nekaj značilnosti. Izdelke je ocenjevala štiričlanska komisija. Vsak član je za izdelek dobil ocenjevalni list, na katerega je vnesel vrednosti ocenjenega izdelka. Ocenjevali smo videz, teksturo in okus. Značilnosti smo ocenjevali tudi z vrednostmi od 1 do 5, pri čemer je ocena 1 pomenila najnižjo vrednost in ocena 5 najvišjo vrednost. Člani komisije nismo akreditirani ocenjevalci in smo ocenjevali le s stališča potrošnika. Ocenjevalni listi so shranjeni v pisni obliki in dostopni za ogled.

Štiričlanska komisija je od 18 pripravljenih izdelkov ocenila 18 izdelkov (glej preglednico 24). Neto masa izdelkov je bila 180, 250 in 500 g.

Dodani zmleti oljčni listi v vseh izdelkih ustvarijo pridih lepe, od nežno zelene do intenzivnejše barve. Barve so naravne in prijetne.

Dodani zmleti oljčni listi ne vplivajo na vonj jogurtov.

Količina dodanih zmletih oljčnih listov vpliva na teksturo izdelka, ki pa ni moteča pri najnižji koncentraciji, pri višjih količinah pa je odvisno od vsebnosti maščob.

Dodani zmleti oljčni listi najbolj vplivajo na okus jogurta. Ta je nekoliko grenek, vendar ni moteč ali pa se zakrije ob dodatku v 0,5 % oljčnih listov, pri dodatku 1 % je grenek priokus močnejši, vendar pri nekaterih jogurtih še sprejemljiv, pri dodatku 3 % oljčnih listov pa je grenek priokus zelo moteč, prevladujoč, predvsem v izdelkih z višjo vsebnostjo maščob (od 3,2 do 6,0 %), zato so bili ti izdelki tudi ocenjeni z najnižjo mogočo oceno, 0. Ocenjevalni rezultati so navedeni v preglednici 24.

Preglednica 24: Ocenjevanje pripravljenih novih funkcionalnih izdelkov.

Ime izdelka	vsebnost maščob (%)	neto masa (g)	+ 0,5 % listov na neto maso			+ 1 % listov na neto maso			+ 3 % listov na neto maso		
MU tekoči jogurt 1,3	1,3	500	4,5	4	3,75	4,1	3,75	2,75	3,5	2,6	1
MU KEFIR 1,5	1,5	250	4,7	4,4	4,25	4,2	4,2	4,1	4,1	3,1	1,5
MU jogurt, naravni brez laktoze	1,6	500	4,88	4,5	4,63	4,56	3,93	3,8	3,25	2,38	1,75
MU jogurt 3,2	3,2	500	4,5	4,2	4,55	4,05	4,08	3,98	0	0	0
Alpsko tekoči jogurt	4,0	500	4,55	4,58	4,58	4,18	4,08	3,5	0	0	0
Alpsko poln in kremast jogurt	6,0	180	4,67	4,33	4,67	4,17	3,5	3,5	0	0	0

Za nadaljnji razvoj so primerni vsi izdelki z 0,5-odstotnim dodatkom zmletih oljčnih listov, z 1-odstotnim dodatkom pa MU KEFIR, MU jogurt 3,2, in Alpsko tekoči jogurt 4,0.

Za pripravo kapsuliranega olevropeina iz ekstrakta oljčnih listov z metodo sušenja z razprševanjem je bil uporabljen Nano Spray Dryer B-90 (Büchi). Za kapsulacijo z metodo z razprševanjem je bila uporabljena mešanica z 0,1-odstotno raztopino alginata in 0,5 mg/mL ekstrakta oljčnih listov v razmerju 1 : 1. Največja, 69,8-odstotna, učinkovitost kapsulacije olevropeina iz oljčnih listov v alginatne formulacije je bila dosežena v uri in 18 minutah razprševanja pri pretoku 13 L/min, tlaku 44 mbar in T glave 110 °C. Daljši čas razprševanja ni vplival na večjo učinkovitost kapsulacije. Mikroskopska SEM-analiza pridobljenih alginatnih formulacij s kapsuliranim ekstraktom oljčnih listov je pokazala, da je

velikost delcev zelo različna in v razponu od 200 nm do 10 μ m, so nepravilnih oblik, medtem ko imajo prazni alginatni delci sferično obliko. Rezultati testov stabilnosti pri različnih T- in pH-vrednostih so pokazali, da se je v 24 urah pri 25 °C in pH-vrednosti 2 le 9 % olevropeina, pri 90 °C pa okoli 17 %. Iz rezultatov kapsuliranja ekstrakta oljčnih listov z metodo sušenja z razprševanjem lahko sklepamo, da je slabša učinkovitost kapsulacije olevropeina pri danih pogojih in nekoliko slabša stabilnost v primerjavi s kapsulacijo v proliposome. Za pripravo z večjimi kapacitetami pa bi priporočili uporabo robustnejšega tovrstnega instrumenta, kot je Mini Spray Dryer, ki bi bil tudi primernejši za kapsulacijo kompleksnejših matriksov oz. vzorcev.

