



**Bitenčevi
Živilski dnevi
2022**

**31
ŽIVILA, HRANILA IN PREHRANA
PRIHODNOSTI**

**Ljubljana
15. junij 2022**

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

in

SLOVENSKO PREHRANSKO DRUŠTVO

ŽIVILA, HRANILA IN PREHRANA PRIHODNOSTI

31. BITENČEVI ŽIVILSKI DNEVI 2022

FOODS, NUTRIENTS AND NUTRITION OF THE FUTURE

31st FOOD TECHNOLOGY DAYS 2022
Dedicated to Prof. F. Bitenc

15. junij 2022

Ljubljana

LJUBLJANA, 2022

BITENČEVI ŽIVILSKI DNEVI 2022:

Tematski pregled s področja znanosti in tehnologije živil ter prehrane za študij po diplomii

FOOD TECHNOLOGY DAYS 2022:

dedicated to Prof. F. Bitenc: Thematic survey of topics in food science and technology and nutrition for postgraduate studies.

PROGRAMSKI ODBOR:

Predsednik: prof. dr. Rajko VIDRIH
Doc. dr. Evgen BENEDIK
Prof. dr. Jasna BERTONCELJ
Prof. dr. Lea DEMŠAR
Prof. dr. Barbka JERŠEK
Prof. dr. Tatjana KOŠMERL
Prof. dr. Tanja PAJK ŽONTAR
Prof. dr. Hrvoje PETKOVIĆ
Prof. dr. Nataša POKLAR ULRIH
Prof. dr. Sonja SMOLE MOŽINA

ORGANIZACIJSKI ODBOR:

Članice in člani Katedre za tehnologijo
rastlinskih živil in vino

UREDNIŠKI ODBOR:

Rajko VIDRIH
Petra TERPINC
Nik MAHNIČ

Vsi prispevki so recenzirani. Za strokovnost prispevkov odgovarjajo avtorji.

Založil: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

1. elektronska izdaja

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani
COBISS.SI-ID 111199235
ISBN 978-961-6908-28-3 (PDF)

Dostopno na: <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=137288>

KAZALO

Uvodna beseda	
Rajko VIDRIH	V
Prehrana v luči podnebnih sprememb	
Tjaša POGAČAR in Lučka KAJFEŽ BOGATAJ	1
Innovation and sophistication in postharvest practices in Israel	
Elazar FALLIK, Sharon ALKALAI-TUVIA and Daniel CHALUPOWICZ	17
Kvarljivci kakovosti grozdja in vina v novih podnebnih razmerah	
Tatjana KOŠMERL in Denis RUSJAN	31
Meso in mesni nadomestki	
Tomaž POLAK, Mateja LUŠNIC POLAK in Lea DEMŠAR	47
Obsevanje sadja in zelenjave z vidno in UV-c svetlobo	
Branka LEVAJ, Zrinka ČOSIĆ, Maja REPAJIĆ, Zdenka PELAIĆ in Rajko VIDRIH	60
Antimicrobial activity of essential oils from medical plants grown in light modified environment	
Lidija MILENKOVIĆ, Ljubomir ŠUNIĆ, Jasna MASTILOVIĆ, Žarko KEVREŠAN, Renata KOVAČ, Dragan CVETKOVIĆ, Ljiljana STANOJEVIĆ, Bojana DANILOVIĆ, Jelena STANOJEVIĆ and Zoran S. ILIĆ	73
Pridobivanje in zaščita funkcionalnih sestavin in funkcionalnih materialov iz živilskih stranskih proizvodov in neužitnih delov odpadne hrane	
Ilja Gasan OSOJNIK ČRNIVEC, Mihaela SKRT, Mija SEŽUN in Nataša POKLAR ULRIH	89
Food packaging from biobased polymer materials	
Urška VRABIČ-BRODNJAK	110
Kaljenje: starodavna metoda s svetlo prihodnostjo v biološki transformaciji hranil	
Andrej ŽIVKOVIĆ, Marjeta MENCIN, Petra TERPINC in Tomaž POŽRL	115
Structured lipids as healthy foods for the future	
Suzana FERREIRA-DIAS	131
Viri in vpliv biogenih aminov na zdravje	
Blaž CIGIĆ	133
Prehranska vlaknina v živilih in prehrani prihodnosti	
Jasna BERTONCELJ, Mojca KOROŠEC in Blaž FERJANČIČ	147
Naravne bioaktivne snovi - primeri raziskav in uporabe v živilstvu v tekočih raziskovalnih projektih 2020-2022	
Sonja SMOLE MOŽINA	171
Ketonska telesa v fizioloških in patofizioloških razmerah	
Sergej PIRKMAJER	191
Prehrana za zdrave možgane: poudarek na prehranskih polifenolih	
Rui F.M. SILVA in Lea POGAČNIK	205
Hrana, način prehranjevanja in duševno zdravje	
Borče MICEV	220

The longevity-promoting secrets of the okinawan diet	
Jan GRAŠIČ	232
Modre cone - razkrite skrivnosti dolgoživosti?	
Saša PISKERNIK, Evgen BENEDIK, Neža LIPOVEC in Tanja PAJK ŽONTAR	245
Pomen prehrane v prvih 8000 dneh življenja	
Neža LIPOVEC, Saša PISKERNIK, Tanja PAJK ŽONTAR in Evgen BENEDIK	258
Vpliv telesne dejavnosti na imunometabolizem, funkcionalnost mitohondrijev in staranje telesa	
Urška BUKOVNIK	271
Obvladovanje stresa in vpliv na zdravje	
Timotej STRNAD	281
Prehrana in staranje	
Branka JAVORNIK	286
Adhezija mikroorganizmov	
Klemen BOHINC, Rajko VIDRIH in Peter RASPOR	293
Vloga kvasovke vrste <i>Kregervanrija fluxuum</i> pri fermentaciji jabolčnega vina	
Neža ČADEŽ in Tatjana KOŠMERL	297
Zveza med protimikrobno in antioksidativno aktivnostjo ter vsebnostjo fenolnih spojin v različnih vrstah medu slovenskega porekla	
Nika HORVAT, Ajda KUNČIČ, Andreja KANDOLF BOROVSŠAK, Jasna BERTONCELJ in Sonja SMOLE MOŽINA	312
Vpogled v odziv jabolka na obsevanje z modro led-svetlobo na ravni molekul	
Nik MAHNIČ, Emil ZLATIC, Rajko VIDRIH, Anja RUTAR, Urban KUNEJ, Jernej JAKŠE, Nataša TOPLAK, Simon KOREN, Polona JAMNIK in Barbka JERŠEK	318
Aerosenzitivnost bakterij <i>Campylobacter</i> in preživetje bakterij med dekontaminacijo površine perutninskega mesa	
Eva MILJEVIČ, Meta STERNIŠA, Michael STELZL in Sonja SMOLE MOŽINA	323
Vpliv fermentacije na nekatere prehransko pomembne komponente psevdžit	
Mateja STIPIČ, Jasna BERTONCELJ, Petra TERPINC	331
Elektronski senzorji za analizo kakovosti jabolk zlati delišes	
Rajko VIDRIH, Anamarie ŽALIK, Mira TREBAR	341
Vpliv blage toplotne obdelave breskev na kolonizacijo plodov s plesnimi vrste <i>Penicillium expansum</i>	
Martina ZLATEVSKA, Barbka JERŠEK, Klemen BOHINC in Rajko VIDRIH	348
Pregled doktorskih disertacij s področja živilstva in prehrane v letih 2015–2021	
Lina BURKAN MAKIVIČ	354
Doktorske disertacije s področja živilstva v letih 2015–2021	356
Imensko kazalo doktorandov s področja živilstva in njihovih mentorjev ter somentorjev	368
Predmetno kazalo doktorskih disertacij s področja živilstva	369
Doktorske disertacije s področja prehrane v letih 2015–2021	373
Imensko kazalo doktorandov s področja živilstva in njihovih mentorjev ter somentorjev	382
Predmetno kazalo doktorskih disertacij s področja prehrane	383

UVODNA BESEDA

Letošnje 31. srečanje Bitenčevih živilskih dnevov poteka v drugačnih časih, saj smo še vedno pod vplivom epidemije Covid-19. Dogodek poteka v letu praznovanja 75-letnice Biotehniške fakultete.

Tema letošnjega srečanja »Živila, hranila in prehrana prihodnosti« na nek način nadaljuje tematiko predhodnega srečanja »Živilstvo in prehrana med tradicijo in inovacijo«, ki je v sklopu prispevkov poskusil povezati dva na videz nezdržljiva pojma. V sklopu letošnjega srečanja želimo predstaviti trenutne in prihodnje trende v živilstvu in prehrani. Zato smo v ospredje zopet postavili prehrano in s tem tudi hrano. Ustrezna prehrana namreč predstavlja enega izmed pomembnih dejavnikov za zagotavljanje dobrega počutja in ohranjanja zdravja. Preko izbranih predavanj želimo celostno prikazati pomen ustrezne prehrane v povezavi z načinom življenja, ki vključuje tudi druge pomembne dejavnike, kot so telesna dejavnost, socialni stiki ter obvladovanje stresa. Prav tako je pomembna tudi oskrba s hrano, kar lahko v živo občutimo danes, ko je pridelava hrane motena zaradi klimatskih sprememb ali vojne.

V zbornik je vključenih dvaindvajset predavanj, ki jih bodo predstavili tako domači, kot tudi tuji strokovnjaki. Predstavitve prispevkov smo razdelili na uvodni del, ki ga sestavljata dve plenarni predavanji kjer je prvo posvečeno klimatskim spremembam, ki otežujejo pridelavo in tudi predelavo hrane. Drugo plenarno predavanje predstavlja primer dobre prakse uporabe naj sodobnejših tehnologij v agroživilstvu v državi s cvetočim kmetijstvom, Izraelu. Po uvodnem delu sledijo trije različni sklopi predavanj oz. sekcije. Prva sekcija »**Živila**« predstavlja 'nove' kvarljivce grozdja in vina, ki so se pojavili zaradi podnebnih sprememb. Spremenjene podnebne spremembe narekujejo iskanje novih virov hrane, povečuje se trend iskanja mesnih nadomestkov. V nadaljevanju tuji in domači avtorji predstavljajo vpliv svetlobe kot dodatno osvetljevanje ali uporabo barvnih mrež na fiziološki odziv in s tem tudi izboljšano prehransko vrednost svežega sadja in zelenjave. Stranski proizvodi v živilstvu še vedno lahko predstavljajo zelo dober vir bioaktivnih komponent, ki jih lahko izkoristimo tudi v živilstvu. Podobno velja tudi za odpadno embalažo, ki predstavlja danes velik okoljevarstveni problem.

Poraja se vprašanje ali embalaža iz bio-osnovanih materialov lahko omili ta pereč problem.

Druga sekcija »**Hranila**« se posveča bioaktivnim spojinam v hrani. V tem sklopu je predstavljena starodavna metoda kaljenja semen za izboljšanje razpoložljivosti hranil. V nadaljevanju avtorica iz tujine predstavlja restrukturirane lipide kot boljšo alternativo do sedaj uporabljenim maščobam. Bioaktivne spojine v hrani, ki so manj znane, vendar prehransko pomembne so poliamini iz kalčkov in zelenjave, saj jih povezujejo tudi z dolgoživostjo. V prehrani ima prehranska vlaknina pomembno vlogo, pravzaprav je to vedno aktualna tema, saj je uživanje zadostne količine prehranske vlaknine povezano z manjšim tveganjem za nastanek kroničnih nenalezljivih bolezni. Zaključek sekcije je posvečen bioaktivnim spojinam - antioksidantom, ki jih avtorica preučuje v več projektih in kažejo vsestransko uporabo.

Tretja sekcija »**Prehrana prihodnosti**« je posvečena v prvi vrsti vplivu prehrane in ostalih dejavnikov na dolgoživost. Predstavljen je pomen keto diete ter vpliv fenolnih spojin na zdravje možganov. V nadaljevanju je s strani psihiatra predstavljena veda v poveljih, tako imenovana

'nutricionistična psihiatrija', ki preučuje povezavo med načinom prehranjevanja, počutjem in duševnim zdravjem.

Za prehrano prihodnosti je pomembno poznati značilnosti modrih con. Modre cone predstavljajo kraje, kjer živi največ stoletnikov, poznanih je pet modrih con. Bolj podrobno je predstavljena Okinawa, kjer slovenski študent opravlja doktorat znanosti.

Predstavljen je tudi pomen prehrane v prvih 8000 dneh življenja ter morebiten vpliv na dolgoživost. Prehrana še zdaleč ni edini faktor, ki vpliva na dolgoživost, zato smo med predavanja vključili tudi temo o pomenu telesne dejavnosti in stresa, ki predstavlja rak rano današnjega časa. Čisto za konec sledi pomemben uvid v prehrano in staranje s strani naše upokojene sodelavke.

V zborniku so poleg prispevkov predavateljev predstavljeni tudi nekateri pomembni dosežki študentov, ki so jih pripravili skupaj z mentorji. Med te smo vključili 6 krajših prispevkov, ki bodo na plakatih predstavili rezultate doktorskih, magistrskih, diplomskih ter projektnih nalog. Predstavljeni so tudi povzetki doktorskih del s področja živilstva in prehrane, ki so bila opravljena v obdobju 2015 do 2021.

V zborniku smo tako zbrali aktualne prispevke, ki predstavljajo kritičen pogled na živila, hranila in prehrano prihodnosti. Za prispevke se avtorjem iskreno zahvaljujem. Prav tako se najlepše zahvaljujem vsem recenzentom, kot tudi članom programskega in organizacijskega odbora ter sponzorjem, ki so izvedbo dogodka omogočili. Nenazadnje se zahvaljujem tudi sodelavcem Katedre za tehnologije rastlinskih živil in vina, ki so pomagali pri različnih dejavnostih. Za konec zahvala vsem udeležencem, ki ste s svojo aktivno udeležbo in prijetnim druženjem prispevali h kakovosti in diseminaciji aktualnih vsebin, predstavljenih na dogodku. Za sodelovanje pri pripravi Bitenčevih živilskih dnevov se zahvaljujem ARRS v okviru katerega deluje Programska skupina "Integrirano živilstvo in prehrana".

Prof. dr. Rajko Vidrih

PREHRANA V LUČI PODNEBNIH SPREMEMB

Tjaša POGAČAR¹ in Lučka KAJFEŽ BOGATAJ²

Povzetek: Soočanje prehranskega sistema s podnebnimi spremembami je ob izzivih tveganja podhranjenosti in pomanjkanja hranil pri ranljivejšem delu populacije ter negativnih vplivih na okolje izredno zahtevno. Prehranska varnost, ki temelji na štirih stebrih (razpoložljivost, dostopnost, uporabna vrednost in stabilnost hrane), je vpeta v zapletene povezave med podnebnim sistemom, ekosistemi in družbeno-ekonomskim sistemom. Prehranski sistem povzroča po ocenah IPCC 21-37 % emisij toplogrednih plinov, od tega je 10-14 % emisij iz pridelave na kmetijah, 5-14 % iz rabe zemljišč in sprememb rabe zemljišč in 5-10 % iz dejavnosti verige preskrbe s hrano. Rastlinski viri beljakovin imajo veliko nižji ogljični odtis kot živalski, vendar pa je v revnejših državah prehod v trajnostno živinorejo osrednjega pomena za spopadanje s prehransko varnostjo. Podnebne spremembe bodo vplivale na vse štiri stebre prehranske varnosti. Ob globalnem segrevanju, spremenjenih vzorcih padavin, pogostejših in intenzivnejših ekstremnih dogodkih in dvigu morske gladine so vplivi na pridelavo hrane, vsebnost hranil in distribucijo ter stabilnost že izraziti. Višja vsebnost CO₂ v ozračju lahko poveča fotosintezo, a tudi znatno zmanjša vsebnost cinka in železa pri stročnicah in C3 žitih, pri slednjih tudi vsebnost beljakovin. Tveganje pri tem ostaja neznatno le v razvitih državah, kjer je prehrana bogata z živili živalskega izvora. Segrevanje, ki je v Sloveniji še bolj izrazito od globalnega povprečja, pomeni daljšo rastno dobo, a hkrati tveganje pozeb, več generacij škodljivcev v istem letu, uspevanje tujerodnih invazivnih rastlin in plevelov. Pomembni so negativni vplivi vročinskih valov. Spremembe se kažejo tudi pri padavinah, a ne tako enoznačno. V Sloveniji pričakujemo spremenjene vzorce, več padavin pozimi (dež), poleti pa v obliki močnejši ploh z daljšimi vmesnimi sušnimi obdobji. IPCC kot najboljše ukrepe z vidika blaženja podnebnih sprememb in prilagajanja nanje izpostavlja upravljanje z ostanki in stranskimi produkti pridelkov, drevesno-pašno rabo kmetijskih zemljišč in zmanjševanje zavržene hrane. Ekstremni vremenski pojavi in ostali zaznani vplivi podnebnih sprememb nas neprestano opozarjajo, da je prehranski sistem ranljiv in je njegov trajnostni prehod nujen s stališča blaženja podnebnih sprememb in prilagajanja nanje, vendar pa z nenehno mislijo na socialno pravičnost.

Ključne besede: prehranska varnost, prehrana, podnebne spremembe, blaženje, prilagajanje

NUTRITION IN THE LIGHT OF CLIMATE CHANGE

Abstract Addressing climate change is a major challenge for the food system because of the risk of malnutrition and nutrient deficiencies among vulnerable populations and because of its negative impact on the environment. Food security, based on four pillars (availability, access, utilisation, and stability), is embedded in the complex interrelationships between the climate system, ecosystems, and the socioeconomic system. According to the IPCC, the food system is responsible for 21-37% of greenhouse gas emissions, including 10-14% from agricultural production, 5-14% from land use and land use change, and 5-10% from food supply chain activities. Plant protein sources have a much smaller carbon footprint than animal sources, but in poorer countries the transition to sustainable livestock production is essential to ensure food security. Climate change will impact all four pillars of food security. Through global warming, changing precipitation patterns, more frequent and intense extreme events, and sea level rise, impacts on food production, nutrient levels, distribution, and stability are already being felt. Higher atmospheric CO₂ concentrations can increase photosynthesis, but also significantly reduce the zinc and iron content of legumes and C3 cereals, and the protein content of the latter. Only in developed countries, where the diet is rich in food of animal origin, the risk remains insignificant. Warming, which is even more pronounced in Slovenia than in the global average, means a longer growing season, but also the risk of frost, several generations of pests in the same year, the spread of foreign invasive plants and weeds. The negative effects of heat waves are

¹ doc. dr., UL, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tjasa.pogacar@bf.uni-lj.si

² prof. dr., UL, Biotehniška fakulteta, Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: lucka.kajfez.bogataj@bf.uni-lj.si

significant. Changes in precipitation are also observed, but not as clearly. In Slovenia we expect changed patterns, more precipitation in winter (rain) and in summer in the form of heavier showers with longer dry periods in between. The IPCC highlights crop residue management, silvopastoral systems, and food waste reduction as the best mitigation and adaptation measures. Extreme weather events and other perceived climate change impacts are a constant reminder of the vulnerability of the food system and the need for its sustainable transition from a climate change mitigation and adaptation perspective, but always with social justice at the forefront.

