



Povzetek projekta Po kreativni poti do znanja 2017 – 2020, 2. odpiranje, za namen objave in predstavitve na spletni strani sklada

1. Polni naslov projekta: FrAPI: Funkcionalni dodatki v hrani in krmi: Antioksidacijski Potencial in Izvor

- **V katero področje na prvi klasifikacijski ravni KLASIUS-P-16 se uvršča projekt glede na vsebinsko zasnovo** (neustrezno področje izbrišite):

07 - Tehnika, proizvodne tehnologije in gradbeništvo

2. V sodelovanju z: (navede se univerza oz. samostojni visokošolski zavod, ki je prijavil projekt in članica, ki je nosilka projekta ter partner/ja – podjetje/ji oz. organizacija, ki je/sta bilo/i vključeno/i v projekt)

**Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana
Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani
Jata Emona d.o.o.**

3. Besedilo:

- **Opredelite problem, ki se je razreševal tekom izvajanja projekta**

Trend v živalski in humani prehrani se je v zadnjih letih osredotoča k dodatkom in prehranskim dopolnilom naravnega izvora ter novimi alternativnimi virom prehrane bogate z beljakovinami. Mikroalge, kot so Spirulina (Arthrospira platensis), Chlorella, Dunaliella, Haematococcus in Schizochytrium, predstavljajo vire hrane, ki jih ameriška agencija, U.S. Food and Drug Administration (FDA), uvršča v kategorijo GRAS (Generally Regarded as Safe; opp. v prevodu, splošno velja za varno), saj je možen vnos visokovrednih sestavin v obliki praškaste suhe ali liofilizirane biomase brez predhodne ekstrakcije. V predlaganih raziskavah se bomo osredotočili na spirulino in klorela, ki se že več let uporabljata kot prehransko dopolnilo zaradi visoke hranilne vrednosti. Vsebujeta pa tudi veliko bioaktivnih sestavin z različnimi farmakološkimi lastnostmi (antioksidativni, protivnetni, imuno-stimulacijski učinki, itd) in se lahko lahko uporabijo tudi kot krmni dodatek. Kot krmni dodatek se lahko uporabljajo tudi tanini. Tanine se pogosto uporablja kot nadomestek tako imenovanim nutritivnim antibiotikom, katerih uporaba je v EU prepovedana od leta 2006, v prehrani monogastričnih živali kot tudi prežvekovalcev, saj zavirajo rast zajedavcev prebavnega trakta, imajo antioksidativni potencial in ugodno vplivajo na delovanje prebavil. Tako se industrija krmil kot je Jata Emona pogosto ukvarja z vprašanjem, kako s krmo doseči antibakterijski, protivirusni, antimikrobni ali antioksidativni učinek in tako pripraviti nove funkcionalne dodatke h krmi. Novejše raziskave so pokazale, da imajo poleg taninov v čisti obliki antioksidativni potencial tudi taninsko proteinski kompleksi. Tanini se namreč v prebavilih hitro vežejo s proteini in je zato vprašljiv njihov antioksidativni potencial v organizmu. V projektu smo tako raziskali antioksidacijski vpliv taninov v različnih krmnih mešanica in prehranski vpliv na nekatere produkcijske parametre pri domačih živalih. Nadalje se Jata Emona sooča z nadaljno uporabo odpadkov jajčnih lupin saj kot največji slovenski proizvajalec konzumiranih jajc proizvede 100 milijonov jajc letno. Jajčne lupine, ki se uvrščajo med biološke odpadke, je potrebno neškodljivo odstraniti, zato v podjetju razvijajo tehnologijo predelave jajčnih membran in možnost

uporabe v kozmetiki in prehranskih dopolnilih. Jajčna membrana namreč vsebuje proteine z antimikrobnimi in imunomodulatornimi lastnostmi, ki jih lahko uporabimo v novih izdelkih.

Glavni cilj projekta je bil:

- določitev antioksidacijskega potenciala (AOP) v različnih vzorcih, ki bi se lahko uporabili kot funkcionalni dodatki h krmi, ter v odpadkih jajčnih lupin, ki se lahko uporabijo v krmi ali pri izdelavi novih kozmetičnih izdelkov;
- ovrednotiti in primerjati različne vzorce prehranskih dopolnil na bazi alg, ki so trenutno razpoložljiva na slovenskem tržišču. Osredotočili smo se na določitev vsebnosti AOP ter mikroelementno sestavo, medtem ko smo na podlagi izotopske sestave lahkih elementov (C, N, S) v kombinaciji z elementno sestavo poskušali določiti izvor.