DS3.6 Testiranje stabilnosti ekstraktov v prehranskem dopolnilu

Prehransko dopolnilo v obliki stisnjene tabletk je bilo pripravljeno iz zmletih suhih oljčnih listov in/ali z dodatkom maltodekstrina. Povprečna masa ene tabletk je 300 mg. Vse tabletk imajo premer 10 mm in so debele 4 mm. Vsebnost olevropeina v oljčnih listih je bila ponovno določena z ekstrakcijo in ovrednotena s HPLC-metodo. Vsebnosti olevropeina v prehranskih dopolnilih so navedene v preglednici 25.

Preglednica 25: Vsebnosti olevropeina v prehranskih dopolnilih.

Tabletk 300 mg	iz zmletih suhih oljčnih listov	z 20-odstotno vsebnostjo maltodekstrina	s 40-odstotno vsebnostjo maltodekstrina
Vsebnost olevropeina/300 mg	11,1 mg	8,9 mg	6,7 mg

Prehransko dopolnilo je bilo pripravljeno v obliki tabletk tako, da smo zmlete suhe oljčne liste ali mešanico zmletih suhih oljčnih listov z 20- ali 40-odstotno vsebnostjo maltodekstrina stisnili z LFA-ročno tabletirko. Ugotovili smo, da se material pri stiskanju ne prijema na dele tabletirke, zato ni bilo treba dodajati Mg-stearata. Prav tako smo ugotovili, da se izbrane mešanice lepo stisnejo pri tabletiranju, zato ni bilo treba dodajati nobenih dodatkov za pripravo kompaktnih tabletk, kar je velika prednost. Test stabilnosti smo določili z merjenjem aktivnosti vode, aw-vrednosti, in vsebnosti olevropeina v tabletkah v treh mesecih. Vrednosti olevropeina se v tem času niso spremenile. Tabletk so bile v tem obdobju hranjene v zaprti plastični posodi v temnem prostoru pri temperaturi 22 ± 1 °C in 46 ± 1 % vlažnosti. Merjene aw-vrednosti so bile najvišje pri formulaciji iz samih oljčnih listov in so se v treh mesecih z $0,463 \pm 0,001$ povišale na $0,523 \pm 0,012$. Tabletkam z 20- in 40-odstotnim maltodekstrinom (MD) in oljčnimi listi pa so aw-vrednosti v tem obdobju padle, in sicer pri 20-odstotni vsebnosti MD z $0,4795 \pm 0,0004$ na $0,4467 \pm 0,0004$, pri 40-odstotni vrednosti MD pa z $0,4805 \pm 0,0005$ na $0,4383 \pm 0,0004$. Iz teh rezultatov lahko sklepamo, da formulacije, pripravljene le iz zmletih oljčnih listov, niso primerne. Stabilnost prehranskih dopolnil z olevropeinom iz oljčnih listov smo tudi testirali s testom trdnosti z instrumentom TA XT Plus Texture Analyser ter jih primerjali tudi z obstoječim prehranskim dopolnilom italijanskega proizvajalca in zdravilom Lekadol 500 mg.

Iz rezultatov lahko sklepamo, da prehransko dopolnilo v obliki tabletk, pripravljeno samo iz zmletih listov in brez dodanega maltodekstrina, ni primerno, ker se razpoložljivost vode v treh mesecih poveča, kar pomeni, da je večja možnost za okužbo z mikroorganizmi. Primernejša je priprava prehranskega dopolnila v obliki tabletk z mešanico maltodekstrina in zmletih oljčnih listov, v katerem se razpoložljivost vode s časom zmanjša, s čimer se manjša tudi možnost okužbe z mikroorganizmi.