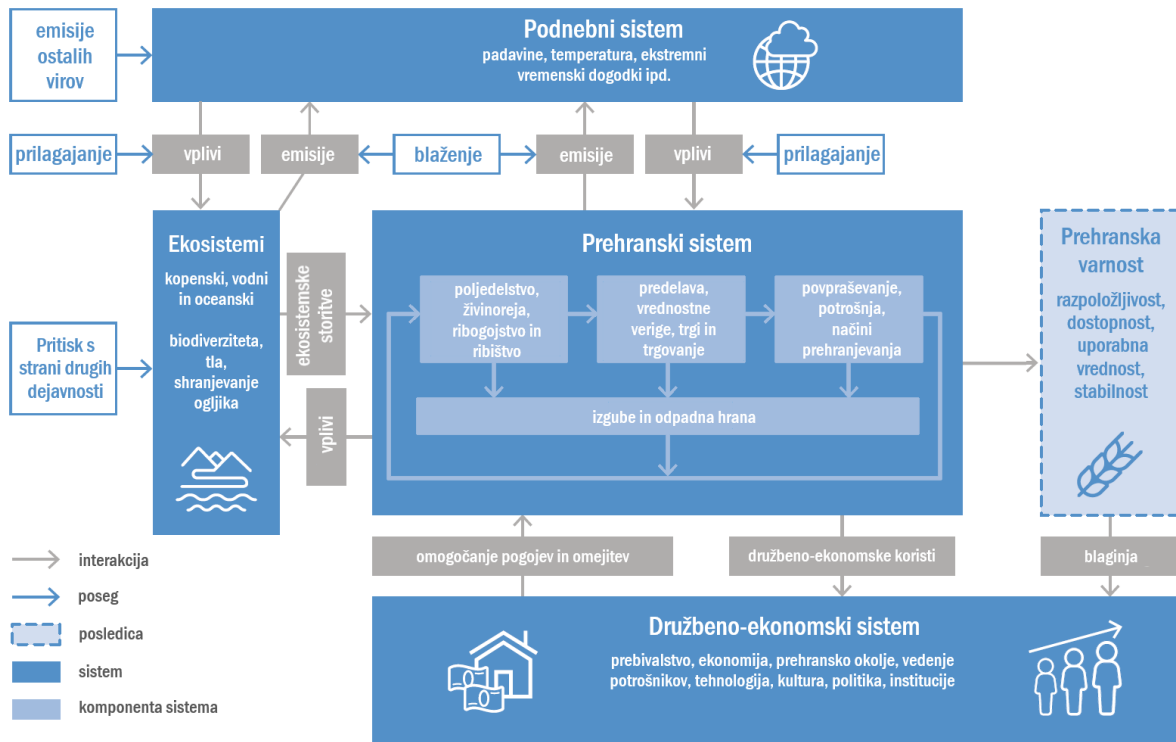
Key words: food security, nutrition, climate change, mitigation, adaptation, carbon footprint

1 UVOD

Prehranski sistem je vedno bolj podnebno ranljiv, hkrati pa je odgovoren za velik delež emisij, ki povzročajo podnebne spremembe (Mbow in sod., 2019). Ob soočanju z izzivom, kako do leta 2050 nahraniti okoli 9,6 milijarde ljudi, pri čemer je, predvsem v razvijajočih se delih sveta, okoli 9 % prebivalcev podhranjenih (Roser in Ritchie, 2019), se ne moremo izogniti kompromisom med kmetijsko pridelavo in ohranjanjem okolja (Ghosh in sod., 2022). Organizacija ZN za prehrano in kmetijstvo (FAO) ocenjuje, da bo treba do leta 2050 pridelati približno 50 % več hrane, pri tem pa pričakujemo izrazito povečanje emisij toplogrednih plinov in drugih negativnih vplivov na okolje, vključno z izgubo biotske raznovrstnosti, saj predvideva, da se bo površina obdelovalnih površin do leta 2050 povečala za 6 do 21 % glede na leto 2010, odvisno od scenarija podnebnih sprememb in razvojne poti (FAO, 2018). Dodatno težavo predstavlja pomanjkanje cinka in železa v prehrani, ki je velik svetovni problem javnega zdravja in zadeva okoli dve milijardi ljudi ter letno povzroči izgubo 63 milijonov življenj, pri čemer je večina teh ljudi odvisna od C3 žit in stročnic kot njihovega primarnega prehranskega vira cinka in železa (Myers in sod., 2014).

Prehranska varnost je dosežena, ko imajo vsi ljudje v vsakem trenutku fizični in ekonomski dostop do zadostne, varne in hranljive hrane za zadovoljitev svojih prehranskih potreb, kar jim omogoča aktivno in zdravo življenje (World Food Summit, 1996). Temelji na štirih stebrih: (i) razpoložljivost hrane; (ii) dostopnost hrane; (iii) uporabna vrednost hrane; in (iv) stabilnost hrane. Razpoložljivost hrane se nanaša na fizično prisotnost hrane s stališča pridelave, predelave, distribucije; dostopnost hrane zadeva zmožnost gospodinjstva, da pridobi ustrezne količine hrane; uporabnost hrane pomeni primerno hranilno vrednost in sposobnost posameznika, da absorbira in presnavlja hranila; stabilnost pa se nanaša na stanje, ko je hrana redno na voljo in cenovno dostopna (Ziervogel in Frayne, 2011). Prehranska varnost je rezultat prehranskega sistema, ki vodi k dobremu počutju ljudi, kar je skozi družbeno-ekonomski sistem posredno povezano tudi s podnebnim sistemom in ekosistemi: ukrepi prilagajanja lahko zmanjšajo negativne vplive podnebnih sprememb na prehranski sistem in ekosisteme, ukrepi blaženja pa zmanjšajo emisije toplogrednih plinov, ki prihajajo iz prehranskega sistema in ekosistemov (Slika 1) (Mbow in sod., 2019). Naraščanje ogljikovega dioksida (CO_2) v ozračju vpliva na biomaso in kakovost hrane, podnebne spremembe pa vplivajo na količino hrane, tako zaradi neposrednih vplivov na donos kot posrednih vplivov na razpoložljivost vode, opraševanje, škodljivce in bolezni; slabšajo se tudi razmere za transport in skladiščenje (Mbow in sod., 2019).

Kmetijski pridelki se bodo glede na projekcije podnebnih sprememb v naslednjih desetletjih v večini svetovnih regij zmanjšali na račun suš, poplav in drugih ekstremnih vremenskih dogodkov, dezertifikacije tal, dviga morske gladine in zasoljevanja tal ter posredno preko povečane pogostnosti bolezni in škodljivcev (Ringsmuth in sod., 2022). Poleg tega se bo konkurenca za rabo zemljišč zaostri zaradi nizkoogljikovega prehoda, saj uporaba obnovljivih virov zahteva prostrane površine (Otto in sod., 2020). Hkrati geopolitične krize krepijo motnje svetovnih oskrbovalnih verig in pomanjkanje hrane (Knaepen in Dekeyser, 2022).

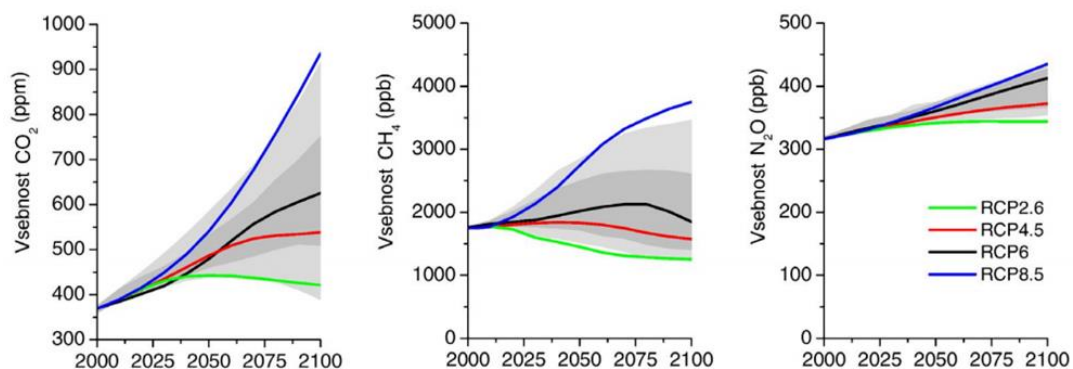


Slika 1: Povezave med podnebnim sistemom, prehranskim sistemom, ekosistemi in družbeno-ekonomskim sistemom. Sistemi delujejo na več ravneh, tako globalno kot regionalno (prirejeno po Mbow in sod., 2019)

V prispevku smo poskušali prikazati, kako prehranski sistem vpliva na podnebne spremembe in kako podnebne spremembe vplivajo na prehransko varnost. Z visoko zanesljivostjo predvidevamo, da bodo podnebne spremembe negativno vplivale na vse štiri stebre prehranske varnosti (FAO, 2018). Boljše razumevanje povezav med podnebnimi spremembami in prehrano pa je ključnega pomena za razvoj učinkovitih intervencij za zagotovitev dostopa svetovnega prebivalstva do zadostne, varne in hranljive hrane (Fanzo in sod., 2018).

2 VPLIV PREHRANSKEGA SISTEMA NA PODNEBNE SPREMEMBE

Prekomerno povečane vsebnosti toplogrednih plinov povzročajo globalno segrevanje in posledično podnebne spremembe. Glavni predstavniki toplogrednih plinov so (poleg vodne pare) CO₂, metan (CH₄) in didušikov oksid (N₂O).



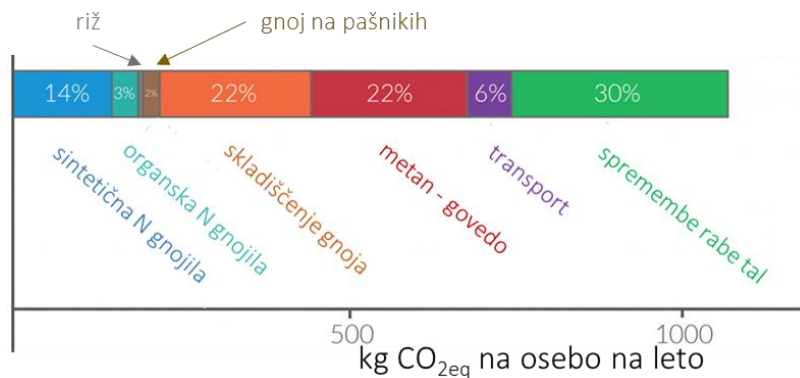
Slika 2: Scenariji vsebnosti toplogrednih plinov v ozračju do konca stoletja (Bertalanich in sod., 2018; prirejeno po van Vuuren in sod., 2011)

RCP (*angl. radiative concentration pathway*) scenariji prikazujejo različne možne spremembe vsebnosti toplogrednih plinov v ozračju do konca stoletja: od optimističnega RCP2.6 do pesimističnega RCP8.5 (Slika 2) v odvisnosti od smeri razvoja družbe v prihodnosti. Vpliv različnih toplogrednih plinov lahko s pomočjo toplogrednega potenciala in življenjske dobe preračunamo v ekvivalent ogljikovega dioksida ($\text{CO}_{2\text{eq}}$). Podrobneje govorimo le o ogljičnem odtisu, sicer pa povzroča prehranski sistem predvsem preko kmetijske pridelave pomemben negativen pritisk na naravne vire: kmetijstvo zaseda 50 % kopnega (brez ledu in puščav), porablja 70 % vode in je odgovorno za 78 % evtrofikacije (Roser in Ritchie, 2020).

Po ocenah IPCC (*angl. intergovernmental panel on climate change*) (Mbow in sod., 2019) lahko s srednjo zanesljivostjo pripišemo prehranskemu sistemu 21-37 % skupnih emisij toplogrednih plinov, pri čemer je emisij na kmetijah 10-14 % (visoka zanesljivost), emisij iz rabe zemljišč in sprememb rabe zemljišč, kot sta krčenje gozdov in degradacija šotišč 5-14 % (visoka zanesljivost), emisij iz dejavnosti verige preskrbe s hrano, kot so skladiščenje, predelava, transport in maloprodaja pa 5-10 % (omejeni dokazi, srednja zanesljivost). Emisije iz izgub in odpadkov hrane so implicitno vključene v skupne emisije in predstavljajo 8-10 % skupnih antropogenih emisij toplogrednih plinov (nizka zanesljivost) (FAO, 2013). V Sloveniji je po podatkih Statističnega urada (SURS) v letu 2019 vsak Slovenec zavrgel 67 kg hrane, od tega 26 kg še užitne.

Glede na posamezne toplogredne pline na kmetijah, je v poljedelstvu glavni vir emisij CH_4 pridelava riža, emisij CO_2 sprememba rabe tal (šotišča, deforestacija) in emisij N_2O sintetična gnojila; v živinoreji sta izredno velika vira emisij CH_4 fermentacija v prebavilih goveda in skladiščenje živinskih gnojil (ERS, 2021). Ribogojstvo in ribištvo prispevata okoli 10 % emisij: N_2O iz uporabe gnojil za prehrano in CO_2 iz ladijske porabe goriva (Mbow in sod., 2019). V Sloveniji je bil po podatkih Kmetijskega inštituta (KIS, 2021) prispevek kmetijstva k skupnim emisijam 10,1 % (v letu 2019), največ na račun emisij CH_4 pri fermentaciji v prebavilih živine in pri skladiščenju živinskih gnojil.

Po nekoliko drugačni delitvi (Roser in Ritchie, 2020) pripišemo prehranskemu sistemu 26 % vseh emisij, ki jih razdelimo na živinorejo in ribištvo (31 % - brez sprememb rabe tal in pridelave hrane za živali), poljedelstvo (27 % - 21% pridelava hrane za ljudi, 6 % za živali), rabo tal (24 % - spremembe rabe tal, požiganje, oranje) in dobavno verigo (18 % - 6 % od tega transport), ki je velikega pomena za zmanjševanje izgub. Za večino živil, še posebej za največje onesnaževalce, je večina emisij toplogrednih plinov posledica sprememb rabe zemljišč in procesov na kmetiji (skladiščenje gnoja, uporaba gnojil, fermentacija v prebavilih živine) (povprečje za EU: Slika 3).



Slika 3: EU povprečje deležev emisij toplogrednih plinov (preračunanih na CO_{2eq}) iz prehranskega sistema (prirejeno po Roser in Ritchie, 2020; iz podatkov Sandström in sod., 2018)

Večino naših prehranskih emisij predstavljajo živila, bogata z beljakovinami; v evropski prehrani 83 % sestavljajo meso, mlečni izdelki in jajca. Po podatkih zelo obsežne meta analize globalnih prehranskih sistemov (Poore in Nemecek, 2018) več kot 38.000 komercialnih kmetij iz 119 držav imajo najnižji ogljični odtis rastlinski viri beljakovin (tofu, fižol, grah in oreščki), kar velja tako za povprečne emisije, kot tudi za skrajnosti med najslabšimi in najboljšimi pridelovalci: največje emisije pri pridelavi graha so 0,8 kg CO_{2eq} na 100 g beljakovin, oreščkov 2,4 kg CO_{2eq}, tofuja pa 3,5 kg CO_{2eq}. Vse so nekajkrat manjše od emisij jagnjetine z najmanjšim vplivom (12 kg CO_{2eq}) ali govejega mesa (9 kg CO_{2eq}) in nekoliko nižje ali primerljive z emisijami piščanca z najnižjim odtisom (2,4 kg CO_{2eq}). Ne glede na to, od kod dobimo govedino ali jagnjetino, bo zamenjava s piščancem in svinjino verjetno zmanjšala ogljični odtis, poleg tega je jesti manj mesa skoraj vedno bolje kot jesti najbolj trajnostno in lokalno meso. Kljub delnim prizadevanjem za zmanjšanje prekomerne porabe mesa in mlečnih izdelkov na globalnem severu pa so živali pomemben vir prehrane in prehranske varnosti v državah z nizkimi dohodki, zlasti v podsaharski Afriki, zato bo tam prehod v trajnostno živinorejo osrednjega pomena za spopadanje s prehransko varnostjo (DW, 2021).

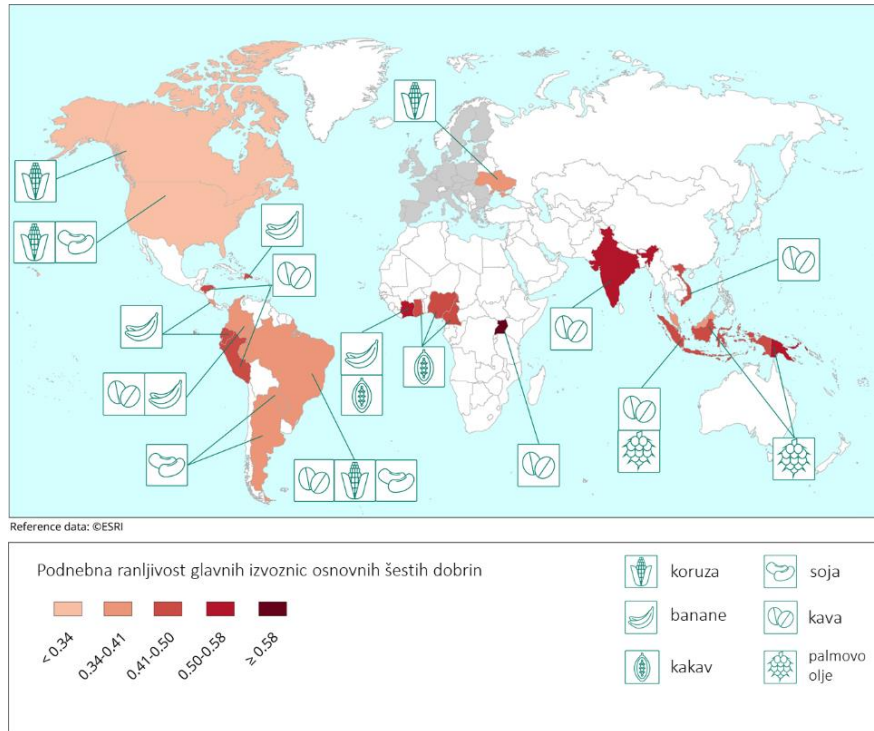
3 VPLIV PODNEBNIH SPREMEMB NA PREHRANSKO VARNOST

Podnebne spremembe bodo vplivale na vse štiri stebre prehranske varnosti: razpoložljivost, dostopnost in porabo hrane ter stabilnost prehranskih sistemov. Ob globalnem segrevanju pogostejši in intenzivnejši ekstremni vremenski pojavi (suše, vročina in pozeba, močne nevihte, toča, poplave), dvig morske gladine in spremenjeni vzorci sezonskih padavin že neposredno vplivajo ne le na proizvodnjo hrane, temveč tudi na distribucijo hrane, pojavnost nujnih primerov pomanjkanja hrane ter sredstva za preživetje in zdravje ljudi (Preglednica 1).

Preglednica 1: Primeri vplivov podnebnih sprememb na stebre prehranske varnosti (prirejeno po Mbow in sod., 2019)

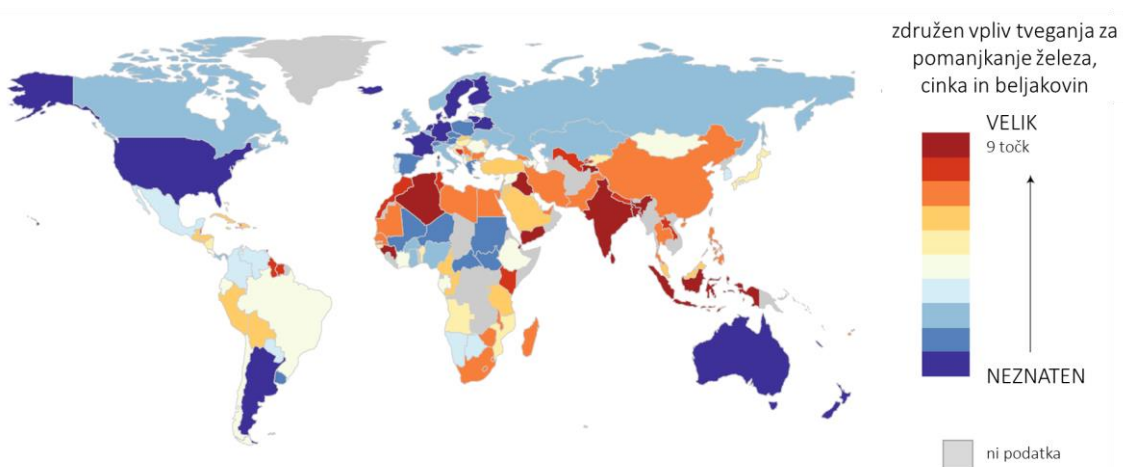
Steber prehranske varnosti	Primeri vplivov podnebnih sprememb
Razpoložljivost	Zmanjšanje donosov v poljedelstvu in živinoreji
	Zmanjšanje donosov zaradi pomanjkanja oprasovalcev; več škodljivcev in boleznih rastlin
	Vpliv zmanjšanja kvalitete živil (npr. kvarjenje hrane in izgube zaradi mikotoksinov)
Dostopnost	Vplivi podnebnih sprememb (npr. poplav) na dobavne verige in shranjevanje hrane
	Zmanjšanje donosov, spremembe virov zaslužka kmetovalcev, omejitve zmožnosti nakupa hrane
	Učinki naraščanja in skokov cene živil na potrošnike z nizkimi dohodki (zlasti ženske in otroke) zaradi pomanjkanja sredstev za nakup hrane
Uporabna vrednost	Učinki povečane frekvence ekstremnih dogodkov na zaloge hrane, motnje trgovanja in transportne infrastrukture
	Vplivi na prehransko varnost zaradi povečane razširjenosti mikroorganizmov in toksinov
	Zmanjšanje prehranske vrednosti živil zaradi naraščajočih vrednosti atmosferskega CO ₂
Stabilnost	Povečana izpostavljenost driski in drugim nalezljivim boleznim zaradi povečanega poplavnega tveganja
	Večja nestabilnost oskrbe s hrano zaradi povečane pogostosti in intenzitete ekstremnih vremenskih dogodkov; naraščanje in skoki v ceni hrane, nestabilnost prihodkov
	Prostorsko-obsežen izpad pridelka kot vzrok za migracije in politične konflikte
Združeni sistemski vplivi	Povečanje podhranjenosti prebivalstva zaradi vplivov podnebnih sprememb na prehranski sistem
	Povečanje debelosti in slabšanje zdravja prebivalstva zaradi ozke usmerjenosti na majhno število monokultur
	Povečana degradacija okolja in emisije toplogrednih plinov
	Vse večja prehranska negotovost zaradi tekmovanja za nadzor nad ozemlji in naravnimi viri (npr. za blaženje PS na kopnem)

WFP (2014) je definirala stopnjo ranljivosti prehranske varnosti za ponazoritev zapletene interakcije s podnebnimi spremembami. Analiza temelji na 17 kazalnikih izpostavljenosti, občutljivosti in zmožnosti prilagajanja, ki po metodologiji IPCC skupno opredelijo ranljivost. Z zelo visoko in visoko ranljivostjo močno izstopata Afrika in Azija. Evropa je bolj ranljiva posredno, kot uvoznica osnovnih pridelkov iz podnebno ranljivih območij. Osnovnih šest dobrin: koruzo, banane, kakav, sojo, kavo in palmovo olje uvažamo iz držav, ki so z izjemo ZDA zelo podnebno ranljive (Slika 4).