- Opišite potek reševanja problema oz. kratek povzetek projekta

Projekt vključuje raziskovalce iz naravoslovnih znanosti, biotehnologije in velikega podjetja, kar daje multidisciplinarno, interinstitucionalno ter aplikativno povezanost znotraj projektne skupine. V okviru projekta smo izvedli naslednje aktivnosti:

o Meritve antioksidacijskega potenciala (AOP) v različnih vzorcih: v vzorcih čebule, prehranskih dodatkih iz alg (različnih vrst), v svežih laboratorijsko vzgojenih algah (klorele), ki se uporabljajo za čiščenje odpadnih vod, tanin in hidrolizatov jajčnih membran.

Ugotovili smo, da z uživanjem rdeče čebule bolj pripomoremo k vnosu antioksidantov v telo oz. z vključevanjem rdeče čebule v obrok povečamo AOP obroka. Vendar pa je potrebno poudariti, da je odpadni del pokazal višji AOP kot jedilni del, tako da del čebule, ki je najbogatejši z antioksidanti dejansko zavržemo.

Pri prehranskih dopolnilih iz alg so imele najvišji AOP klamatske alge, rjave alge so bile praktično brez AOP. Glede na rezultate in iz podatkov iz literature, bi bilo najbolj smiselno gojiti spirulino, ker ima višji AOP kot klorele, medtem ko so klimatske alge endemiti in potencialno toksikogene.

V svežih, laboratorijsko vzgojenih algah smo razvili in optimizirali DPPH metode za določanje AOP na mikrotiterskih ploščah, ki omogoča hitrejšo meritev in zato potrebujemo manj vzorca. Rezultati so pokazali višjo vrednost AOP v algah, ki smo jim dodajali hranila oziroma hormonske motilce.

Tudi pri vzorcih taninov smo opazili nižje AOP kot smo predvideli. Rezultati nakazujejo, da je potrebno tanine pred uporabo kot prehransko dopolnilo v krmi, predhodno obdelati s kalcijevim butiratom, da zaščitimo črevesno sluznico pred negativnimi učinki taninov.

Pri določanju AOP pri vzorcih jajčnih hidrolizatov, ki se lahko nadalje uporabljajo v krmi ali v kozmetične namene, smo ugotovili višji AOP pri vzorcih pri katerih je potekala encimska hidroliza s predhodno NaOH solubilizacijo. S SDS-PAGE elektroforezo smo želeli določiti velikost produktom hidrolize. Žal nam v trenutnem časovnem obdobju ni uspelo določiti velikosti fragmatov.

Poskusno smo pripravili hidratacijsko kremo z dodatkom hidroliziranih jajčnih membran in kozmetično kremo za piling kože z dodatkom mletega mineralnega dela lupin, ki nadomesti koščke plastike v konkurenčnih izdelkih. Prvi prototipi izdelani na laboratorijskem nivoju so tudi delni rezultat projekta FrAPI.

o Testirali smo uporabo klorela za čiščenje odpadne vode, ki nastane pri ločevanju jajčne lupine od membrane in ugotovili, da alge v omenjeni odpadni vodi niso uspevale, saj so se v vodi prekomerno razvile bakterije (značilen vonj).

o Nadalje smo raziskali učinkovitost, izvor in pravilnost deklaracije prehranskih dopolnil na bazi alg, ki so trenutno dostopna na slovenskem tržišču. Za preverjanje kakovosti in varnosti smo se posluževali določitev elementne sestave z Rentgensko fluorescenčno spektrometrijo (XRF metoda) ter z masnim spektrometrom z induktivno sklopljeno plazmo (ICP-MS). Medtem ko smo se pri določitvi izvora posluževali uporabe stabilnih izotopov lahkih elementov (C, N in S) katerih razmerja smo določili s pomočjo masne spektrometrije. Za ovrednotenje rezultatov in vzpostavitev

ustreznih modelov za določanje izvora smo uporabili ustrezne multivariacijskih statistične metode kot sta metoda glavnih osi (PCA) in diskriminantna analiza (DA).