Literatura:

- Omar, Oleuropein in olive and its pharmacological effect. *Scientia Pharmaceutica* 78 (2010) 133–154.
- Inge van der Stelt in sod., Nutraceutical oleuropein supplementation prevents high fat diet-induced adiposity in mice. *Journal of functional foods* 14 (2015) 702–715.
- Castejon in sod., Dietary oleuropein and its new acyl-derivate, attenuate murine lupus nephritis through HO-1/Nrf2 activation and suppressing JAK/STAT, NF- κ B, MAPK and NLRP3 inflammasome signaling pathways. *The journal of nutritional biochemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108229>.
- Moudache in sod., Phenolic content and antioxidant activity of olive by-products and antioxidant film containing olive leaf extract. *Food Chemistry* 212 (2016), 521–527.
- Moudache in sod., Antioxidant effect of an innovative active plastic film containing olive leaves extract on fresh pork meat and its evaluation by Raman spectroscopy. *Food Chemistry* 229 (2017), 98–103.

DS 4 IZDELAVA SMERNIC ZA TRAJNOSTNO UPORABO OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU

Glej publikacijo

Maja Podgornik, Milena Bučar-Miklavčič, Alenka Levart, Janez Salobir, Vida Rezar, Nataša Poklar Ulrich, Mihaela Skrt, Bojan Butinar: SMERNICE ZA TRAJNOSTNO UPORABO OSTANKOV PROIZVODNJE V OLJKARSTVU. Koper: Annales ZRS, 2019.

DS 5 KOMUNIKACIJA IN DISEMINACIJA

V okviru projekta CRP V4 -1621 smo sodelovali in izvedli te dejavnosti:

- udeležba na 10 sestankih delovne skupine (23. 3. 2016, 14. 12. 2016, 20. 2. 2017, 21. 6. 2017, 6. 10. 2017, 9. 11. 2017, 12. 7. 2018, 14. 9. 2018, 18. 9. 2018, 11. 5. 2019);
- organizacija petih sestankov z oljarji (6. 5. 2016, 3. 10. 2016, 10. 3. 2017, 18. 7. 2017, 26. 3. 2018, 19. 6. 2018);
- udeležba na dveh sestankih za usklajevanja zakona o kmetijstvu (30. 5. 2019, 5. 6. 2019);
- udeležba na štirih sestankih na medresorski ravni (MKGP, MOP) (20. 7. 2018, 14. 9. 2018, 18. 9. 2018, 1. 4. 2019);
- izdelava osnutkov za Smernice za ravnanje z oljčnimi tropinami in rastlinsko vodo ter njihovo uporabo za gnojenje;
- tri letna poročila o projektu CRP – ARRS (1. 1. 2017, 1. 1. 2018, 1. 1. 2019);
- šest vmesnih poročil projekta CRP – MKGP (15. 11. 2016, 15. 3. 2017, 15. 9. 2017, 15. 3. 2018, 15. 9. 2018, 15. 3. 2019);
 - okrogla miza o oljčnih tropinah (20. 6. 2018), dostop do objav:
<https://www.primorske.si/2018/06/20/v-novi-stevilki-primorskih-novic-preberite>,
<https://www.primorske.si/primorska/istra/bomo-po-oljcnem-olju-zascitili-tudi-tartuf>,
<http://www.kmeckiglas.com/post/401223/o-tartufih-oljcnih-tropinah-in-namakanju-oljk>;
- organizacija mednarodnega znanstvenega in strokovnega posveta Možnost uporabe oljčnih tropin v luči krožnega gospodarstva (14. 2. 2019);
- pripravljen dokument o uporabi oljčnih tropin kot sredstva za izboljšanje tal, dostop do objav:
<https://www.facebook.com/tvkoper/posts/10156137657333008>,
<https://www.rtv slo.si/radio-koper/prispevki/novice/oljcne-tropine-v-tujini-za-krmo-dodatek-k-prehrani-ogrevanje-pri-nas-so-le-odpadek/480257>,
<https://www.primorske.si/primorska/istra/tropine-kot-gnojilo-piscancja-krma>.

1. Izvirni znanstveni članek

NENADIS, Nikolaos, MASTRALEXI, Aspasia, TSIMIDOU, M. Z., VICHI, Stefania, QUINTANILLA-CASAS, Beatriz, DONARSKI, James, BAILEY-HORNE, Victoria, BUTINAR, Bojan, BUČAR-MIKLAVČIČ, Milena, GARCÍA GONZÁLEZ, Diego-Luis, TOSCHI, Tullia Gallina. Toward a harmonized and standardized protocol for the determination of total hydroxytyrosol and tyrosol content in virgin olive oil (VOO) : extraction solvent. *European Journal of Lipid Science and Technology*, ISSN 1438-9312. [Online ed.], 2018, vol. 120, iss. 11, str. 1–10, ilustr. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800099>, doi: 10.1002/ejlt.201800099. [COBISS.SI-ID 2528467].