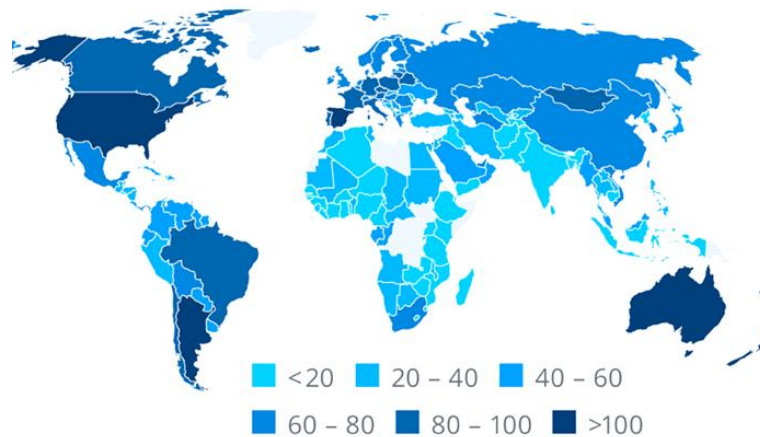
Slika 4: Podnebna ranljivost (višja vrednost pomeni večjo ranljivost) izvoznih osnovnih dobrin v EU (prirejeno po Arvis in sod., 2020)

Že samo naraščanje vsebnosti CO_2 v ozračju ima na rast pridelkov zelo negotov vpliv. Višje ravni bi lahko povečale fotosintezo, a znatno zmanjšale hranilne vrednosti pridelkov. Pri C3 žitih (pšenica, riž, ječmen) in stročnicah pričakujemo v sredini stoletja nižje koncentracije cinka in železa, pri C3 rastlinah tudi beljakovin (Myers in sod. 2014). Ugotovili so, da se bo pri povišanih koncentracijah CO_2 vsebnost beljakovin v rižu, pšenici, ječmenu in krompirju zmanjšala za 7,6 %, 7,8 %, 14,1 % oziroma 6,4 %, vsebnost cinka se bo najbolj zmanjšala pri pšenici za okoli 9 %, vsebnost železa pri vseh za okoli 5 %. Pri povečanju koncentracije CO_2 na 550 ppm bodo z visoko zanesljivostjo največjemu tveganju za pomanjkanje železa, cinka in beljakovin izpostavljene Indija, Kitajska, Bližnji vzhod, S in V Afrika ter JV Azija (Slika 5).



Slika 5: Združeno tveganje za pomanjkanje železa, cinka in beljakovin (prirejeno po Smith in Myers, 2018)

Na teh območjih so ljudje pri vnosu mikrohranil v veliki meri odvisni od C3 žit (pšenica in riž) in stročnic, ki z naraščanjem koncentracije CO₂ izgubljajo hranilno vrednost, vnos živil živalskega izvora pa je majhen (Slika 6) - na svetovni ravni 76 % prebivalstva večino dnevnik beljakovin pridobiva iz rastlin (Smith in Myers, 2018).



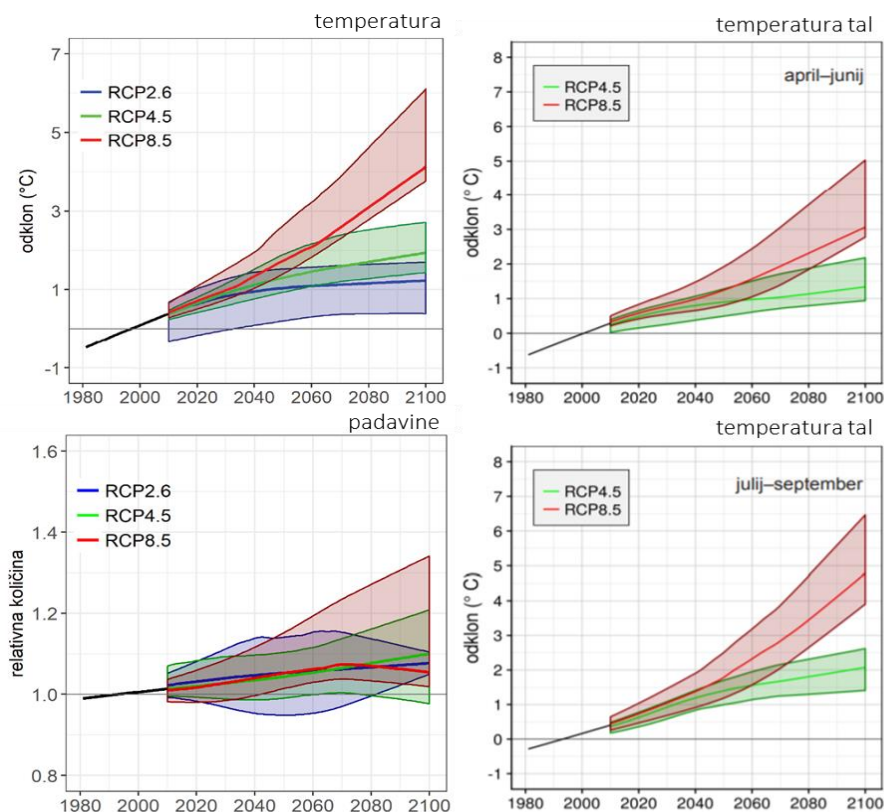
Slika 6: Poraba mesa v kg letno na prebivalca (Meat Atlas/OWID, 2021)

Po drugi strani je tveganje za takšno pomanjkanje neznatno v državah S in J Amerike in Z Evrope, kjer je prehrana bogata z živili živalskega izvora, manjše pa je tudi tveganje v srednji in Z Afriki, kjer so prehransko bolj odvisni od žit, ki niso občutljiva na dvig koncentracije CO_{2eq} (koruza, proso, sirek) (Smith in Myers, 2018).

Globalno segrevanje sicer v srednjih in visokih zemljepisnih širinah lahko pomeni pozitiven vpliv na pridelavo z daljšanjem rastne dobe, a z nevarnostjo poznih pozeb, nasprotno pa ima negativen vpliv v sezonsko sušnih in tropskih regijah (Maracchi in sod., 2005). Z naraščanjem temperature po vsem svetu narašča tudi populacija žuželk, zlasti škodljivcev, pri katerih je potrebno zatirati več generacij (več fitofarmaceutskih sredstev). Ker so pleveli ali invazivne tujerodne rastline večkrat bolj odporni na podnebne spremembe, dobro uspevajo ter porabljajo prostor, vodo in hranila.

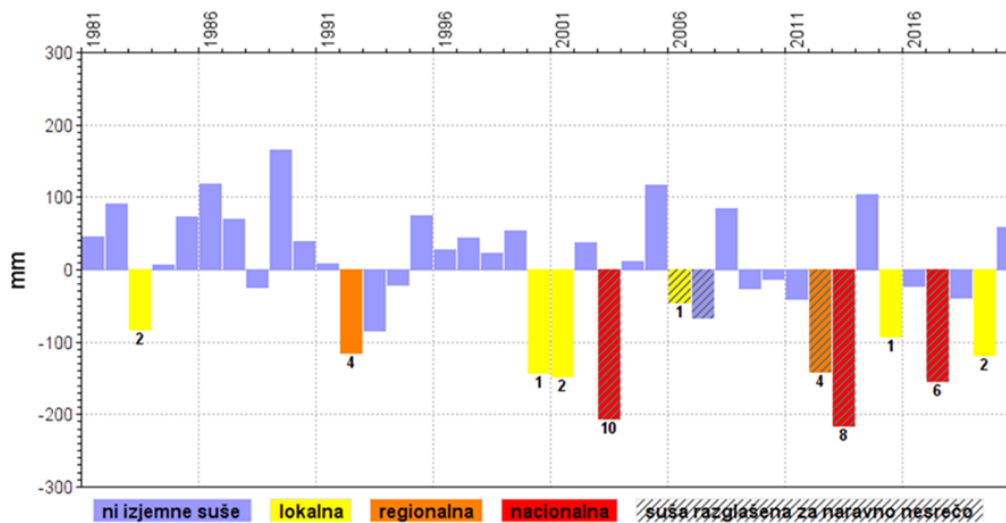
V Sloveniji (Bertalanich in sod., 2018) temperatura zraka narašča hitreje od globalnega in evropskega povprečja, od leta 1960 se je letno povprečje dvignilo že za 2 °C, po zmerno optimističnem scenariju RCP4.5 pričakujemo do konca stoletja dvig za 1,5 do 2,6 °C glede na primerjalno obdobje 1981–2010 (visoko zanesljivo; Slika 7 levo zgoraj). Prav tako pričakujemo dvig temperature tal, v poletnih mesecih še precej bolj kot v pomladnih, za 1,9 do 2,1 °C (Slika 7 desno). Pri temperaturi praga 5 °C se bo po RCP4.5 dolžina rastne dobe do konca stoletja na večini obravnavanih lokacij v Sloveniji podaljšala za 19 do 26 dni (Bertalanich in sod., 2018). Hitre otoplitve in pozni vdori mrzlega zraka povzročajo težave predvsem v sadjarstvu in vinogradništvu, po letu 2010 smo imeli hujše pozebe in velike izpade pridelka v letih 2012, 2016, 2017, 2020 in 2021. Pri zadnji je bila škoda ocenjena na 50 milijonov evrov. Vročinski valovi so postali intenzivnejši, daljši, pogostejši, enako kažejo tudi projekcije do konca stoletja, s tem pa se stopnjuje vročinski stres, ki negativno vpliva na ljudi, živali in rastline (Pogačar in sod., 2018). Višje temperature okolja ustvarjajo ugodne pogoje za razmnoževanje mikroorganizmov: med povzročitelji, ki povzročajo črevesne okužbe in so odvisni od

temperature okolja, sta najpogostejši *Salmonella* in *Campylobacter*, pa tudi *Listeria*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* in drugi (NIJZ, 2022).



Slika 7: Projekcije podnebnih sprememb za Slovenijo do konca stoletja – odkloni glede na primerjalno obdobje 1981–2010: povprečna letna temperatura zraka (levo zgoraj), povprečna temperatura tal spomladi (desno zgoraj), povprečna temperatura tal poleti (desno spodaj) in povprečna letna količina padavin (levo spodaj) (Bertalanič in sod., 2018)

Voda je najbolj omejujoč dejavnik pri rasti pridelkov po vsem svetu. Prava količina vode je v kmetijstvu ključnega pomena, zato težave predstavljajo tako pogostejše suše kot tudi poplave. V severnem delu Evrope pričakujemo večje količine padavin, v južnem pa manjše. V Sloveniji pri padavinah signal nikakor ni tako enoznačen kot pri temperaturi. V primeru obeh scenarijev izpustov bo povprečno povečanje letnih padavin konec stoletja v primerjavi z obdobjem 1981–2010 do 20 % (Slika 7 levo spodaj) (Bertalanič in sod., 2018). Bolj kot spremenjeno količino padavin opazamo in pričakujemo spremenjene vzorce, kar pomeni pozimi več padavin, vendar v obliki dežja, poleti pa padavine v obliki močnejši ploh, neurij z daljšimi vmesnimi obdobji brez padavin. Oboje pomeni težave z vodnimi zalogami. Pozimi to vlogo v veliki meri opravlja snežna odeja, ki se v hribovitem svetu dolgo zadrži, vendar pa do konca stoletja lahko pričakujemo zmanjšanje števila dni s snežno odejo za 30-57 dni (po RCP4.5, na nadmorski višini 900-1200 m) (OPS, 2021). Poleti tla vodo težko zadržijo, če so precej izsušena, saj velik del padavin odteče, sploh če so padavine močnejše. V zadnjem obdobju (po letu 2000) opazamo več suš, najizrazitejše na nacionalni ravni so bile v letih 2003, 2013 in 2017, pet suš je bilo v razsežnosti naravne nesreče (Slika 8).



Slika 8: Vrednosti povprečne poletne (junij-avgust) meteorološke vodne bilance (razlike med količino padavin in evapotranspiracijo) za Slovenijo v obdobju 1981–2020 in število regij z izjemno kmetijsko sušo v posameznem letu (ARSO, 2021)

Večino presežka toplote zaradi globalnega segrevanja absorbirajo oceani zaradi svoje velike toplotne kapacitete. Zato so danes toplejši kot kdaj koli prej, odkar so se leta 1880 začele meritve (Mbow in sod., 2019), pri tem pa toplejše vode med drugim spremenijo čas selitve in razmnoževanja rib, vključno z njihovo presnovo, zaradi česar absorbirajo več živega srebra. Podnebne spremembe vplivajo tudi na prisotnost fitoplanktona, ki je prehrana številnih morskih organizmov, ta pa lahko proizvaja toksine, ki povzročajo zastrupitve z morskimi sadeži ali pa vplivajo na zdravje kopalcev (NIJZ, 2022).

4 BLAŽENJE IN PRILAGAJANJE

Blaženje podnebnih sprememb pomeni izvajanje ukrepov, ki zmanjšujejo izpuste toplogrednih plinov, prilagajanje nanje pa izvajanje ukrepov, ki zmanjšujejo prizadetost zaradi podnebnih sprememb. Nikakor ne obstajajo enotni načini blaženja in prilagajanja za vse, vendar pa so lahko pristopi v različnih regijah in sektorjih podobni. Ukrepi se lahko nanašajo na katerega koli od štirih stebrov prehranske varnosti ali na združene sistemske vplive (Preglednica 2).

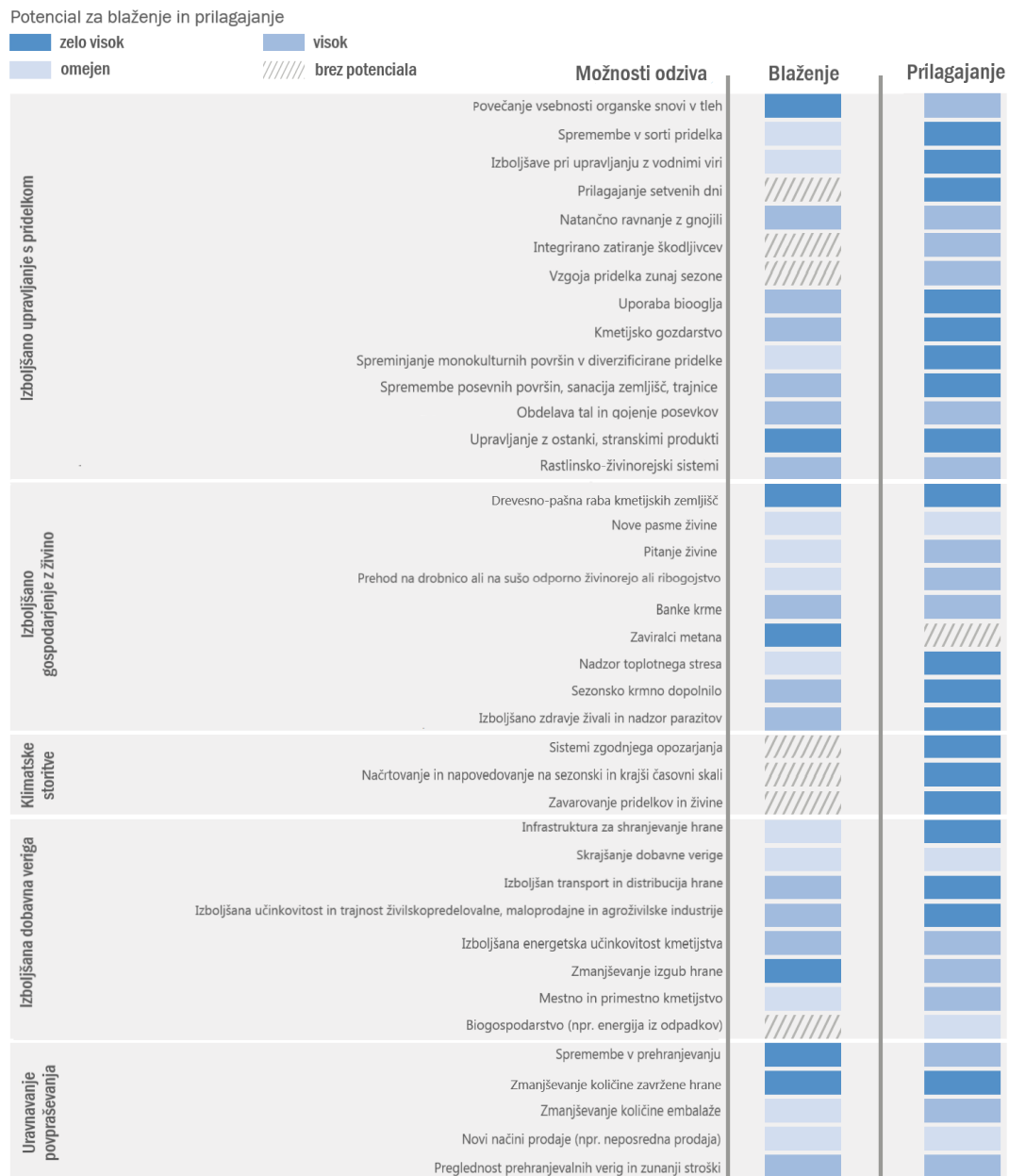
Preglednica 2: Primeri ukrepov blaženja podnebnih sprememb in prilagajanja nanje glede na stebre prehranske varnosti (prirejeno po Mbow in sod., 2019)

Steber prehranske varnosti	Primeri prilagajanja in blaženja
Razpoložljivost	Razvijanje novih praks in postopkov za prilagajanje
	Uporaba novih tehnologij, novejših in zapostavljenih sort
	Uporaba združenih praks za povečanje odpornosti, izboljšave pri shranjevanju hrane
	Zmanjševanje potreb po hrani z zmanjšanjem izgub in zavržene hrane ter s spremembo načina prehranjevanja
	Odpravljanje vrzeli v produktivnosti poljedelstva in živinoreje
	Obvladovanje tveganja, vključno s tržnimi mehanizmi, finančno zavarovanje
Dostopnost	Integrirane kmetijske prakse za stabilne vire zaslužka pri pridelovalcih hrane
	Povečanje učinkovitosti dobavne verige (npr. zmanjševanje izgub in odpadne hrane)
	Izboljšana odpornost prehranskega sistema na vplive podnebja, skrajšane dobavne verige, sprememba v načinih prehranjevanja, spremembe trga
Uporabna vrednost	Izboljšano skladiščenje in hlajenje
	Uporaba prilagodljivih sort poljščin in živine, zdrava prehrana, izboljšanje sanitarnih pogojev
Stabilnost	Odpornost prek integriranih sistemov in praks, raznolikega lokalnega kmetijstva, infrastrukturnih naložb, spreminjanja trgov in načinov trgovanja, zmanjševanja izgub in odpadne hrane
	Zavarovanje pridelkov za kmete kot način spoprijemanja z ekstremnimi vremenskimi dogodki
	Izgradnja kapacitet za razvoj odpornih sistemov
Združeni sistemski vplivi	Povečana produktivnost in učinkovitost prehranskega sistema (npr. zmanjšanje odpadkov, sprememba načinov prehranjevanja)
	Spodbujanje pridelave zdravih živil in zmanjševanje uporabe energijsko potratnih izdelkov
	Razvoj podnebno-pametnih prehrabnih sistemov z zmanjševanjem emisij toplogrednih plinov, krepitevijo odpornosti in prilagajanja podnebnim spremembam
	Upravljanje in institucionalni odzivi (vključno s pomočjo v obliki hrane), ki upoštevajo spol in enakost

V središču Evropskega zelenega dogovora, ki določa, kako naj bi Evropa do leta 2050 postala prva podnebno nevtralna celina, je strategija »od vil do vilic« (povzeto v Care4Climate, 2020), ki glede izzivov trajnostnih prehranskih sistemov določa:

- zagotavljanje trajnostne proizvodnje hrane,
- zagotavljanje prehranske varnosti,
- spodbujanje trajnostne porabe hrane, trgovine na debelo, trgovine na drobno, gostinstva in živilsko-storitvenih praks,
- spodbujanje trajnostne porabe hrane ter omogočanje prehoda na zdrave in trajnostne načine prehranjevanja,
- zmanjšanje izgub hrane in količin odpadne hrane,
- preprečevanje goljufij s hrano vzdolž verige preskrbe s hrano.