- Navedite in opišite rezultate projekta ter njihov doprinos k družbeni koristnosti

Rezultati projekta imajo širši družbeni vpliv s posebnim poudarkom na **zaščiti okolja, proizvodnji hrane in krme ter javnem zdravju**. Pomembno področje, ki ga projekt vključuje, je izboljšanje razumevanja vsebnosti bioaktivnih komponent vključno z antioksidacijskim potencialom (AOP). Rezultati projekta nakazujejo, da imajo odpadni deli čebule višji AOP od jedilnega. S pridobljenim znanjem bi bilo smiselno uporabiti odpadni del čebule za ekstrakcijo antioksidantov oziroma spojin, ki prispevajo k AOP-ju odpadnega dela. Uporaba organizmov na dnu prehranjevalne verige, kot so mikroalge kot tudi ponovna uporaba odpadkov pomeni velik korak v zviševanju učinkovitosti proizvodnje hrane in lahko znatno prispeva k **zmanjšanju skupne količine odpadkov v urbanih okoljih**. K zmanjšanju količine odpadkov stremi tudi podjetje Jata Emona. Z uporabo hidrolizatov jajčnih membran ter možnostjo uporabe v kozmetičnih izdelkih in kot funkcionalno dopolnilo v krmi bodo znatno pripomogli k razvoju krožnega gospodarstva podjetja. Ugotovili smo, da encimska hidroliza s predhodno NaOH stabilizacijo znatno poveča AOP hidrolizatov in bi jo bilo smiselno vključit v proces hidrolize. Iz ostankov jajčnih lupin, ki jih ločimo na membranski del in anorganski del, so bili izdelani tudi prvi laboratorijski prototipi novih produktov kot so krema za piling kože, hidratacijsko kremo za nego kože z dodatkom jajčnih membran in prehranski dodatki za hišne ljubljence – žvečilne palčke za čiščenje pasjih zob, ki so pomembni za gospodarski razvoj podjetja Jata Emona.

Projekt vključuje tudi vidike **zdravja in varnosti**, saj uporaba taninov kot prehransko dopolnilo v krmi nadomešča nutritivne antibiotike, katerih uporaba je prepovedana v EU že od leta 2006. Pri uporabi tanina kot dodatka h krmnim mešanici smo ugotovili, da jih je potrebno ustrezno zaščititi, da lahko omogočim prehod po prehranbenem traktu oziroma preprečimo vezavo na protein črevesne sluznice. Zaščita je možna s kombinacijo tanina in kalcijevega butirata. Potrebno bo natančneje določiti aktivne substance v taninih, njihov AOP in antimikrobni učinek in možnosti njihove ekstrakcije na industrijskem nivoju.

Prvič smo raziskali učinkovitosti, izvor in pravilnost deklaracije prehranskih dopolnil na bazi alg, ki so dostopna na slovenskem tržišču in se uporabljajo pri dopolnjevanju redne prehrane potrošnika. Povišane vrednosti izotopske sestave N nakazujejo na dodatno gnojenje oziroma dodatek hranil pri vzgoji alg, ki so večinoma organskega izvora. Pri nekaterih vzorcih smo ugotovili pomanjkljivosti in nepravilnosti pri navedbah porekla, ki pogostokrat ni navedeno oziroma je nejasno. Vsebnost železa je bila v večini primerov manjša, kot je bilo navedeno na deklaraciji. Nekateri vzorci vsebujejo visoko vsebnost silicija, kar nakazuje na uporabo nedeklariranega aditiva (silicijev dioksid). Koncentracije toksičnih elementov niso povečane in zato prehranska dopolnila ne predstavljajo potencialne nevarnosti za ljudi.

Potrebno je omeniti tudi **izobraževanje študentov**, saj je vključitev v projekt pripomogla k večji razgledanosti in njihovi strokovni rasti. Preko projekta so dobili vpogled v proizvodni sektor in spoznali razlike med teorijo in prakso ter se soočili z konkretnimi izzivi, ki jih zahteva razvoj nove tehnologije oziroma novega izdelka.

Rezultati projekta, ki imajo tudi aplikativno vrednost, prispevajo k doseganju ciljev Strategije Pametne Specializacije na dveh specifičnih področjih Trajnostne hrane in izdelave novih funkcionalnih dodatkov za živila in krmo ter Krožnega gospodarstva.

4. Priloge:

- Slikovno gradivo: Priložite vsaj dve sliki npr. sliko končnega produkta, sliko študentov pri delu na projektu, sliko s sestankov ipd. Pri pošiljanju slik bodite pozorni, v kolikor gre za končni produkt, da bo zadoščeno zahtevam glede informiranja in obveščanja (ustrezni logotipi itd.).