CIFÀ, Domenico, SKRT, Mihaela, PITTIA, Paola, DI MATTIA, Carla, POKLAR ULRIH, Nataša. Enhanced yield of oleuropein from olive leaves using ultrasound-assisted extraction. *Food science & nutrition*, ISSN 2048-7177, 2018, vol. 6, str. 1128–1137, ilustr., doi: 10.1002/fsn3.654. [COBISS.SI-ID 4893560].

V pripravi:

Za objavo v: *International Journal of Agricultural Sustainability*

Naslov članka: Chemical characteristics of two-phase olive mill waste »alperujo« for possible direct soil application in humid Mediterranean regions

Avtorji: Maja Podgornik, Milena Bučar-Miklavčič, Alenka Levart, Janez Salobir, Vida Rezar, Bojan Butinar

2. Strokovni članek

PODGORNIK, Maja, VALENČIČ, Vasilij, BUČAR-MIKLAVČIČ, Milena, BEŠTER, Erika, VOLK, Saša, FANTINIČ, Jakob, HLADNIK, Teja, KOZLOVIČ, Gašper, STEVOVIČ, Bojana, LEVART, Alenka, SALOBIR, Janez, REZAR, Vida, BUTINAR, Bojan. Možnosti uporabe oljčnih tropin v luči krožnega gospodarstva. *Oljka : novice Društva oljkarjev*, ISSN 1580-0113, maj 2019, letn. 21, št. 5, str. 11 in 12, ilustr. [COBISS.SI-ID 2578643].

3. Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci

LEVART, Alenka, SALOBIR, Janez, LESKOVEC, Jakob, PODGORNIK, Maja, BUČAR-MIKLAVČIČ, Milena, BUTINAR, Bojan, REZAR, Vida. Sestava oljčnih tropin iz slovenskih oljčnikov in vpliv oljčnih listov in tropin na proizvodne lastnosti pitovnih piščancev = Composition of olive cakes from Slovenian olive groves and influence of olive leaves and cake on performance in broilers. V: ČEH, Tatjana (ur.), KAPUN, Stanko (ur.). *Zbornik predavanj = Proceedings of the 27th International Scientific Symposium on Nutrition of Farm Animals [being] Zadravec-Erjavce Days 2018, 8th and 9th November 2018*. Murska Sobota: Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod. 2018, str. 103–110, ilustr. [COBISS.SI-ID 4152968].

LESKOVEC, Jakob, REZAR, Vida, SALOBIR, Janez, LEVART, Alenka. Stranski proizvodi oljkarstva kot krmila in krmni dodatki v prehrani prašičev = Olive by-products as feed stuff and feed additives in pig nutrition. V: ČEH, Tatjana (ur.), KAPUN, Stanko (ur.). *Zbornik predavanj = Proceedings of the 27th International Scientific Symposium on Nutrition of Farm Animals [being] Zadravec-Erjavce Days 2018, 8th and 9th November 2018*. Murska Sobota: Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije, Kmetijsko gozdarski zavod. 2018, str. 97–101, ilustr. [COBISS.SI-ID 4153224].

V pripravi:

Za 28. posvetovanje o prehrani domačih živali za »Zadravčeve-Erjavčeve dneve« 7. in 8. novembra 2019 Naslov prispevka: Vpliv oljčnih listov in tropin v krmnih mešanica za pitovne piščance na izkoristljivost hranljivih snovi in energije ter na mineralizacijo kosti

Avtorji: Vida REZAR, Alenka LEVART, Silvester ŽGUR in Janez SALOBIR

4. Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci

LEVART, Alenka, REZAR, Vida, LESKOVEC, Jakob, PIRMAN, Tatjana, BUTINAR, Bojan, BUČAR-MIKLAVČIČ, Milena, PODGORNIK, Maja, SALOBIR, Janez. Utilization of olive by-products in non-ruminant nutrition. V: PERIĆ, Lidija (ur.). Book of abstracts, The International Symposium on Animal Science (ISAS) 2019, 3–8. 6. 2019, Herceg Novi, Črna gora. Novi Sad: Faculty of Agriculture. 2019, str. 24. [COBISS.SI-ID 4236168].