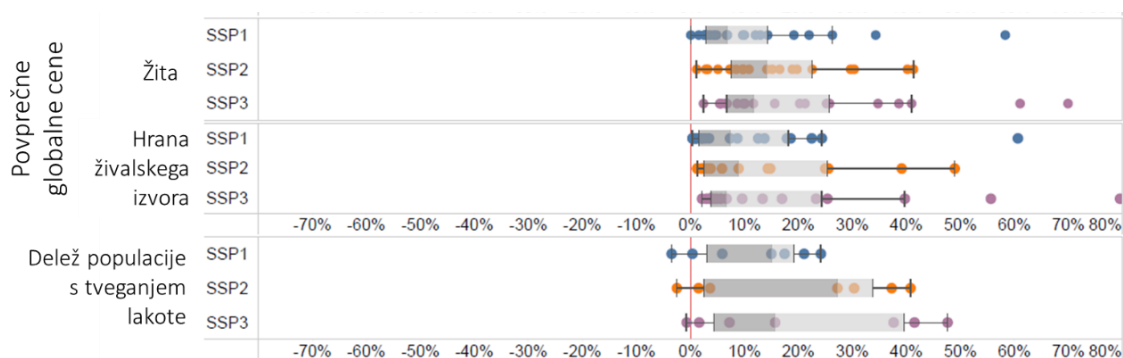
Primer blaženja in prilagajanja prehranskega sistema v mestu Amsterdam povzema O'Connor (2020): ker je zmanjševanje emisij toplogrednih plinov strateškega pomena, si bo mesto prizadevalo za povezovanje med pridelovalci lokalne hrane in trgovci na drobno, pri čemer je pomembna transparentnost (z digitalnimi potrdili) dobavne verige in spoštovanje človekovih pravic v vseh korakih. Prednost bodo imeli pridelovalci, ki skrbijo za podpiranje biotske raznovrstnosti, meščane pa bodo spodbujali k lastni pridelavi hrane (projekt Amsterdam Balcony Garden). Spodbujali bodo k uporabi biološko razgradljive embalaže in zmanjševanju odpadkov v celotni verigi, pri čemer ocenjujejo, da bo ta prehod trajal dlje zaradi višjih cen in zaskrbljenosti uporabnikov glede higiene pri ponovni uporabi. Do leta 2030 želi mesto zmanjšati količino zavržene hrane za 50 %, predvsem s posredovanjem presežkov tistim, ki hrano potrebujejo. Dodatno pozivajo k zmanjševanju porabe mesa ter uporabi čim bolj zdravih, kakovostnih sestavin.



Slika 9: Mogoči odzivi prehranskega sistema in njihov potencial za blaženje in prilagajanje (prirejeno po Mbow in sod., 2019)

Nekateri ukrepi predstavljajo le blaženje, drugi le prilagajanje na podnebne spremembe, najbolj pa si lahko želimo ukrepov, ki delujejo na obeh ravneh in tudi takih je v okviru prehranskega sistema na izbiro kar precej (Slika 9). Kot najboljše z obeh vidikov lahko izpostavimo upravljanje z ostanki in stranskimi produkti pridelkov, drevesno-pašno rabo kmetijskih zemljišč in zmanjševanje zavržene hrane. Dobre prakse so prisotne tudi v Sloveniji. Organizacija Green Destinations je Tržnico na borjaču v občini Ajdovščina uvrstila na seznam najboljših 100 trajnostnih zgodb na podlagi pristopa, ki ustvarja kakovostno okolje za lokalno prebivalstvo in hkrati nudi atraktivno izkušnjo za obiskovalce, poleg tržnice pa so se na seznam s stališča prehranskega sistema uvrstili še Logarska dolina - Solčavsko s prizadevanjem za krajše nabavne verige in promocijo lokalne hrane, Ljubljana s projektom združevanja kulinarike in kulture KulKul trenutek in Miren - Kras s projektom promocije kulinarčne dediščine špargljev (Care4Climate, 2022).

Pri uvajanju ukrepov blaženja in prilagajanja pa moramo vedno gledati tudi širšo sliko, zadnje raziskave namreč kažejo, da bodo lahko ukrepi blaženja podnebnih sprememb globalno negativno vplivali na povprečne cene in povečali delež populacije s tveganjem lakote (Slika 10), na kar moramo biti še posebej pozorni.



Slika 10: Modelske projekcije (AgMIP Global Economic Model Analysis) povprečnih globalnih cen in deleža populacije s tveganjem lakote. Rdeča navpična črta predstavlja stanje v letu 2050 brez blaženja podnebnih sprememb, predstavljene so tri poti skupnega družbeno-ekonomskega razvoja: SSP1 – trajnostni razvoj, SSP2 – srednja pot, SSP3 – regionalno tekmovanje (skalnata pot) (prirejeno po Hasegawa in sod., 2018)

5 ZAKLJUČEK

Evropski zeleni dogovor je priložnost, da prehranski sistem uskladimo s potrebami planeta ter se pozitivno odzovemo na želje Evropejcev po zdravi, pravični in okolju prijazni hrani (Care4Climate, 2020). Ne moremo zanikati izredne medsebojne povezanosti našega zdravja, ekosistemov, dobavnih verig, vzorcev potrošnje in meja zmogljivosti planeta. Ekstremni vremenski pojavi in ostali zaznani vplivi podnebnih sprememb nas neprestano opozarjajo, da je prehranski sistem ranljiv in mora zato postati bolj trajnosten in odporen. Tako v Evropi kot globalno je trajnostni prehod prehranskega sistema nujen s stališča blaženja podnebnih sprememb in prilagajanja nanje, vendar pa z nenehno mislijo na socialno pravičnost.

6 VIRI

- ARSO. 2021. Kazalci okolja: kmetijske suše. <http://kazalci.arso.gov.si/sl/content/kmetijske-suse> (maj 2022)
- Arvis B., Simonet C., Dubois G., Ceron J.-P., Bourkane I. 2020. Consequences of global climate change and their impacts on Europe - a view on agricultural commodities. Report for the European Environment Agency, Ramboll France, Aix-en-Provence: 39 str. https://ramboll.com/-/media/files/reh/consequences-of-global-climate-change-and-their-impacts-on-europe_agriculture-commodities_final.pdf?la=en (maj 2022)
- Bertalanč R., Dolinar M., Draksler A., Honzak L., Kobold M. in sod. 2018. Ocena podnebnih sprememb v Sloveniji do konca 21. stoletja: Sintezno poročilo. Dolinar M. (ur.). Ljubljana, Ministrstvo za okolje in prostor, Agencija Republike Slovenije za okolje: 156 str.
- Care4Climate. 2020. Evropski zeleni dogovor: Strategija od vil do vilic. <https://www.care4climate.si/sl/novice/vse-novice/evropski-zeleni-dogovor-strategija-od-vil-do-vilic> (maj 2022)
- Care4Climate. 2022. Dobre prakse. <https://samo1planet.si/dobre-prakse/trznica-na-borjacu-uvrscena-med-sest-najboljsih-trajnostnih-zgodb-na-svetu/> (maj 2022)
- DW. 2021. How to feed the world amid COVID and climate crises. <https://www.dw.com/en/how-to-feed-the-world-amid-covid-and-climate-crises/a-56284066> (maj 2022)
- Ghosh R.K., Otto I.M., Rommel J. 2022. Editorial: Food Security, Agricultural Productivity, and the Environment: Economic, Sustainability, and Policy Perspectives. *Front. Environ. Sci.* doi: 10.3389/fenvs.2022.916272
- ERS (Evropsko računsko sodišče). 2021. Posebno poročilo 16/2021 o skupni kmetijski politiki in podnebnju. <https://op.europa.eu/webpub/eca/special-reports/cap-and-climate-16-2021/sl/> (maj 2022)
- Fanzo J., Davis C., McLaren R., Choufani J. 2018. The effect of climate change across food systems: Implications for nutrition outcomes. *Global Food Security*, 18: 12-19
- FAO. 2013. Food Wastage Footprint. Impacts on Natural Resources. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 63 str.
- FAO. 2018. The Future of Food and Agriculture: Alternative Pathways to 2050. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 228 str.
- Hasegawa T., Fujimori S., Havlik P., Valin H., Bodirsky B.L. in sod. 2018: Risk of increased food insecurity under stringent global climate change mitigation policy. *Nat. Clim. Chang.*, 8: 699–703, doi:10.1038/s41558-018-0230-x
- KIS. 2021. Zaključno poročilo o izvedbi raziskovalnega projekta Zmanjševanje izpustov toplogrednih plinov in amonijaka na kmetijskih gospodarstvih. Ljubljana, 67 str. https://www.kis.si/f/docs/CRP_OZ/Zakljucno_porocilo_TGP_V4-1816.pdf (junij 2022)
- Knaepen H., Dekeyser K. 2022. Russia's Invasion Leaves North Africa with a Food Crisis: What Can Europe Do? <https://www.cascades.eu/russias-invasion-leaves-north-africa-with-a-food-crisis-what-can-europe-do/> (maj 2022)
- Maracchi G., Sirotenko O., Bindi M. 2005. Impacts of present and future climate variability on agriculture and forestry in the temperate regions: Europe. *Clim. Change* 70: 117-135
- Mbow C., Rosenzweig C., Barioni L.G., Benton T.G., Herrero M. in sod. 2019. Food Security. V: Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems. Shukla P.R., Skea J., Calvo Buendia E., Masson-Delmotte V. in sod. (ur.): 437-550
- Meat Atlas/OWID. 2021. <https://eu.boell.org/en/MeatAtlas> (maj 2022)
- Myers S.S., Zanobetti A., Kloog I., Huybers P.J., Leakey A.D. in sod. 2014. Increasing CO2 threatens human nutrition. *Nature*, 510: 139-142
- NIJZ. 2022. Hrana, zdravje in podnebne spremembe. <https://www.nijz.si/sl/hrana-zdravje-in-podnebne-spremembe> (maj 2022)
- O'Connor N. 2020. Food Trend Implications of the Doughnut Economic Model (Amsterdam). <https://www.bordbia.ie/industry/news/food-alerts/2020/food-trend-implications-of-the-doughnut-economic-model-amsterdam/> (maj 2022)

- OPS. 2021. Ocena podnebnih sprememb do konca 21. stoletja, atlas projekcij. <https://meteo.arso.gov.si/uploads/probase/www/climate/OPS21/Priloge-app/#/prikaz/1> (maj 2022)
- Otto I.M., Donges J.F., Lucht W., Schellnhuber H.J. 2020. Reply to Smith in sod.: Social tipping dynamics in a world constrained by conflicting interests. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 117 (20): 10631-10632. doi:10.1073/pnas.2002648117
- Pogačar T., Casanueva A., Kozjek K., Ciuha U., Mekjavić I.B., Kajfež Bogataj L., Črepinšek Z. 2018. The effect of hot days on occupational heat stress in the manufacturing industry: implications for workers' well-being and productivity. *International journal of biometeorology*, 62, 7: 1251-1264. doi: 10.1007/s00484-018-1530-6
- Poore J., Nemecek T. 2018. Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*, 360, 6392: 987-992. doi:10.1126/science.aaq0216
- Ringsmuth A.K., Otto I.M., van den Hurk B., Lahn G., Reyer C.P.O. in sod. 2022. Lessons from COVID-19 for Managing Transboundary Climate Risks and Building Resilience. *Clim. Risk Manag.*, 35: 100395. doi:10.1016/j.crm.2022.100395
- Roser M., Ritchie H. 2019. Hunger and Undernourishment. <https://ourworldindata.org/hunger-and-overnourishment> (maj 2022)
- Roser M., Ritchie H. 2020. Environmental Impacts of Food Production. <https://ourworldindata.org/environmental-impacts-of-food> (junij 2022)
- Hunger and Undernourishment. <https://ourworldindata.org/hunger-and-overnourishment> (maj 2022)
- Sandström V., Valin H., Krisztin T., Havlík P., Herrero M., Kastner T. 2018. The role of trade in the greenhouse gas footprints of EU diets. *Global Food Security*, 19: 48-55
- Smith M.R., Myers S.S. 2018. Impact of anthropogenic CO₂ emissions on global human nutrition. *Nature Climate Change*, 8, 8: 834-839. doi: 10.1038/s41558-018-0253-3
- van Vuuren D., Edmonds J., Kainuma M., Riahi K., Thomson A. in sod. 2011. The representative concentration pathways: an overview. *Climatic Change*, 109: 5-31
- WFP. 2014. Food insecurity and climate change. <https://awellfedworld.org/wp-content/uploads/WFP-Climate-FoodInsecurity-Climate-Map-Sources-2014.pdf> (maj 2022)
- World Food Summit. 1996. Rome Declaration on World Food Security. <https://www.fao.org/3/w3613e/w3613e00.htm> (maj 2022)
- Ziervogel G., Frayne B. 2011. Climate Change and Food Security in Southern African Cities (rep., pp. i-27). Kingston, ON and Cape Town: African Food Security Urban Network. Urban Food Security Series No. 8

INNOVATION AND SOPHISTICATION IN POSTHARVEST PRACTICES IN ISRAEL

Elazar FALLIK^{3*}, Sharon ALKALAI-TUVIA¹ and Daniel CHALUPOWICZ¹

Abstract: According to dietary guidelines, a balanced and healthy diet should include daily consumption of fruit and vegetables. At the same time, postharvest losses of fresh fruits and vegetables are an estimated 5–25% in developed countries and 20–50% in developing countries, depending upon many factors present before and after harvest, including during prolonged storage and marketing. Most of those losses are due to physiological and pathological deterioration. Therefore, postharvest researchers should continue to develop low-tech, as well as high-tech mechanisms and practices to maintain and improve the quality of fresh harvested or processed produce as it travels from field to fork. This paper will highlight the innovation and sophistication of the postharvest research that has been carried out over the last decade in the Department of Postharvest Science at the Agricultural Research Organization (ARO) – The Volcani Institute, in Israel. This work examines pre-harvest technologies such as grafting, colored shade nets, and other treatments applied in orchards; classical and sophisticated breeding for better quality and longer shelf life; quarantine treatments; edible coatings using nanotechnologies; microbiomes; a biotechnological approach for better understanding and maintaining the ripeness of fresh produce and senescence and the use of biosensors for early detection of decay and quality evaluation.

Key words: fruit, marketing, postharvest, pre-harvest, quality, vegetable

IZBOLJŠAVE IN INOVACIJE POOBIRALNIH TEHNIK V IZRAELU

Povzetek: V skladu s prehranskimi smernicami mora uravnotežena in zdrava prehrana vključevati vsakodnevno uživanje sadja in zelenjave. Hkrati se soočamo z izgubo in zavržki svežega sadja in zelenjave, ki je trenutno ocenjena na 5-25 % v razvitih državah in 20-50 % v državah v razvoju, kar je odvisno predvsem od dejavnikov v času pridelave, spravila, skladiščenja in maloprodaje. Večina teh izgub nastane zaradi pojava fizioloških poškodb in mikrobiološkega kvara. Raziskovalci, ki se ukvarjajo s pridelavo in skladiščenjem pridelkov, bi morali še naprej razvijati nove in napredne tehnološke rešitve za izboljšanje kakovosti pridelkov na poti od njive do vilic. V tem prispevku bodo predstavljene inovacije in raziskave, ki so bile v zadnjem desetletju opravljene na inštituciji Volcani Institute v Izraelu (ARO) na Oddelku za Poobiralne raziskave sadja in zelenjave. Prispevek obravnava tehnike pridelave, kot so cepljenje, senčenje z barvnimi mrežami in druge postopke, ki se uporabljajo v sadovnjakih, npr. napredno žlahtnjenje za izboljšanje kakovosti in podaljšanje trajnosti pridelka, karantenski postopki, aplikacija užitnih premazov z uporabo nanotehnologij, mikrobiomi, uporaba biotehnoloških pristopov za boljše razumevanje procesov zorenja, ohranjanja svežine in staranja plodov ter uporaba biosenzorjev za zgodnje odkrivanje bolezni in določanje kakovosti pridelka.

Ključne besede: sadje, marketing, poobiralne tehnike, pridelava, kakovost, zelenjava

³ Agricultural Research Organization (ARO) – The Volcani Institute, Department of Postharvest Science, Rishon LeZiyyon 7505101, Israel.

1 INTRODUCTION

Fruits and vegetables are important sources of carbohydrates, proteins, organic acids, vitamins and minerals for human nutrition. When plants or plant parts are consumed for food or used for aesthetic purposes, there is always a postharvest component. The "postharvest" period begins at the moment of the separation of the edible commodity from the plant that produced it by a deliberate human act and ends when the produce reaches the final consumer.

Plants or plant parts continue to function metabolically after harvest. Due to physiological and pathological deterioration after harvest and during prolonged storage and marketing, about one-third of fresh fruits and vegetables are lost between the field and the fork. In light of the growing world population, which is expected to reach 9 billion by the year 2050, this is unacceptable as it might lead to a shortage of fresh produce. "Loss" means any change in the availability, edibility, wholesomeness or quality of food that prevents it from being consumed by people. The magnitude of postharvest losses in fresh fruits and vegetables is an estimated 5–25% in developed countries and 20–50% in developing countries, depending upon the commodity (Porat et al., 2018). Therefore, postharvest research groups should work to develop low-tech, as well as high-tech mechanisms and practices to maintain and improve the quality of fresh harvested or processed produce on its journey from field to fork. This paper will highlight the innovation and sophistication of the postharvest research that has been carried out over the past decade at the Department of Postharvest Science at ARO – The Volcani Institute, in Israel.

2 PRE-HARVEST PRACTICES

The quality parameters and shelf lives of fresh produce are influenced by factors present before harvest. These factors include weather conditions, soil type, soil preparation and cultivation, cultivars (genetic diversity), fertigation and crop loads, as well as grafting, shading and all other treatments applied before harvest. We discuss some examples of these practices in further detail below.

2.1 BREEDING/SELECTION (GENETIC DIVERSITY)

In research institutions around the world, breeding programs have undertaken efforts to develop fresh fruit and vegetable cultivars with better yields and improved resistance to pathogens and insects, as well as greater tolerance of extreme weather conditions. Classical breeding is the basis for crop domestication; it involves the artificial selection and breeding of plants. Classical breeding is used to develop fresh produce with better quality after harvest, longer shelf lives, improved aroma and flavor, and higher nutritional levels (Damerum et al., 2020; Salazar et al., 2022). However, modern breeding can also involve directly altering the genome. Studies have indicated that the ripening of fresh produce is a highly coordinated process that is mainly regulated at the transcriptional level, with transcription factors playing essential roles in the process. Candidate genes for shelf-life extension include genes that are directly involved in cell-wall metabolism and ripening, as well as genes that are involved in aroma and disease resistance (Friedman, 2019; Mavi et al., 2021). The identification of key transcription factors regulating fruit ripening, as well as their associated regulatory networks is expected to contribute to a

better understanding of fruit ripening (Li et al., 2019; Siqqique et al., 2020).

Wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*) is a leafy herb originating in the Mediterranean basin, which is used in salads and cooked dishes. The leaves of this plant contain many nutrients, in addition to beneficial phytochemicals such as flavonoids and glucosinolates. Rocket suffers from two major limitations: early bolting during growth and leaf yellowing after harvest, both of which affect yield and market quality. Ethyl methanesulfonate was used to induce spontaneous mutations in wild rocket, which led to the selection of a mutant line (registered as cv. Rock-Ad) that flowers two weeks later than standard commercial cultivars. 'Rock-Ad' plants begin to flower when more than 50% of other commercial plants have already flowered. The storage properties of the mutant were also better than the commercial cultivar. In storage, after simulation of shipment by sea, there was no yellowing of young 'Rock-Ad' leaves, chlorophyll levels remained high, fewer flower buds developed and hydrophilic antioxidant levels decreased less than they usually do in the leading commercial cultivar. The use of MAP packaging together with 5 kPa CO₂ significantly decreased yellowing and decay (Kenigsbuch et al., 2014).

To date, only one QTL mapping study has been conducted in pepper (*Capsicum annuum* L.) (Popovsky-Sarid et al., 2017). In that study, two QTLs that are linked with water loss were identified in chromosome 10, with a combined effect of 35% of the phenotypic variation of the trait. Significant differences in water loss in QTL-near-isogenic lines (QTL-NILs) were previously identified in early fruit development, which supports the involvement of cuticle development in the control of that trait. Low-water-loss QTL-NILs exhibited higher iso-alkane contents and lower levels of free fatty acids in the cuticle, as compared to high-water-loss QTL-NILs. These molecules may be associated with water diffusion in the cuticle, thereby affecting postharvest water loss. Several putative candidate genes have been identified within the QTL regions associated with cell-wall and cuticle development (Popovsky-Sarid et al., 2017). However, further high-resolution mapping of the QTL region, as well as gene-function tests in pepper or other species will be required to prove their function.

During the past decade, there has been a continuous increase in the consumption and global marketing of fresh, easy-to-peel mandarins (*Citrus reticulata*), in contrast to steady consumption levels of difficult-to-peel citrus fruits, such as orange (*Citrus sinensis*), grapefruit (*Citrus paradisi*) and pomelo (*Citrus maxima*). The overall flavor of citrus fruit is derived from the combination of flavor, aroma and mouthfeel sensations. More specifically, the flavor of mandarins is mainly governed by the levels of sugars, acids and bitter compounds; whereas their aroma is mainly controlled by the content and composition of aroma volatiles and mouthfeel sensation depends on the degree of juiciness and segment hardness (Porat et al., 2016).

In light of that market demand, an intensive classical breeding program has been run in Israel for the last decade or so, aimed at the development of easy-to-peel mandarins with superior fruit-quality traits. These traits include external quality attributes such as fruit color, size and shape; ease of consumption attributes, manifested as ease of peeling and seedlessness; and internal quality attributes, including flavor and nutritional value. At the same time, advances in

biotechnology research, including the full sequencing of several citrus genomes and the identification of thousands of single-nucleotide polymorphism (SNP) markers, have already enabled the identification of several QTLs that control major fruit-quality traits. Molecular breeding based on marker-assisted selection, as well as genetic-engineering technologies will facilitate the selection of new, superior mandarin varieties with desirable fruit-quality traits (Goldberg et al., 2018). However, since mandarins are relatively perishable and suffer from flavor deterioration after harvest, studies have also been carried out to examine the effects of commercial packinghouse operations on the flavor and quality of the fruit after a prolonged storage and marketing simulation (Otieno et al., 2022).

The variability in chilling tolerance among different pomegranate (*Punica granatum*) varieties was examined during two consecutive seasons by evaluating chilling-injury indices among 84 distinct pomegranate varieties from the Israel Pomegranate Breeding Collection at the ARO's Neve Ya'ar Research Center. Single nucleotide polymorphism (SNP) analysis revealed great variability in the chilling tolerance of these different varieties of pomegranate (Kashash et al., 2019). To evaluate the different molecular responses of these varieties to cold storage, transcriptomic changes were analyzed in the inner membrane tissues of 'Ganesh' (cold-sensitive) and 'Wonderful' (cold-tolerant) fruits after 2 weeks of storage at 1°C. This work revealed that many transcripts related to various pathways, such as jasmonic acid biosynthesis and signaling, phenylpropanoid biosynthesis, various transcription factors and heat-shock proteins were massively upregulated in the 'Wonderful' fruit, but not in the 'Ganesh' fruit. This suggests that these pathways are most likely involved in imparting chilling tolerance in pomegranate fruit (Kashash et al., 2019).

Genetic solutions to postharvest crop loss can reduce costs and energy inputs while increasing food security. This is especially true in the case of banana (*Musa acuminata*), which is a significant component of worldwide food commerce. By manipulating the banana E class SEPALLATA3 [SEP3] MADS box genes, MaMADS1 and MaMADS2, which are homologous to the tomato (*Solanum lycopersicum*) RIN-MADS ripening gene, researchers have created transgenic plants that exhibit delayed ripening and extended shelf-life phenotypes, including delayed color development and delayed softening. This delay in fruit ripening is associated with a delay in climacteric respiration and reduced synthesis of the ripening hormone ethylene; in the most severely repressed lines, no ethylene is produced and ripening is noticeably delayed (Elitzur et al., 2016).

2.2 GRAFTING

The grafting of non-woody seedlings is a common horticultural technology by which the shoot tissue of two genetically different plants is joined to continue their growth together. The upper part of the combined seedling is called the scion and the lower part is called the rootstock. This type of grafting aims to improve growth and yield by promoting the absorption of nutrients and water through better and more developed root systems; by increasing resistance to abiotic stresses, soil-borne pests and pathogens; and by improving fruit quality after harvest, in light of the ban on use of methyl bromide. Non-woody grafting has become increasingly popular, especially for cucurbit and solanaceous crops, in many countries where it primarily is associated

with the consequences of intensive cultivation. Every rootstock has its own effect on a scion and any given rootstock-scion combination may perform differently under different environmental conditions. Therefore, the choices of both scion and rootstock are critical for achieving growers' goals (Fallik and Ziv, 2020). Grafting technology as applied to several crops, especially watermelon, now supports a significant proportion of the world's horticulture. The number of grafted non-woody plants used worldwide appears to be increasing every year, due to the limited options for controlling soil-borne diseases and pests and in light of increasing concern for the environment and sustainability of the production of horticultural crops. However, grafting can affect fruit external and internal qualities, either positively or negatively (Colla et al., 2017).

For a watermelon fruit to be considered good and tasty, it should have a sugar content in the heart of the fruit that is above 11%, red flesh and a firm texture that is somewhat crunchy and juicy (Kyriacou et al., 2018). Some graft combinations may positively or negatively affect the rind color and/or the flesh color and texture, as well as the overall flavor and aroma. Recently, another factor has been reported to affect watermelon postharvest fruit quality: the suitability of the rootstock-scion combination for a given habitat, as determined by the local environmental conditions and crop-rotation practices (Fallik et al., 2019).

2.3 COLORED SHADE NETS AND LED ILLUMINATION

Netting is used to protect agricultural crops from excessive solar radiation (shade nets), environmental hazards or pests. Black nets are used for shading, while clear, transparent nets are used to protect crops from abiotic environmental hazards or from biotic pests. Neither of those types of netting alters the spectral composition of the light reaching the plants (Sivakumar et al., 2018). In the last decade or so, photo-selective shade netting has emerged as a new technique that offers additional benefits, as compared to other types of netting (Ilić and Fallik, 2017). Photo-selective shade nets are unique in that they both spectrally modify and scatter the transmitted light. Photo-selective nets include nets of different bright colors (e.g., red, yellow, green and blue), as well as nets that are neutral in color (e.g., pearl, white and grey), which absorb spectral bands that are shorter or longer than those in the range of visible light. Spectral manipulation is aimed at specifically promoting photo-morphogenetic-physiological responses, while light scattering improves the penetration of light into the inner canopy (Ilić and Fallik, 2017). This technology has the ability to extend the marketing and shelf life of produce, thereby lowering postharvest losses.

Red bell pepper (*C. annuum*) grown under 35% pearl and yellow shade nets maintained better quality after 16 days at 7°C and three days at 20°C, mainly due to reduced incidence of decay caused by *Alternaria alternata*, as compared to similar peppers grown under commercial black and red netting (Goren et al., 2011). Moreover, pearl and yellow shade nets significantly reduced the *Alternaria* spp. population in the field. The significantly low incidence of decay in fruit harvested from under pearl and yellow shade nets was due to the low level of *Alternaria* spp. in the field, the inhibition of fungal sporulation and/or the slowing of fruit ripening (as could be seen from the lighter-than-normal color of the skins of the fruits), all of which reduced the crop's susceptibility to fungal infection in the field. The significantly low incidence of decay

after harvest could also be explained by the scattered light, its quality and the blue/UV and red/far red ratios of the light under the two types of shade netting. Alkalai-Tuvia et al. (2014) reported that the lower incidence of decay in red pepper grown under pearl shade netting was due to a high level of antioxidant activity and high carotenoid content, factors that are known to be involved in fruit defense against decay-causing agents. The other internal and external quality parameters of fruit harvested from under the different colored shade nets were found to be similar to those of conventionally grown peppers (Goren et al., 2011).

Optimal light conditions ensure the availability of sufficient photosynthetic assimilates to support the survival and growth of fruit organs. A different approach is the use of light-emitting diodes (LEDs) as intra-canopy illumination or LED-interlighting, to provide supplemental light for intensively cultivated crops directly within their canopies (Sipos et al., 2020). Intra-canopy illumination was applied to bell pepper grown in passive tall tunnels in the Jordan Valley using a commercial LED product providing cool-white light. That study included testing of daytime (LED-D) and edge-of-daytime (LED-N) illumination, as well as the detailed characterization of fruit setting and fruit survival throughout the growing season (Tiwari et al., 2020). Both light regimes significantly improved fruit setting and survival during the winter, with some benefit of LED-N illumination. The LED treatment made a greater contribution toward the increased winter fruit setting and spring yield among the western-facing plants, as compared to the eastern-facing plants. Preliminary results have shown that LED illumination is associated with improved fruit quality after harvest. However, more work should be done to evaluate the effect of LED light on the storage and marketing of fresh harvested produce (Tiwari et al., 2020).

2.4 CHEMICAL TREATMENTS

Pre-harvest applications of various chemicals have been reported to enhance the shelf life of fruits by reducing their weight loss and decay during storage. Various chemicals applied as pre-harvest sprays have been reported to prolong the shelf lives of several fruit crops by affecting a wide range of physiological processes and inhibiting the senescence of the harvested fruits (Papoutsis et al., 2019).

Mango (*Mangifera indica*) cv. Kent, Shelly, and Tommy Atkins) fruits have light red peels. Studies have shown that mango fruits develop stronger red pigmentation and higher anthocyanin levels when they are exposed to direct sunlight, with fruits grown outside of the tree canopy redder in color with higher anthocyanin levels than fruits from the inner parts of the canopy (Sivankalyani et al., 2016). Pre-harvest application of hairpin proteins was associated with enhanced red color and anthocyanin accumulation. Moreover, the exogenic application of prohydrojasmon, methyl jasmonate or abscisic acid, along with exposure to direct sunlight, was shown to promote the phenylpropanoid pathway in mango fruits, enhancing the red color of their peels (Muengkaew et al., 2016). Anthocyanins are secondary metabolites responsible for the red coloration of mango. They are synthesized via the flavonoid pathway, which begins with phenylalanine (Phe). The red color of the fruit skin is essential for the fruit's marketability. Preharvest Phe treatment increased the intensity of the red coloring and the red surface area of mango fruits that were exposed to sunlight in the orchard. The optimal effect was observed when Phe was 2–4 weeks pre-harvest at a concentration of 0.12%. Thus, a pre-

harvest application of Phe combined with exposure to sunlight, ensured by proper pruning, is an eco-friendly way to improve fruit color and reduce the development of decay after harvest and during prolonged storage (Fanyuk et al., 2022).

3 POSTHARVEST PRACTICES

Many factors and practices affect the quality of fresh produce after harvest. These include harvesting at the right stage of maturity and the right time of day; the practical handling of the produce from the field to the packinghouse; the operations in the packinghouse (cleaning, sorting, packing, cooling, quarantine, coating, etc.); transportation to local or export markets; distribution and more. During the whole chain from harvest to consumption, fresh produce quality should be maintained by environmental-friendly means and monitored. Below we present some examples of postharvest practices to maintain and improve the quality of harvested produce.

3.1 PHYSICAL TREATMENTS

Heat treatments were first developed in the 1920s for the control of brown rot in citrus fruit. Since then, these treatments have been found to be very effective for controlling a variety of decay-causing agents. Among these physical treatments are hot water dip/immersion treatments, hot air treatments, vapor heat treatments and the relatively new option of a short hot water rinse accompanied by brushing (HWRB). Beneficial effects of HWRB on fruits and vegetables after harvest have been reported over the last two decades (Fallik et al., 2021). There has been intensive research on HWRB technology since it was first introduced to Israeli farmers in 1997. In Israel, this technology has been used commercially on sweet corn (*Zea mays*), persimmon (*Diospyros kaki*), sweet pepper, melon (*Cucumis melo*), mango, avocado (*Persea americana*), orange, grapefruit, kumquat (*Citrus japonica*) and organic citrus fruit. All of these harvested crops are treated with the same machine. However, the water temperature and duration of exposure are adjusted for each crop (between 45°C to 62°C for 12 to 20 s). Recently, Chalupowicz et al. (2018) reported that treating acorn squash (*Cucurbita pepo* L.) fruits with HWRB at 54°C for 15 s and then storing them at 15°C significantly maintained their quality for 3.5 months. However, the effectiveness of this treatment varied depending upon the squash cultivar (Adeeko et al., 2020).

This technology used alone or in combination with other treatments or disinfectants that could be incorporated into the tap water wash over brushes and/or the HWRB compartments should be investigated for a broader range of freshly harvested crops and even for minimally processed produce and the juice industry. The possible enhancement of fruit tolerance to low temperatures by reducing chilling injury or by enhancing fruit resistance to decay-causing agents should also be further explored, to allow prolonged storage at temperatures lower than those currently used. This would permit produce to be exported by sea, which is less expensive than shipping it by air (Fallik et al., 2021).

3.2 QUARANTINE

The increase in the global trade in agricultural produce has increased the danger of insect species invading new areas. Quarantine regimes are a popular method for controlling the spread of such insects. The Mediterranean fruit fly (medfly) *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) is prevalent in many countries around the world. However, many other countries that do not currently have medfly populations enforce strict quarantine measures to prevent this pest from reaching their territory. These policies prevent the export of many crops, such as sweet pepper and avocado, from affected areas to those countries. To enable the export of fresh agricultural produce to those countries, effective quarantine protocols must be developed that will completely kill the insects while causing minimal damage to plant tissue, all at a reasonable cost. There are several different quarantine treatments that are applied before or during export, including heat, cold or radiation treatments. All of these treatments have limitations: Heat treatments often impair fruit quality, cold treatments are usually accompanied by chilling injury and radiation treatments are expensive.

Sweet pepper is one of the most important fruit crops in Israel and other Mediterranean countries. Various pepper-importing countries, such as the USA, demand the use of quarantine protocols to diminish the risk of the accidental introduction of the medfly on imported fruit. Treating peppers with HWRB at 55°C for 15 s, followed by storage in Xtend® microperforated bags and cold quarantine at 1.5°C or 4°C for 21 d, which represents an average ship journey from Israel to distant markets, was shown to completely kill all tested stages of the medfly (egg, L1, L2 and L3). These two cold quarantine treatments, especially the 1.5°C treatment, caused very little reduction in the quality of the bag-packed/HWRB-treated pepper fruit. That is, the observed chilling injury was compatible with the commercially required, reasonable level of overall quality (Fallik et al., 2012; Lama et al., 2016, 2020).

A successful therapeutic treatment that included modified atmosphere packaging, methyl jasmonate and low-temperature conditioning was developed to protect ‘Hass’ and ‘Ettinger’ avocado fruit during cold quarantine against fruit flies, while maintaining fruit quality. Treated avocados stored at 1°C had a longer shelf life and less decay than those stored at 5°C (Sivankalyani et al., 2015).

3.3 EDIBLE COATINGS

Edible coatings are defined as a thin layer that covers a fruit or vegetable, made from food-grade biopolymers, including lipids, proteins, and polysaccharides from plants and animals or food processing byproducts. These coatings protect food from mechanical, physical, chemical and microbial damage; maintain or improve its aesthetic appearance and create a micro-modified atmosphere. Edible coatings need to have flawless adhesion abilities, provide high microbial protection, have the appropriate gas and moisture exchange properties, provide an aesthetic appearance and be tasteless, all for a reasonable price (Hassan et al., 2018; Kumar et al., 2022). Edible-coating matrices can also carry active compounds and provide additional advantages such as protection from spoilage and pathogens, enhanced sensory properties and improved nutritional value. Matching an appropriate coating with a specific type of produce is

the major challenge for the successful use of edible coatings (Kumar et al., 2022).

Poverenov et al. (2014) reported that coating pepper fruits with a mixture of chitosan and gelatin reduced decay development 2-fold after 21 d of storage at 7°C plus 14 d at 20°C, without affecting fruit quality or the respiration rate of the peppers. Chitosan, gelatin and chitosan + gelatin applied layer-by-layer (Arnon et al., 2015) were evaluated as coating materials for sweet peppers that were stored for 3 weeks at a sub-optimal temperature of 1.5°C and at an optimal storage temperature of 7°C, followed by three more days at 21°C. In that work, the chitosan coating (2%) was found to be more effective in alleviating chilling injury and the incidence of decay. All of the examined coating treatments significantly reduced external CO₂ production, as compared to uncoated control fruit. Peppers coated with 2% chitosan had a lower respiration rate than uncoated control peppers. From a practical point of view, a chitosan coating could replace the plastic bags previously found to alleviate chilling injury in peppers that are stored at 1.5°C as a quarantine treatment (Kehila et al., 2021).

Active edible coatings of chitosan or carboxymethyl cellulose (CMC) + stearic acid that contained a phenylalanine elicitor significantly reduced the damage to avocado fruit caused by the fungal pathogens *Colletotrichum* and *Alternaria*. The coated avocado fruits exhibited greater resistance to storage at a sub-optimal temperature, exhibiting less pitting, decay and internal browning. The observed cold resistance correlated with the minor upregulation of several genes that code for lipoxygenase and heat-shock protein, as well as several transcripts in the phenylpropanoid pathway. Interestingly, the coated fruit had a better flavor than the control fruit (Saidi et al., 2021).

3.4 BIOSENSORS

Rot due to fungi or bacteria is one of the major causes of the deterioration of the quality of fresh produce. Usually, after penetrating the immature fruit, fungi remain quiescent and only switch to a pathogenic state after storage and ripening, at which point they initiate an active attack. These quiescent infections are microscopic and cannot be visually detected during packaging or subsequent transport (Fallik and Ilić, 2019). Therefore, to ensure food safety and mitigate losses, the presence of the fungus should be monitored after harvest and all along the supply chain. The conventional technologies for detecting postharvest pathogenic fungi (i.e., PCR and ELISA) are generally sensitive and precise, but also costly and they include complicated protocols, which makes them less than optimal for agricultural use. Furthermore, while they can indicate the presence of these microorganisms in the crops, they do not provide any information regarding the pathogenic state of those microorganisms.

In the case of anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, after conidial germination, the fungus usually passes through three lifestyle stages: appressoria (penetration), quiescence (latent stage) and the necrotrophic stage, which causes decay (Alkan et al., 2015). During these different stages, the fungal pathogen significantly increases its expression of stage-specific transcripts. These mRNA transcript sequences can be used as markers for the pathogenicity stage of the fungus. A biosensor for RNA detection may be the easiest, cheapest and fastest method for recognizing the presence of pathogens in crops. Typically, biosensors

are built from three parts: a bioreporter, transducer, and interface, with the latter immobilizing the bioreporter on the interface (Shibata et al., 2020). Specific mRNA sequences that are upregulated in the fungus *C. gloeosporioides* during its quiescent stage in fruits were identified using a complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS) sensor. The identification process was based on the sandwich approach, in which strands of RNA that are complementary to the *C. gloeosporioides* mRNA sequences (quiescent stage-specific) were immobilized on the CMOS surface and exposed to the target complementary reporter strands. The CMOS sensor could detect quiescent fungi, which are barely detectable by other means (Zamir et al., 2020). This technology can detect and recognize a fungus during both its pathogenic and quiescent stages and will allow the development of new sensors that can be used to monitor the amount of otherwise undetectable quiescent fungi in harvested fruit, enabling improved food management.

Another approach to detecting rot development was reported by Ma et al. (2020). Those researchers developed a whole-cell biosensor to detect volatile organic compounds (VOCs) that are produced specifically by infected potato tubers. After optimization, the lowest limits of detection for three infection-sourced VOCs (i.e., nonanal, 3-methyl-1-butanol and 1-octen-3-ol). Then, the new, optimized immobilization protocol was implemented for the CMOS-based application, which increased the sensor's sensitivity to VOCs 3-fold during real-time measurement (Ma et al., 2020).