CIFÀ, Domenico, FELTI, Veronica, SKRT, Mihaela, DI MATTIA, Carla, PITTIA, Paola, POKLAR ULRIH, Nataša. The ultrasound assisted extraction of oleuropein from olive leaves *Olea europaea* L. and its stabilization by encapsulation. V: GORIČAR, Katja (ur.), HUDLER, Petra (ur.). Book of abstracts = Zbornik povzetkov, 12th Meeting of the Slovenian Biochemical Society with International Participation = 12. srečanje Slovenskega biokemijskega društva z mednarodno udeležbo, Bled, 20.–23. september 2017. Ljubljana: Slovenian Biochemical Society. 2017, str. 96, PI-22. [COBISS.SI-ID 4817528].

GONZÁLEZ ORTEGA, Rodrigo, PITTIA, Paola, DI MATTIA, Carla, POKLAR ULRIH, Nataša. Liposome encapsulation of a oleuropein-rich olive leaf extract and study of the effect of oleuropein on model lipid membrane. V: VICENTE, António A. (ur.), PINHEIRO, Ana Cristina (ur.), MARTINS, Joana T. (ur.). Book of abstracts of the 8th International Symposium on "Delivery of Functionality in Complex Food Systems", Porto, Portugalska, 7.–10. julija 2019. 1st ed. Braga: Universidade do Minho, Departamento de Engenharia Biológica. 2019, str. 28, OC02-24919. https://www.dof2019.org/docs/Book_of_Abstracts.pdf.

5. Prispevek na konferenci brez natisa

BUTINAR, Bojan. Kemijske značilnosti slovenskih oljčnih tropin = Chemical characteristics of slovenian olive mill waste : predavanje na Mednarodnem posvetu "Možnost uporabe oljčnih tropin v luči krožnega gospodarstva" = International Conference "The possibility of using olive mill waste in the light of circular economy", Koper, Slovenija, 15. februar 2019. [COBISS.SI-ID 2579155].

POKLAR ULRIH, Nataša. Stabilizacija ekstraktov iz oljčnih listov = Stabilization of extracts obtained from olive leaf : predavanje na Mednarodnem posvetu "Možnost uporabe oljčnih tropin v luči krožnega gospodarstva" = International Conference "The possibility of using olive mill waste in the light of circular economy", Koper, Slovenija, 15. februar 2019. [COBISS.SI-ID 5033080].

POKLAR ULRIH, Nataša. Uporabnost oljčnih listov : Strokovni posvet "Hlajevi dnevi 2019", Koper, Znanstveno-raziskovalno središče, 29. 3. 2019. http://www.zrs-kp.si/wp-content/uploads/2019/03/PROGRAM_Hlajevi_dnevi_2019.pdf. [COBISS.SI-ID 5087864].

6 Diplomaska naloga

TOMAŽIČ, Kaja. Vpliv postopkov ekstrakcije na vsebnost aktivnih učinkovin v ekstraktu iz oljčnih listov : diplomsko delo univerzitetnega študijskega programa I. stopnje. Maribor: [K. Tomažič], 2019. XI, 49 str., ilustr. <https://dk.um.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=74157>. [COBISS.SI-ID 22611478].

7. Magistrske naloge

ZAVERL, Manca. Vpliv oljčnih listov in tropin na izkoristljivost hranil in energije pri prašičih: magistrsko delo : magistrski študij – 2. stopnja = The effect of olive leaves and pulp on utilization of nutrients and energy in pigs : M. Sc. Thesis : Master Study Programmes. Ljubljana: [M. Zaverl], 2019. X, 51 f., ilustr. <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=108723>. [COBISS.SI-ID 4272008].

V pripravi:

FINDERLE, Nasja: Vpliv dodatka oljčnih listov in tropin na izkoristljivost hranil in energije pri pitovnih piščancih : magistrsko delo : magistrski študij – 2. stopnja = Effect of olive leaves and pulp in feed mix on utilization of nutrients and energy in chickens : M. Sc. Thesis : Master Study Programmes.

ZAHVALA

Predstavljeni rezultati so pridobljeni s finančno pomočjo Javne agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije in Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano v okviru ciljnoraziskovalnega programa (CRP) CRP V4-1621 Možnosti uporabe ostankov proizvodnje v oljkarstvu. Avtorji se zahvaljujejo financerjem projekta ter oljarjema Franku Lisjaku in Andreju Mihelju, ki sta omogočila praktično izvedbo poskusa in pomagala pri ovrednotenju rezultatov.