3.5 MICROBIOMES

Microorganisms can be found on the surface of fruits or vegetables as epiphytes or within the fresh produce tissues as endophytes. In most cases, they do not cause any disease on the fresh produce. However, in the study of postharvest fruit physiology, susceptibility and resistance to disease and fruit quality, these microorganisms have been neglected. Some of these microorganisms are able to infect fresh produce and cause decay after harvest. Traditionally, the management of these pathogens has relied mainly on the use of chemical fungicides applied to fruit before and/or after harvest (Droby and Wisniewski, 2018). Alternative management strategies include biological control and different packaging and storage technologies. The use of natural substances has been also suggested (Palou et al., 2016).

Stem-end rot (SER) is a serious postharvest disease of mango fruit grown in semi-dry areas. Pathogenic and non-pathogenic microorganisms endophytically colonize fruit stem-ends. As fruits ripen, some pathogenic fungi switch from endophytic colonization to a necrotrophic stage and cause SER. Various pre/post-treatments may alter the stem-end community, affecting the incidence of SER (Diskin et al., 2017). Recently, Galsurker et al. (2020) showed that harvesting mangos with short stems significantly reduced SER during storage. At harvest, fruit harvested with or without stems hosted similar microorganism communities. However, after a storage and marketing simulation, the microorganism community on fruits without stems had shifted toward more SER-causing-pathogens, unlike what was observed on the fruits that had stems. This change correlated with the high antifungal activity of a stem extract that strongly inhibited both the germination and the growth of some decay-causing agents. Additionally, fruits that were harvested with stems had greater antioxidant activity and contained fewer reactive oxygen

species. Those researchers concluded that harvesting mangos with short stems leads to greater antifungal and antioxidant activity, retaining a healthier microbial community and reducing postharvest SER.

4 CONCLUSIONS

This article aimed to highlight some key pre-harvest and postharvest factors that are currently or potentially important for product quality and safety and hence for the future success of horticultural systems producing food for local and export markets.

Future success will only occur with:

- Further R&D devoted to understanding the genetic and molecular basis of quality traits;
- The integration of available technologies into a biological-systems approach for overcoming postharvest quality and safety issues;
- Enhancement of specific health-conferring components in fresh and processed produce;
- The use of robotics for harvesting, packing and handling of individual and bulk items;
- Effective and efficient management of logistics and supply chains; use of microbiomes to manage productivity and quality and safety; and
- The understanding and subsequent manipulation of the metabolic systems that control the physiological and biochemical systems that regulate produce deterioration and senescence.
- All of these objectives should be pursued through close collaborations within and among research institutions, as well as collaborations among those institutions, extension agents and growers.

5 REFERENCES

- Adeeko A., Yudelevich F., Raphael G., Avraham L., Alon H., Zaaroor M., Alkalai-Tuvia S., Paris H.S., Fallik E., Ziv C. 2020. Quality and storability of trellised greenhouse-grown winter-harvested, sweet acorn squash. *Agronomy*, 10: 1443
- Alkalai-Tuvia S., Goren A., Perzelan Y., Weinberg T., Fallik E. 2014. The influence of colored shade nets on pepper quality after harvest – A possible mode-of-action. *Agricultural and Forestry*, 60: 7-18
- Alkan N., Friedlander G., Ment D., Prusky D., Fluhr R. 2015. Simultaneous transcriptome analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* and tomato fruit pathosystem reveals novel fungal pathogenicity and fruit defense strategies. *New Phytology*, 205: 801-815
- Arnon H., Granit R., Porat R., Poverenov L. 2015. Development of polysaccharides-based edible coatings for citrus fruits: A layer-by-layer approach. *Food Chemistry*, 166: 465-472
- Chalupowicz D., Alkalai-Tuvia S., Zaaroor-Presman M., Fallik E. 2018. The potential use of hot water rinsing and brushing technology to extend storability and shelf life of sweet acorn squash (*Cucurbita pepo* L.). *Horticulturae*, 4: 19
- Colla G., Perez Alfocea F., Schwarz D. 2017. *Vegetable grafting: Principles and practices*. Wallingford, CABI: 298

- Damerum A., Chapman M.A., Taylor G. 2020. Innovative breeding technologies in lettuce for improved post-harvest quality. *Postharvest Biology and Technology*, 168: 111266, doi: 10.1016/j.postharvbio.2020.111266
- Diskin S., Feygenberg O., Maurer D., Droby S., Prusky D., Alkan N. 2017. Microbiome alterations are correlated with occurrence of postharvest stem-end rot in mango fruit. *Phytobiomes*, 1: 117-127
- Droby S., Wisniewski M. 2018. The fruit microbiome: A new frontier for postharvest biocontrol and postharvest biology. *Postharvest Biology and Technology*, 140: 107-112
- Elitzur T., Yakir E., Quansah L., Zhangjun F., Vrebalov J., Khayat E., Giovannoni J.J., Friedman H. 2016. Banana MaMADS transcription factors are necessary for fruit ripening and molecular tools to promote shelf-life and food security. *Plant Physiology*, 171: 380-391
- Fallik E., Alkalai-Tuvia S., Chalupowicz D. 2021. Hot water rinsing and brushing of fresh produce as an alternative to chemical treatment after harvest – The story behind the technology. *Agronomy*, 11: 1653, doi: 10.3390/agronomy11081653
- Fallik E., Alkalai-Tuvia S., Chalupowicz D., Popovsky-Sarid S., Zaaroor-Presman M. 2019. Relationships between rootstock-scion combinations and growing regions on watermelon fruit quality. *Agronomy*, 9: 536, doi: 10.3390/agronomy9090536
- Fallik E., Ilić Z. 2019. Control of postharvest decay of fresh produce by heat treatments; the risks and the benefits. *Postharvest pathology of fresh horticultural produce*. Palou, L., Smilanick, J.L. (Eds.). Boca Raton, CRC Press: 521-537
- Fallik E., Perzelan Y., Alkalai-Tuvia S., Nemny-Lavy E., Nester D. 2012. Development of cold quarantine protocols to arrest the development of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) in pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 70: 7-12
- Fallik E., Ziv C. 2020. How do rootstock/scion combinations affect watermelon fruit quality after harvest? *Journal of Science and Food Agriculture*, 100: 3275-3282
- Fanyuk M., Kumar Patel M., Ovadia R., Maurer D., Feygenberg O., Oren-Shamir M., Alkan N. 2022. Preharvest application of phenylalanine induces red color in mango and apple fruit's skin. *Antioxidants*, 11: 491, doi: 10.3390/antiox11030491
- Friedman H. 2019. Candidate gens to extend freshly fruit shelf life. *Plant breeding review*. Goldman, I. (Ed.). New York, John Wiley & Sons: 61-94
- Galsurker O., Diskin S., Duanis-Assaf D., Doron-Faigenboim A., Maurer D., Feygenberg O., Alkan N. 2020. Harvesting mango fruit with a short stem-end altered endophytic microbiome and reduce stem-end rot. *Microorganisms*, 8: 558, doi: 10.3390/microorganisms8040558
- Goldberg L., Yaniv Y., Porat R., Carmi N. 2018. Mandarin fruit quality: A review. *Science Food and Agriculture*, 98: 18-26
- Goren A., Alkalai-Tuvia S., Perzelan Y., Aharon Z., Fallik E. 2011. Photosensitive shade nets reduce postharvest decay development in pepper fruits. *Advances in Horticultural Sciences*, 25: 26-31
- Hassan B., Chatha S.A.S., Hussain A.I., Zia K.M., Akhtar N. 2018. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biology and Macromolecules*, 109: 1095-1107
- Ilić Z.S., Fallik E. 2017. Light quality manipulation improves vegetable quality at harvest and postharvest: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 139: 79-90
- Kashash Y., Doron-Faigenboim A., Bar-Ya'akov I., Hatib K., Beja R., Trainin T., Holland D., Porat R. 2019. Diversity among pomegranate varieties in chilling tolerance and transcriptome responses to cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67: 760-771
- Kehila S., Alkalai-Tuvia S., Chalupowicz D., Poverenov E., Fallik E. 2021. Can edible coatings maintain sweet pepper quality after prolonged storage at sub-optimal temperatures? *Horticulturae*, 7: 387, doi: 10.3390/horticulturae7100387
- Kenigsbuch D., Ovadia A., Shahar-Ivanova Y., Chalupowicz D. 2014. 'Rock-Ad', a new wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*) mutant with late flowering and delayed postharvest senescence. *Scientia Horticulturae*, 174: 17-23

- Kumar L., Ramakanth D., Akhila K., Gaikwad K.K. 2022. Edible films and coatings for food packaging applications: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 20: 875-900
- Kyriacou M.C., Leskovar D.I., Colla G., Roupael Y. 2018. Watermelon and melon fruit quality: The genotypic and agro-environmental factors implicated. *Scientia Horticulturae*, 34: 393-408
- Lama K., Alkalai-Tuvia S., Chalupowicz D., Fallik E. 2020. Extended storage of yellow pepper fruits at suboptimal temperatures may alter their physical and nutritional quality. *Agronomy*, 10: 1109, doi: 10.3390/agronomy10081109
- Lama K., Alkalai-Tuvia S., Perzelan Y., Fallik E. 2016. Nutritional qualities and aroma volatiles of harvested red pepper fruits stored at suboptimal temperatures. *Scientia Horticulturae*, 213: 42-48
- Li S., Chen K., Grierson D. 2019. A critical evaluation of the role of ethylene and MADS transcription factors in the network controlling fleshy fruit ripening. *New Phytology*, 221: 1724-1741
- Ma J., Veltman B., Tietel Z., Tsrer L., Liu Y., Eltzov E. 2020. Monitoring of infection volatile markers using CMOS-based luminescent bioreporters. *Talanta*, 219: 121333
- Mavi K., Hacbekir H., Uzunoglu F., Turkmen M. 2021. The use of volatile compounds as an alternative method in pepper breeding (*Capsicum baccatum* var. *pendulum*). *Crop Production*, 51: e20201066
- Muengkaew R., Chaiprasart P., Warrington I. 2016. Changing of physiochemical properties and color development of mango fruit sprayed methyl jasmonate. *Scientia Horticulturae*, 198: 70-77
- Otieno J., Owoyemi A., Goldenberg L., Yaniv Y., Carmi N., Porat R. 2022. Effects of packinghouse operations on the flavor of 'Orri' mandarins. *Food Science and Nutrition*, 1-9, doi: 10.1002/fsn3.2778
- Palou L., Ali A., Fallik E., Romanazzi G. 2016. GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biology and Technology*, 122: 41-52
- Papoutsis K., Mathioudakis M.M., Hasperué J.H., Ziogas V. 2019. Non-chemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus caused by *Penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (blue mold). *Trends in Food Science and Technology*, 86: 479-491
- Popovsky-Sarid S., Borovsky Y., Faigenboim A., Parsons E.P., Lohrey G.T., Alkalai-Tuvia S., Fallik E., Jenks M.A., Paran I. 2017. Genetic and biochemical analysis reveals linked QTLs determining natural variation for fruit postharvest water loss in pepper (*Capsicum*). *Theoretical and Applied Genetics*, 130: 445-459
- Porat R., Deterre S., Giampaoli P., Plotto A. 2016. The flavor of citrus fruit. *Biotechnology in flavor production*. Havkin-Frenkel D., Dudai N. (Eds.). New Jersey, Wiley-Blackwell: 1-30
- Porat R., Lichter A., Terry L.A., Harker R., Buzby J. 2018. Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention. *Postharvest Biology and Technology*, 139: 135-149
- Poverenov E., Zaitsev Y., Arnon H., Granit R., Alkalai-Tuvia S., Perzelan Y., Weinberg T., Fallik E. 2014. Effects of a composite chitosan-gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. *Postharvest Biology and Technology*, 96: 106-109
- Saidi L., Duanis-Assaf D., Galsarker O., Maurer D., Alkan N. 2021. Elicitation of fruit defense response by active edible coatings embedded with phenylalanine to improve quality and storability of avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 174: 111442, doi: 10.1016/j.postharvbio.2020.111442
- Salazar J.A., Martinez-Gomez P., Ruiz D. 2022. Varietal evaluation of postharvest behavior in apricot fruits. *European Journal of Horticultural Science*, 87: 1, doi: 10.17660/eJHS.2022/010
- Shibata H., Nemoto J., Shiba S., Yamane Y., Kawai G., Hashimoto K. 2020. Immobilization of DNA on quartz crystal microbalance sensor modified with self-assembled monolayer of thiol derivative. *Journal of Oleo Science*, 69: 271-276
- Sipos L., Boros I.F., Csambalik L., Székely G., Jung A., Balázs L. 2020. Horticultural lighting system optimization: A review. *Scientia Horticulturae*, 273: 109631
- Siqqique M.I., Back S., Lee J-H., Jo J., Jang S., Han K., Venkatesh J., Kwon J-K., Jo Y.D., Kang B-C. 2020. Development and characterization of an ethyl methane sulfonate (EMS) induced mutant population in *Capsicum annum* L. *Planta*, 9: 396, doi: 10.3390/plants9030396

- Sivakumar D., Jifon J., Soundy P. 2018. Spectral quality of photo-selective shade nettings improves antioxidants and overall quality in selected fresh produce after postharvest storage. *Food Review International*, 34: 290-307
- Sivankalyani V., Feygenberg O., Diskin S., Wright B., Alkan N. 2016. Increased anthocyanin and flavonoids in mango fruit peel are associated with cold and pathogen resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 111: 132-139
- Sivankalyani V., Feygenberg O., Maurer D., Zaaroor M., Fallik E., Alkan N. 2015. Combined treatments reduce chilling injury and maintain fruit quality in avocado fruit during cold quarantine. *PLoS ONE* 10: e0140522, doi: 10.1371/journal.pone.0140522
- Tiwari V., Kamara I., Ratner K., Many Y., Lukyanov V., Ziv C., Gilad Z., Esqira I., Charuvi D. 2020. Daytime or edge-of-daytime intra-canopy illumination improves the fruit set of bell pepper at passive conditions in the winter. *Plants*, 11: 424, doi: 10.3390/plants11030424
- Zamir D., Galsurker O., Alkan N., Eltzov E. 2020. Detection of quiescent fungi in harvested fruit using CMOS biosensor: A proof of concept study. *Talanta*, 217: 120994, doi: 10.1016/j.talanta.2020.120994

KVARLJIVCI KAKOVOSTI GROZDJA IN VINA V NOVIH PODNEBNIH RAZMERAH

Tatjana KOŠMERL¹, Denis RUSJAN²

Povzetek: Kakovost vina, prepoznavnost, drugačnost in/ali specifičnost so želje vsakega pridelovalca, da je po svojem pridelku znan in (ne)ponovljiv. Pridelano vino naj odraža rastišče, na katerem je bilo grozdje pridelano in predelano, da se izrazi sortnost oziroma tipičnost zvrsti, da gre za ponovljivost v smislu variabilnosti letnikov, ne glede na drugačne podnebne razmere. Kar je bilo včasih dobro, mogoče danes ni več. Pa tudi naše zahteve so usmerjene v boljše, še več, drugačno. Vprašanja, ki se nam zastavljajo pri doseganju optimalne kakovosti vina so številna. Ali je vse to zlahka in enostavno doseči? Ali res več kot toliko ne moremo ali ne znamo? Vsekakor se je treba zavedati, da je poleg naravnih danosti, potrebno tudi nenehno nadgrajevanje znanja, možnosti izboljšave obstoječih (novih) tehnologij, zavedanja se potreb in pričakovanj potrošnika po navdušenju. V praksi se moramo zavedati, da so s strani stroke vedno podana priporočila določenih tehnoloških postopkov, ki so vezana bodisi na zagotavljanje ter ohranjanje kakovosti in stabilnosti vina (fizikalno-kemijske, mikrobiološke in senzorične). Na drugi strani pa je potrebno tudi zagotavljanje varnosti vina, vezano na več spojin: mikotoksine (OTA), etil karbamat, biogene amine (histamin), težke kovine (baker), višje alkohole in metanol. Vsak postopek ima določene prednosti in slabosti, predvsem pa se je treba zavedati posebnosti in osnovnih zahtev: kdaj, koliko, zakaj? Kot vsaka tehnologija tudi vinarstvo ni izjema: najšibkejši člen v tehnološki verigi določa končno kakovost. Želja tudi stroke je, da se kakovost dvigne, da so naša vina prepoznavnejša. Veliko več je treba narediti na stalni kakovosti, četudi v deželnem razredu. Najslabše je razočaranje potrošnika, ki si ga bo vedno težje pridobiti nazaj. Ne smemo pozabiti dejstva, da se v času nahajanja vin v prometu, stabilna vina še vedno spreminjajo in naša želja je v smeri izboljšanja kakovosti, ne pa razvoju starikavosti.

Ključne besede: grozdje, vino, kakovost, stabilnost, kvar, podnebne razmere

SPOILAGE OF GRAPE AND WINE QUALITY IN NEW CLIMATE

Abstract: The quality of the wine, the recognisability, the difference and/or specificity are the desire of each producer to be known and (in)repeatable for its production. The wine produced should reflect the place where the grapes were harvested and processed, to express the variety or typicity, that it is repeatable in terms of variability of vintages, regardless of the different climatic conditions. What was good in the past does not have to be so today. Our requirements are also oriented towards the better, even more, different. The questions we are asked to achieve optimal wine quality are numerous. Is it all easy and simple to achieve? Do we really not know or do we know more than that? It is important to realize that, in addition to natural resources, it is also necessary to constantly improve knowledge, ways to improve existing (new) technologies, awareness of consumer needs and expectations of enthusiasm. In practice, we must be aware that the profession always makes recommendations for certain technological processes that are either related to ensuring and maintaining the quality and stability of wine (physicochemical, microbiological and sensory). On the other hand, it is also necessary to ensure the safety of the wine in relation to various compounds: mycotoxins (OTA), ethyl carbamate, biogenic amines (histamine), heavy metals (copper), higher alcohols and methanol. Each process has certain advantages and disadvantages, but above all it is necessary to be aware of the specifics and the basic requirements: when, how much, why? Like any technology, winemaking is no exception: the weakest link in the technological chain determines the final quality.

¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tatjana.kosmerl@bf.uni-lj.si

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: denis.rusjan@bf.uni-lj.si

The desire of the profession is also to increase the quality so that our wines are more recognizable. Much more needs to be done to ensure consistent quality, even in the country class. The worst thing is the disappointment of the consumer, which will be increasingly difficult to compensate. We must not forget that as long as the wines are on the market, they are still changing, and our desire is to improve quality, not to develop atypical ageing note.

Key words: grapes, wines, quality, stability, spoilage, climate changes

1 PODNEBNE SPREMEMBE

Podnebje se spreminja pod vplivom antropogenih dejavnosti. Uporaba fosilnih goriv, krčenje gozdov in živinoreja imajo največji vpliv na emisije toplogrednih plinov in globalno segrevanje. Posledice so na nekaterih območjih številni vročinski valovi in suše, na drugih pa vedno več padavin in poplav. Kmetijstvo je eden od sektorjev, ki jih podnebne spremembe najbolj prizadenejo, saj je odvisno od temperatur in padavin.

Povišana temperatura in atmosferska vlaga zmanjšata odpornost rastlin na patogene. Zmanjšajo tudi transport asimilatov iz korenin v plod, kar zmanjšuje kakovost in pridelek. Zaradi poškodb ozonske plasti je UV sevanje intenzivnejše, zato rastline doživljajo oksidativni stres. Industrijski procesi in izgorevanje fosilnih goriv vodijo do povečanja koncentracije žveplovih in dušikovih oksidov v ozračju, ki nato s kislim dežjem dosežejo tla, kar s spremembo vrednosti pH poslabša rodovitnost (Bourney in sod., 2013).

Podnebne spremembe lahko uničijo napredek v smeri sveta brez lakote in ogromnih izzivov za varnost preskrbe s hrano v Indiji. Medtem ko je razmerje med podnebnimi spremembami in zanesljivo preskrbo s hrano zapleteno, se večina študij osredotoča na eno dimenzijo prehranske varnosti, to je na dostop in absorpcijo hrane. Vpliv podnebnih sprememb na produktivnost pridelkov, ki bi lahko vplival na razpoložljivost hrane, je opazen po močnem globalnem vzorcu. Stabilnost celotnih prehranskih sistemov je lahko ogrožena zaradi podnebnih sprememb zaradi kratkoročne spremenljivosti oskrbe. Dokazi potrjujejo potrebo po znatnih naložbah v ukrepe za prilagajanje in ublažitev v smeri "podnebno pametnega prehranskega sistema", ki je bolj odporen na vplive podnebnih sprememb na varnost preskrbe s hrano (Chaudhari in sod., 2018).

Čeprav vino ni bistveno za človekovo preživetje, je vino pomemben produkt človeške iznajdljivosti. Vse kmetijske dejavnosti so močno odvisne od podnebnih in vremenskih razmer ter so same po sebi povezane. Čeprav se grozdje goji v določenem delu sveta, pridelava vrhunškega grozdja poteka v zelo ozkih klimatskih območjih. "Nekatere sorte grozdja imajo še ožji razpon podnebja ... za optimalno kakovost in pridelavo, zaradi česar pridelava grozdja izpostavlja večje tveganje značilnih podnebnih sprememb in dolgoročnih podnebnih sprememb kot druge kulture (Jones in Webb, 2010)."

Pričakovano je, da spremembe in vremenski vzorci (lahko potencialno) vplivajo na vinsko industrijo. Kot stalni spremljevalec človekovega razvoja in pomembna sestavina človekove gospodarske dejavnosti, grozdje kot kmetijski pridelek in vino (predvsem vrhunsko vino) kot gospodarsko blago ogrožata podnebne spremembe (Mozell in Thach, 2014).

1.1 PODNEBNE SPREMEMBE V VINOGRADNIŠTVU IN VINARSTVU

Vinogradništvo in vinarstvo sta pomembna družbenoekonomska sektorja v številnih evropskih regijah. Podnebje ima ključno vlogo v rastišču določene vinske regije, saj močno nadzoruje mikroklimo krošnje, rast vinske trte, fiziologijo trte, pridelek in sestavo grozdja, ki skupaj določajo attribute in tipičnost vina. Predvidevajo pa, da se bodo zaradi podnebnih sprememb pojavili novi izzivi, saj je pridelava vinske trte močno odvisna od vremenskih in podnebnih razmer. O spremembah vinogradniške ustreznosti v zadnjih desetletjih za vinogradništvo na

splošno ali uporabo posebnih sort so poročali že v številnih vinorodnih regijah. Kljub prostorsko heterogenim vplivom naj bi podnebne spremembe poslabšale te nedavne trende glede primernosti za pridelavo vina. Ti premiki lahko preoblikujejo geografsko porazdelitev vinskih regij, v večini primerov pa je lahko ogrožena tudi vinska tipizacija. Spreminjanje podnebja bo tako spodbudilo k izvajanju pravočasnih, primernih in stroškovno učinkovitih strategij prilagajanja, ki jih je treba tudi temeljito načrtovati in prilagoditi lokalnim razmeram za učinkovito zmanjšanje tveganja. Čeprav potencial različnih možnosti prilagajanja še ni v celoti raziskan, bo njihovo sprejetje izjemno pomembno za ohranjanje družbeno-ekonomske in okoljske trajnosti visoko cenjenega vinogradniškega in vinarskega sektorja v Evropi (Santos in sod., 2020).

Čeprav ima vinska trta vrsto strategij preživetja, je njihov razvoj močno pod nadzorom vremena in podnebja v številnih procesih in časovnih okvirih. Stili vina in značilnost vin določene regije, ki ju prepoznavajo potrošniki, sta močno povezana z lokalnimi rastišči, kar povečuje ranljivost celotnega vinskega sektorja za podnebne spremembe. O grožnjah za vinogradniško primernost so poročali že v več vinorodnih regijah po vsem svetu. Nekatere spremembe so že opazili na različnih ravneh v sektorju vinarstva (Santos in sod., 2020). Poslovno poročilo ProWein za leto 2019 omenja, da vinogradniki že doživljajo pomembne spremembe v svojih vinogradih in se že odzivajo. Med prilagoditvami, ki se v mnogih regijah štejejo za najbolj nujne, so spremembe lokacije vinogradov, sort vinske trte in nekaterih gojitvenih praks, da bi se izognili večjim nepravilnostim v pridelavi in preprečili povečanje nestanovitnosti trga. Na splošno se podnebne spremembe dojemajo kot pomembno tveganje za vinogradništvo, ki v nekaterih primerih ogroža ali v večini primerov predstavlja izziv za vinogradništvo in vinarstvo (Santos in sod., 2020).

Podnebne spremembe so stalna prostorsko-časovna realnost, ki lahko ogroža sposobnost preživetja vinske trte (*Vitis vinifera* L.) v prihodnosti. Evropa se pojavlja kot posebno odzivno območje, kjer vinska trta je v veliki meri priznana kot ena najpomembnejših poljščin, ki ima ključno okoljsko in družbeno-gospodarsko vlogo. Vse več dokazov o pomembnih vplivih podnebnih sprememb na vinogradništvo spodbuja znanstveno skupnost k raziskovanju možnega razvoja teh vplivov v prihodnjih desetletjih. V raziskavi (Droulia in Charalampopoulos, 2021) je izveden prvi poskus zbiranja izbranih znanstvenih raziskav na to temo v relativno novejšem časovnem obdobju (2010–2020). V ta namen je bila izvedena temeljita preiskava z več iskalnimi poizvedbami, osredotočenimi izključno na napovedane parametre produktivnosti (časovni fenološki čas, kakovost proizvoda in pridelek) in spremembo obdelovalnih površin. Glavne ugotovitve o možnih vplivih prihodnjih podnebnih sprememb so opisane kot spremembe fenološkega časovnega razporeda vinske trte, spremembe v sestavi grozdja in vina, heterogeni učinki na pridelek vinske trte, širitev na območja, ki prej niso bila primerna za pridelavo vinske trte, in znatne geografske premike v tradicionalni pridelavi. Območja (Droulia in Charalampopoulos, 2021).

Sredozemlje velja za eno od regij, ki jih podnebne spremembe najbolj prizadenejo na svetu. Tradicionalno se vinogradništvo v tej regiji spopada z visokimi temperaturami, vročinskimi valovi in sušo. Takšne posebno ekstremne razmere, ki povzročajo močan abiotski stres za rastline, naj bi se zaradi napovedanih podnebnih sprememb v prihodnosti še stopnjevale. Naša

študija se osredotoča na vinogradništvo na otoku Santorini, ki se nahaja v južnem Egejskem morju (Grčija). Na otoku Santorini že tisočletja gojijo trto na lastnih koreninah zaradi vulkanske prsti otoka brez filoksera. Vinogradi sredozemskih regij se že srečujejo s težavami zaradi nenehnih podnebnih sprememb. Namen te študije je bil analizirati kronološke podnebne podatke, ovrednotiti trende spreminjanja podnebnih parametrov in bioklimatskih indeksov ter jih povezati z vinogradniškimi indeksi. Skratka, povprečna letna temperatura se je v zadnjih 45 letih dvignila za skoraj 4 °C in zabeležili smo občutno povečanje pogostosti dni z visokimi temperaturami. Bioklimatski kazalniki ustrezajo toplejšemu podnebjju s toplejšimi nočmi in daljšimi sušnimi obdobji. Nazadnje se zdi, da visoke temperature, ki se pojavljajo v kritičnih fazah razvoja in diferenciacije vinske trte, vplivajo na pridelavo v naslednji rastni sezoni, medtem ko so opaženi zgodnejši datumi trgatve in višja vsebnost sladkorja kot pred 45 leti (Xyrafis in sod., 2022).

2 SPREMEMBE V SESTAVI GROZDJA IN VINA

Podnebne spremembe se pojavljajo že nekaj desetletij zaradi spreminjanja atmosferskih koncentracij toplogrednih plinov in spreminjanja zemeljske površine zaradi krčenja gozdov, dezertifikacije in urbanizacije. Vloga podnebnih sprememb je pomembna za vse kmetijske pridelke in je še posebej opazna pri posebnih pridelkih, kot je grozdje. Posebni podnebni učinki so vključevali povečano močne padavine v številnih regijah po vsem svetu, pogostejše vročinske valove ter manj pogoste ekstremno nizke temperature in hladne valove. Dodatni vplivi so bili opaženi v pojavnosti velikih požarov v zahodnih Združenih državah Amerike, v Avstraliji in na Portugalskem, ki so vplivali na pridelavo grozdja in pridelavo vina v nekaterih regijah. Primer tega vpliva je povečana pogostnost v vinih, obremenjenih z vonjem in okisom po dimu, npr. v zahodnih Združenih državah Amerike in Kanadi ter Avstraliji. Številna gorska območja so doživela letne trende k zgodnejšemu spomladanskemu taljenju in zmanjšanju snežne odeje, kar vpliva na vodne vire za kmetijstvo, posledično pa so opazili povečano pogostost suš (Jones in sod., 2022).

Pomemben fiziološki rezultat podnebnih sprememb je tudi ločitev zrelosti grozdja na podlagi topnih trdnih snovi in zrelosti na podlagi sekundarnih metabolitov, kot so antocianini, fenoli in aromatične sestavine. Morda bo treba uvesti posebne kulturne prakse, da bi odložili zrelost plodov ali kako drugače ublažili ta pojav ločevanja. Pozitivne posledice globalnih podnebnih sprememb vključujejo nastanek in razvoj novih vinskih industrij v severni Evropi, npr. Anglija, Švedska, Danska in Poljska (Jones in sod., 2022).

Na pridelek in kakovost grozdja pomembno vplivajo podnebni dejavniki, velikega pomena pa so relief, izpostavljenost, temperaturne razmere, osvetlitev, fizikalne in mineralne lastnosti tal. Zaradi podnebnih razlik med vinorodnimi pokrajinami se pojavljajo različni stili vina, za katere so značilne različne lastnosti in kakovost. Idealno podnebje za gojenje vinske trte je toplo in suho. Nizke temperature pozimi in spomladi so eden od omejujočih dejavnikov, ko gre za območja, kjer je mogoče uspešno gojiti vinsko trto. Podnebni parametri, med njimi predvsem temperatura, vplivajo na razvoj fenofaz vinske trte (Gentilucci in sod., 2019). Podnebne spremembe lahko povečajo vpliv ključnih okoljskih dejavnikov, ki negativno vplivajo na vinograde. Trte so lahko oslABLJENE zaradi vodnega stresa in izpostavitve višjim temperaturam,

kar pa privede do njihove večje občutljivosti in slabšega fitosanitarnega stanja (Padua in sod., 2019).

Temperatura ima značilno vlogo pri trajanju faze zorenja grozdja, nastajanju aromatičnih in barvnih snovi v jagodni kožici. V povezavi s flavonoidi velja, da prispevajo k barvi, aromi in grenkobi vina, predstavljajo pa fotozaščito grozdnih jagod med dozorevanjem. Pri temperaturah nad 30 °C je inhibirana sinteza antocianinov, nad 37 °C pa je sinteza zaustavljena, kar vodi v slabšo obarvanost rdečih vin. S temperaturami je tesno povezana tudi tvorba neželenih aromatičnih spojin, predvsem 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalena (TDN), z aromo po kerozinu, bencinu ali petroleju (renski rizling), nadalje metoksipirazinov (MP), z zelenjavna nota in aromo po zeleni papriki (cabernet sauvignon, sauvignon) in nenazadnje z 2-aminoacetofenonom (AAP), kot odgovorno spojino za pospešeno staranje vina.

Kakovost vina je povezana z rodovitnostjo določene zemlje, ki je odvisna od številnih fizikalnih in kemijskih lastnosti ter globine tal. Nadmorska višina, naklon in izpostavljenost določajo tudi kakovost grozdja in vina, saj neposredno določajo temperaturo, morebitno nevarnost zmrzali in dostopnost vode, kar močno vpliva na fenologijo, sestavo jagod in zorenje grozdja (Gentilucci in sod., 2019).

Povprečna temperatura naj bi se do konca tega stoletja dvignila za 2 do 5 °C. To povečanje bo povzročilo zgodnejši začetek vegetacije in tudi zgodnejši začetek fenoloških stopenj trte. Podnebne spremembe vodijo v zgodnejši nastop in skrajšanje trajanja določenih fenofaz razvoja. Glede na raziskave je možno, da bodo do leta 2100 v ZDA izgubili kar 81 % površin, kjer se nahajajo vinogradi. V Kaliforniji lahko naraščajoče temperature in upadanje razpoložljive sladke vode povzročijo veliko izgubo zemlje, primerne za gojenje vinske trte. Nižje temperature od običajnih vodijo do nepopolnega zorenja, večje vsebnosti kislin in manjše vsebnosti sladkorja, z okusom, značilnim za grozdje, ki ni doseglo ustrezne tehnološke zrelosti. Po drugi strani pa previsoke temperature vodijo do prevelike vsebnosti sladkorja, manjše vsebnosti kislin (predvsem jabolčne), kar posledično pomeni višje alkoholne stopnje (med 13-15 vol. %) in t. i. »kuhanega« okusa vina.

Najvišji možni potencial kakovosti grozdja je na splošno dosežen, če so razmere v okolju zmerno omejene. Idealno ravnovesje v sestavi grozdja in zrelosti glede na razmerje sladkor:kislina, barvo in arome dobimo, ko dozorevanje grozdja poteka pri zmernih temperaturah. Zaradi pretirano hladnih podnebnih razmer med zorenjem lahko pride do zelenih in kislih vin. Previsoke temperature med sezono in trgatvijo lahko povzročijo neuravnoteženo sestavo sadja, pri čemer je raven sladkorja previsoka, kislost prenizka in aromatičen izraz, v katerem prevladujejo arome kuhanega sadja, zaradi česar vina nimajo svežine in aromatične kompleksnosti (van Leeuwen, 2019).

Hiter razvoj jagod pomeni, da mora enolog izbrati ali pozno trgatev, ki bo povzročila visoko stopnjo alkohola in grenka vina ali zgodnjo trgatev s slabo intenzivnostjo barve in manj kompleksno aromo, zaradi česar lahko potrošniki zavrnejo vina. Visoka stopnja alkohola predstavlja težavo za sprejemljivost potrošnikov in za dobro obvladovanje fermentacije, ker so previsoke koncentracije alkohola strupene za kvasovke in bi se fermentacija lahko zaustavila.

Omenjene negativne posledice so povezane predvsem z organoleptičnimi in kakovostnimi lastnostmi vina (Ubeda in sod., 2020).

Empirični rezultati študije (Biasi in sod., 2019) so pokazali na večkratno povezavo med fenologijo vinske trte, kakovostjo jagod (vključno s potencialno zdravstveno sposobnostjo grozdov) in podnebnimi spremembami v tradicionalni regiji, namenjeni pridelavi visokokakovostnega vina ZOP v osrednji Italiji. Temperatura zraka je bila prepoznana kot ključna podnebna spremenljivka, ki uravnava razmerje med okoljem in genotipom pri žlahtni vinski trti *Vitis vinifera* (L.). Poleg tega lahko spremenljivost temperature postane prevladujoči dejavnik, ki vpliva na kakovost vina (Biasi in sod., 2019).

Preglednica 1: Vpliv prisotna mikrobiota značilen vpliv na aromo in kakovost pridelanega vina

plesni	kvasovke	bakterije
okužbe grozdja v vinogradu	vpliv na kakovost grozdja pred trgatvijo (biokontrola plesni)	vpliv na kakovost grozdja pred trgatvijo
specifični prispevek pri pridelavi botriticidnih vin (plemenita plesen)	vodenje alkoholne fermentacije grozdnega soka v vino	potencialni vzrok za upočasnitev ali zaustavitev alkoholne fermentacije
tvorba mikotoksinov v grozdju in prenos v vino	pretvorba nevtralnih aromatičnih komponent grozdja v aktivne (hlapne) aromatične komponente vina	vodenje jabolčno-mlečnokislinske fermentacije
tvorba metabolitov, ki pospešijo ali inhibirajo rast vinskih kvasovk in mlečnokislinskih bakterij	vpliv na aromo vina in druge lastnosti, predvsem stabilnost, kot posledica avtolize	kvar med zorenjem vina v kleti in/ali po stekleničenju; tvorba biogenih aminov
povzročajo priokus po zemlji ali po plesni (rast na grozdju, v leseni posodi oziroma v zamaških)	adsorpcija in absorpcija komponent grozdnega soka	povzročajo priokus po zemlji ali po plesni (rast v leseni posodi oziroma v zamaških)
	kvar med zorenjem vina v kleti in/ali po stekleničenju	
	vpliv na rast bakterij	

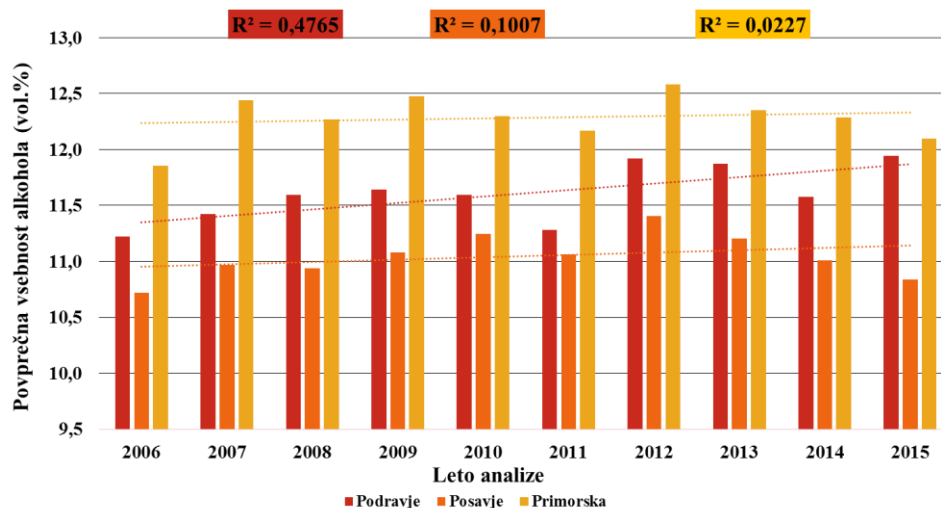
Ne glede na sestavo grozdnega soka se moramo zavedati, da igra prisotna mikrobiota značilen vpliv na aromo in kakovost pridelanega vina (preglednica 1). Vsako vino je namreč pridelek fermentacije grozdnega soka, prispevek posameznih mikroorganizmov od vinograda do steklenice pa se odraža v končnem pridelku (Fleet, 2003).

Praktično gledano bo grozdje v toplih in suhih trgatvah prej doseglo tehnološko zrelost (optimalna vsebnost sladkorjev in kislin), aromatične spojine pa bodo ostale "nerazvite". Če pa v vinogradu čakamo na oblikovanje ugodnega aromatičnega profila grozdja, bo razmerje med sladkorji in kislinami nezaželeno in nastajala bodo »mlahava« vina.

Povišane temperature lahko spremenijo arome mošta in kasneje pa vina kot posledica sinteze terpenov v jagodi (linalool, nerol, geraniol ...). Razgradnja aromatičnega prekursorja 3-izobutil-2-metoksipirazina, značilnega za sorti vinske trte 'Sauvignon' in 'Cabernet sauvignon', je večja v toplejših letnikih. Vsebnost primarnih okusov, značilnih za beli muškat, je bila v sušnih letih zadnjih dveh desetletij v severovzhodni Sloveniji značilno.

Podnebne spremembe in posledične spremembe vremenskih vzorcev in ravni ogljikovega dioksida lahko povzročijo premike v kemiji grozdja in posledično kakovosti vina. To se že vidi po svetu. Od majhnega premika sezonske temperature lahko ločimo med slabšim, dobrim ali odličnim letnikom. Hladnejše temperature od običajne vodijo v nepopolno zorenje z visoko kislostjo, manjšo vsebnostjo sladkorja in nezrelim okusom, medtem ko toplejša temperatura od običajne temperature ustvarja prezrelo sadje z nizko kislostjo, veliko vsebnostjo sladkorjev, visoko alkoholno stopnjo in arome po kuhanem.

Z zmerno naraščajočo alkoholno stopnjo se srečujemo tudi sami. Slika 1 prikazuje povprečne vsebnosti alkohola po posameznih vinorodnih deželah v obdobju 2006-2015. V opazovanem obdobju smo ugotovili zmerni trend (R^2 , rdeča vina 0,69, rdečkasta vina 0,52, bela vina 0,03) naraščanja povprečne vsebnosti alkohola ($11,72 \pm 1,15$ vol. %). Pričakovano je bilo med posameznimi vinorodnimi deželami v Sloveniji odstopanje v vsebnosti alkohola in ostalimi kemijskimi parametri. Največje povečanje vsebnosti alkohola smo opazili v vinorodni deželi Podravje ($R^2 = 0,48$).



Slika 1: Povprečne vsebnosti alkohola po posameznih vinorodnih deželah

Od preostalih ugotovitev bi izpostavili še, da se povprečna vrednost pH, koncentracija reducirajočih sladkorjev, pepela in relativna gostota v vinih povečujejo, za razliko od koncentracije ekstrakta brez sladkorja in skupnih kislin, ki se zmanjšujeta. Naša rdeča vina imajo v povprečju višje vrednosti pH in večjo vsebnost alkohola kot bela in rdečkasta vina, v tem obdobju pa smo zabeležili tudi dvig povprečne senzorične ocene, torej višjo kakovost vin.

Premik sezonske temperature navzgor bo dramatično premaknil rastno sezono in tako spremenil običajni vzorec razvoja grozdja v smeri zgodnejšega začetka cvetenja, veraisona in trgatve (Keller, 2009). Keller (2009) opozarja: "Čas za veraison je lahko še posebej pomemben, saj prejšnje veraison pomeni, da se kritično obdobje zorenja pomika proti toplejšemu delu sezone." Učinki na kemijo grozdja so pomembni: povišan sadni sladkor, manjše koncentracije kislin (zlasti jabolčne kisline) ter manjše vsebnosti antocianinov in metoksipirazinov. Višji sladkor vodi v premik alkohola, spreminjanje okusov in občutkov v ustih. Nižja jabolčna kislina, ki ni podvržen fermentaciji z mlečnokislinskimi bakterijami, lahko prisili v dodatek vinske kisline za izboljšanje občutka v ustih in mikrobiološko stabilnost (Keller, 2009). Manj antocianinov

zmanjša "barvni potencial" v rdečih vinih. Pozitivno pa je, ker toplejše temperature ponavadi zmanjšajo kopičenje pirazina in povečajo njihovo razgradnjo, zato bi moralo zvišanje povprečnih temperatur vegetacije povzročiti manjšo pogostost vin z aromo po zelenem (zelenjava, trava, rastlinske note) (Keller, 2009). V obsežni statistični študija, ki je izmerila učinek naraščajočih temperatur na nemško pridelavo grozdja, zlasti glede ravni sladkorja in pridelka vinogradov, je Shultz (2010) ugotovil, da je v zadnjih desetletjih opazna razlika v vsebnosti sladkorja v moštu, zlasti pri nemških belih sortah. Druga študija v Avstraliji je pokazala, da je bil učinek temperature na vsebnost skupnih kislin (SK) in vrednost pH drugačen. natančneje: 'Cabernet franc' in 'Chardonnay' sta doživela največje premike v SK in pH, 'Semillon' je doživel širše variacije pH, 'Shiraz' pa je pokazal majhne spremembe v obeh meritvah (Sadras in, 2013). Poleg tega naj bi povečanje CO₂ spremenilo kakovost vina. Po Schultzu (2010) lahko povečanje CO₂ v kombinaciji z zvišanjem temperature in spremembami relativne vlažnosti poveča biomaso, poveča sladkor (torej alkohol) in zmanjša raven kisline, kar bo vplivalo na aromo in okus grozdja. Povečanje CO₂ bo povzročilo hitrejšo rast in s tem večjo koncentracijo sladkorjev in razvoj debelejšje jagodne kožice (tj. več taninov). Zato je gotovo, da bodo podnebne spremembe, pa naj bodo še tako majhne, spremenile kemijo grozdja za trenutno veljavno vino.

3 SENZORIČNA KAKOVOST VIN

Napredek v vinarstvu in tehnologiji zadnjih let, skupaj s spremembami v vinskih stilih, ki jih zahtevajo potrošniki, je povzročilo, da so današnja vina zelo drugačna od tistih iz novejših zgodovine. Čeprav je prišlo do številnih pozitivnih sprememb, so vinski slogi postali bolj standardizirani in globalizirani. Pojavnost nekaterih napak in bolezni vina se je zmanjšala, druge pa so se povečale. Obstajajo izzivi pri podrobnem določanju senzoričnih pragov zaznavanja napak in meja med vinom, ki je pomanjkljivo, in tistim, ki je obremenjeno z napako ali boleznijo, ni vedno jasna. Včasih je lahko vino, ki je tehnično pokvarjeno, čudovitega okusa. Razlikovanje, ki se pogosto pojavlja v živilski industriji, med "napakami" in "manama" ima omejeno veljavnost pri obravnavanju vin. Nekatere spojine, ki so prisotne v vinu, lahko negativno vplivajo na zdravje ljudi, zato visoka vsebnost katere koli od teh povzroči okvaro vina (Grainger, 2021).

Znano je, da imajo različni ljudje glede na vrsto napake različne pragove občutljivosti za odkrivanje in toleranco. Ena stvar je zaznati napako, druga jo prepoznati in še ena - se odločiti, ali gre za prispevek h kakovosti in kompleksnosti vina, ali za njuno zmanjšanje in poslabšanje kakovosti vina. Obstaja še višji prag za popolno zavrnitev. Ali so pivci vina strpna skupina ali pa ne moremo vedno ugotoviti, ali je vino neustrezno? Ali pa bi se raje izognili konfliktu? Ena najpomembnejših težav, ki jih povzročajo napake poleg ekonomskih stroškov, je škoda ugleda.

Po pogostnosti so napake vina trikloranizol (TCA), Brett karakter in povišane hlapne kisline, oksidacija in hlapne žveplove spojine ter neznačilna starikava nota (Grainger, 2021).

Na prvem mestu napak najdemo družino kemikalij, znanih kot haloanizoli, vključno z zloglasnim in škodljivim TCA, za katerega ni zdravila. Večina bo razumela, da so bili zamaški pomemben vir kontaminacije v vinu. Vendar pa odpira oči ugotovitev, da so haloanizoli zelo

razširjeni tudi v farmacevtski industriji ter hrani in drugih pijačah, kot so pivo, kava in celo voda iz pipe.

Sledi Brett karakter, ki ga povzroča kvasovka rodu *Dekkera/Brettanomyces*. Obstaja že od začetka pridelave vina, vendar so ga prvič odkrili v pivovarni Carlsberg v Kopenhagnu in je pogosto pomembna sestavina okusa piva. V praksi je Brett pogosto povezan s povišanimi hlapnimi kislinami, ni pa nujno. V majhnih koncentracijah hlapna fenola (4-etilfenol in 4-vinilgvajakol) nekaterim ponujata razsežnost kompleksnosti in pozitivno prispevata k nekaterim najbolj izjemnim svetovnim vinom. Nasprotno pa za druge le kažejo na nezadostno higieno pridelave vina in prekrijejo njegov sortni značaj.

Za Brett karakterjem že sledita oksidacija in hlapne žveplove spojine, katerih senzorični opisniki so zbrani v preglednici 2. V naših razmerah je oksidacija ena najpogostejših napak.

Preglednica 2: Senzorični opisniki hlapnih žveplovih spojin

spojina	formula	senzorični opisnik	območje (µg/L)
vodikov sulfid	H ₂ S	gnila jajca, kanalizacija, odplake	0,9-1,5
etil merkaptan	CH ₃ CH ₂ SH	zažgana vžigalica, žveplo, zemlja	1,1-1,8
metil merkaptan	CH ₂ SH	gnilo zelje, ohrovt, zažgana guma	1,5
dietil sulfid	CH ₃ CH ₂ SCH ₂ CH ₃	radirka, kavčuk, guma	0,9-1,3
dimetil sulfid	CH ₃ SCH ₃	koruza, kuhano zelje ali ohrovt, asparagus	17-25
dietil disulfid	CH ₃ CH ₂ SSCH ₂ CH ₃	česen, zažgana guma	3,6-4,3
dimetil disulfid	CH ₃ SSCH ₃	rastlinski, po zelenem, zelje ali ohrovt, čebula	9,8-10,2
ogljikov disulfid	CS ₂	sladek, eteričen, rahlo po zelenem, sulfiden	5

V povezavi s podnebnimi spremembami se pogosteje srečujemo z neznačilno starikavo noto ali atipičnim staranjem, ki je za nekatere komaj poznano, vendar je vedno večji problem pri mladih belih in rosé vinih, ki izgledajo, dišijo in okusijo veliko mimo tega. Ustvarja ga stres vinogradov v vročih letih, zaradi podnebnih sprememb pa postaja vse pogostejši.

Nenazadnje pa postaja že velik problem, zlasti v Kaliforniji, Južni Afriki in Avstraliji, tudi vonj in okus vina po dimu, ki ga povzročajo obsežni gozdni požari (Grainger, 2021).

Preglednica 3: Vpliv pH na značilnosti vina

značilnost	nizek pH (3,0-3,4)	visok pH (3,6-4,0)
oksidacija	manjša	večja
intenziteta barve	večja	manjša
videz barve	rumeno-zelena, slamnata vijolična, rubinasta	zlata, jantarna čebulna, rjava
beljakovinska stabilnost	boljša	slabša
rast bakterij (fermentacija, kvar)	manjša	večja
učinkovitost SO ₂	večja	manjša

Večina pomanjkljivosti, napak in bolezni vina je povezana tudi z vrednostjo pH (preglednica 3).

Na splošno se kaže vpliv pH tudi v bolj pozitivnih senzoričnih lastnostih in sicer v intenzivnosti in odtenku barve, dodatno pa je slabša tudi stabilnost barve pri višjem pH; pri rdečih vinih je ravnotežje na strani rdečih barvil. Nadalje se odraža tudi v intenzivnosti okusa; predvsem svežina in kompleksnost okusa je manj izrazita pri višjem pH kot 3,5-3,6 (govorimo o omlednosti vina), dodatno pa k izrazitejši sortnosti prispeva pri nižjem pH tudi večja vsebnost primarnih arom – monoterpenov.

Povečanje koncentracije alkohola v vinih in povečanje temperature okolja poveča tudi pH. Omeniti velja, da se vsebnost jabolčne kisline zmanjšuje z višjimi temperaturami, nižja kislost pa je običajno povezana z višjim pH grozdja. To zvišanje pH je problematično, saj lahko spodbuja rast mikroorganizmov v grozdju, glivično kontaminacijo in s tem tvorbo toksinov, kot je ohratoksin A (OTA), prisoten v grozdju in posledično v vinu, pa tudi širjenje kvarljivih nepatogenih sevov kvasovk, kot je rod *Brettanomyces*. Da bi se temu izognili, je običajno, da vinu dodajamo protimikrobna sredstva. Pomembno je poudariti, da se med zorenjem grozdja količina dušikovih spojin poveča, zato naj bi bila v prezrelem grozdju velika vsebnost dušika. To bi lahko bil potencialni tehnološki problem, ker bi pomenil večjo količino čistilnega sredstva, ki se dodaja nestabilnim beljakovinam, pa tudi zdravstveni problem, ki povečuje možnost tvorbe biogenih aminov (Ubeda in sod., 2020).

V povezavi z varnostjo vina so poleg podnebnih sprememb v ozadju že nova vprašanja, povezana s povečanjem vsebnosti alkohola v vinih in ostankih fitofarmaceutskih sredstev na zrelem grozdju, ki lahko vplivajo na fermentacijo in tudi zdravje potrošnikov. V zadnjem času poročajo, da lahko onesnaženje okolja povzroči prisotnost strupenih spojin, kot sta akrolein in furfural v grozdju in vinih (Ubeda in sod., 2020).

4 SPREMEMBE V TEHNOLOGIJI PRIDELAVE VINA

Za kompenzacijo višjih temperatur v kleti potrebujemo hladilno opremo, vključno s temperaturno regulacijo za vodenje in dokončanje primarna (alkoholne) in jabolčno-mlečnokislinske fermentacije. Čeprav so dejavniki, ki lahko omejijo fermentacijo (nizek pH, pomanjkanje hranil, večje vsebnosti etanola in koncentracije SO₂), Mira de Orduña predlaga povečanje hladilne zmogljivosti kleti (Mira de Orduña, 2012). Upoštevati je treba, da lahko zgodnja trgategv in višje temperature okolja močno vplivajo na spojine okusa/arome ter histrost in obseg oksidativnih reakcij v predfermentativnih fazah, kot so odstranjevanje pecljevine, drozganje, stiskanje in usedanje (Mira de Orduña, 2012).

Za zmanjšanje učinka višje sladkorne stopnje grozdja in posledično večje vsebnosti alkohola v vinu, imamo na razpolagi različne seve kvasovk, ki so bolj tolerantni na alkohol (Vink in sod., 2009). Za kompenzacijo višje sladkorne stopnje mošta velja razmisliti tudi o uporabi tehnik zmanjševanja sladkorja, kot sta ultrafiltracija in reverzna osmoza (E-VitiClimate, 2012). Mira de Orduña opozarja, da »mošti z večjo koncentracijo sladkorjev povzročajo stresni odziv v kvasovkah, kar vodi do povečane tvorbe sekundarnih produktov njihovega metabolizma, kot je neželena očetna kislina. Če manjša kislost in obratno višji pH ni nadzorovan z dodatkom kisline, lahko višji pH povzroči pomembne spremembe v mikrobnem ekologiji mošta in vina ter poveča tveganje za kvar in senzorično nesprejemljivost (Mira de Orduña, 2012).

Vink in sod. (2012) tudi navajajo, da so vsaj trije ključni in med seboj povezani vidiki južnoafriške vinske industrije, ki bodo vplivali na njeno ravnanje in obliko do leta 2030. To so uspešnost industrije v globalnem kontekstu, podnebne spremembe in način, kako se industrija odziva na ta poseben izziv. Slednje, izvor industrije, kar se odraža v načinu, kako pojem rastišča (fr. terroir) razumejo in uporabljajo zainteresirane strani, vključno s proizvajalci in potrošniki. Industrijo so že prizadele podnebne spremembe, moramo pa upoštevati vlogo, ki jo je rastišče igralo in naj bi jo imelo v prihodnosti, med drugim kot del strategij za ublažitev podnebnih sprememb. V vseh treh primerih je poudarek na povezavah med temi tremi elementi.

Obstaja tudi možnost kompenziranja variabilnosti letnika, zlasti v smislu kompleksnosti in stila vina, tj. tehnike mešanja (Vink in sod., 2009) in zgodnejša trgatve. Namesto zgodnje trgatve in manjše vsebnosti kislin v belih vinih pride v poštev tudi tehnologija zorenja na finih drožeh, da ohranimo spojine sadnega okusa, zaščitimo vino pred oksidacijo in povečamo sproščanje manoproteinov iz odmrlih kvasnih celic.

Da bi ublažili učinek sežiganja fosilnih goriv pri proizvodnji električne energije, razmislite o sončnih obnovljivih virih energije v obliki sončne toplotne in fotovoltaične energije. Možne prihranke omogoča integracija "majhne" solarne instalacije v vinsko klet, ki lahko predstavlja 18 % prihrank pri porabi energije v primerjavi s svetovno vinarsko industrijo kot celoto (Smyth in Russell, 2009; Campos in sod., 2019).

Vinogradništvo in vinarstvo je močno odvisno od vremena in podnebja, morebitne prihodnje spremembe letnih časov, njihovega trajanja, lokalnega maksimuma, minimalnih in srednjih temperatur, pojava zmrzali in akumulacije toplote bi lahko močno vplivale na vinogradniška območja sveta. Glede na to, da ima vinogradniška industrija velike energetske potrebe in je pod neposrednim vplivom vseh podnebnih sprememb, bi morala biti industrija v ospredju pri spodbujanju energetske učinkovitosti in sprejemanja obnovljivih tehnologij. Sončni obnovljivi viri energije v obliki sončne toplote in fotovoltaike ponujajo brezplačno rešitev za številne vinogradniške procese (Campos in sod., 2019).

Že nekoliko starejši članek (Smyth in Russell, 2009) predstavlja vrsto vinogradniških in vinarskih procesov, pri katerih se sončna energija lahko neposredno ali posredno uporablja, in nakazuje potencial sončne energije pri znatnih prihrankih, tako pri porabi energije kot pri emisijah toplogrednih plinov. Skupna svetovna poraba energije v vinarski industriji je ocenjena na več kot 105 PJ, ki izpusti skoraj 16 milijonov ton CO₂. Če vključimo pomožne industrije, kot sta izdelava steklenic in transport, je skupni ogljični odtis industrije ocenjen na več kot 76 milijonov ton CO₂.

V novejši raziskavi Campos in sod. (2019) poudarjajo, da velike energetske potrebe proizvodnje vina predstavljajo izziv in priložnost za sprejetje nizkoogljičnega, bolj trajnostnega in potencialno cenejšega energetskega modela. Najboljši dejavniki so povezani s pričakovanji družbe za bolj zeleno pridelavo vina, pa tudi z odgovornostjo prispevati k zmanjšanju emisij ogljika in stroškov energije; medtem so glavne omejitve finančne, pravne in tehnološke. Zaključki ponujajo nekatere politične posledice in možnosti za prihodnje raziskave.

Nenazadnje je potrebno razviti in izvajati sistem za ohranjanje operativne vzdržnosti in konkurenčnosti, v smislu načrtovane spremembe za napovedovanje prihodnjih podnebnih vplivov in s tem zmanjšanje ranljivosti naše panoge (Lereboullet in sod., 2013a,b).

Če ostanemo v Sloveniji, se naši pridelovalci v veliki meri že poslužujejo sodobnejših tehnoloških postopkov, npr.: uporaba flotacije pri bistrenju belih in rose moštov, hladna maceracija belega grozdja z ali brez uporabe pektolitičnih encimov, pridelava sortnih belih vin z reduktivno tehnologijo, ustrezna izbira kvasovk in upoštevanje njihovih potreb po hranilih, izkoriščanje zorenja belih vin na kvasovkah («sur lie» tehnologija), možnost pridelave belih vin iz rdečega grozdja, pridelava penečih vin - izkoriščanje prednosti nižjega pH in nizke sladkorne stopnje grozdja, podaljšana maceracija rdečega grozdja, v določenih zelenih primerih vodena jabolčno-mlečnokislinska fermentacija (biološki razkis), uvedba tehnologije mikrooksigenacije in optimalna zaščita vina med zorenjem v leseni posodi.

5 ZAKLJUČEK

Priporočila za vinograde obsegajo naslednje: nočna trgatev, uvedba ozimnih posevkov, uporaba sistemov za prečiščevanje vode, zamenjava obstoječih sort z odpornejšimi, uvedba integriranega sistema zatiranja škodljivcev. V okviru vinske kleti se priporoča uporaba hladilne opreme, upravljanje krošnje, uporaba sevov kvasovk, ki so bolj tolerantne na etanol, uporaba ultrafiltracije in reverzne osmoze, uporaba tehnik mešanja vina, ...

Omejitve izhajajo iz dejstva, da na strategije prilagajanja vplivajo lokalne razmere različnih vinskih regij sveta, ki se med seboj razlikujejo. Podnebne spremembe ne vplivajo le na fiziologijo in biokemijo grozdja, temveč tudi na metode in tehnologijo pridelave vina. Pridelovalci morajo določiti, kako bodo podnebne spremembe konkretno vplivale na lokacijo njihovih vinogradov, in zato razviti načrt, ki jim bo omogočil ohranjanje kakovosti, identitete in dobička.

Predvidene spremembe podnebja v evropskih vinogradniških regijah v prihodnjih desetletjih lahko bistveno spremenijo tako spekter kot porazdelitev trenutno zasajenih sort vinske trte. Spremembe, opažene v zadnjih letih, potrjujejo te napovedi. Zlasti premiki v vzorcih padavin bodo prizadeli večino evropskih regij s povečanim tveganjem za sušo, in glede na ta scenarij bi bile posledice najbolj dramatične za Iberski polotok. Postopke tal bo morda treba prilagoditi, da bi upoštevali spremembe vlažnosti tal in stopnje razpada organske snovi. Samo naraščajoča koncentracija CO₂ lahko poveča pridelavo grozdja in učinkovitost porabe vode, vendar obsežnejše študije napovedujejo zmanjšanje pridelka, če se hkrati upošteva povečanje temperature in spremembe sončnega sevanja. Kot del teh sprememb v sončnem sevanju se bodo ravni UV-B sevanja verjetno še naprej povečevale in bodo neposredno vplivale na sestavo grozdja in s tem na razvoj okusa s spremembo sekundarnih presnovkov, kot so flavonoidi, aminokisliline in karotenoidi (Schultz, 2008).

Pomen vinogradništva je splošno priznan po vsej Evropi, saj je v zadnjih stoletjih na tej celini igral vlogo v kulturnem in družbeno-ekonomskem sektorju. Za znane vinorodne regije v Evropi so značilne okoljske značilnosti, ki prevladujejo v posameznih regijah, zato lahko glede na

znani vpliv podnebja na ta pridelek podnebne spremembe potencialno vplivajo na pridelek in kakovost vinske trte. Nedavni temperaturni trendi, ki se osredotočajo na vinogradniške regije, kažejo, da so se povprečne temperature rastne sezone od leta 1950 do 2004 v Evropi povečale za skoraj 2 °C. Prihodnji trendi kažejo na dvig temperature in spremembe padavin v rastni sezoni, kar lahko prinese spremembe v pridelku in kakovosti vina. Čeprav ima vinska trta več strategij preživetja, obsežni dokazi o pomembnih podnebnih spremembah v prihodnjih desetletjih zahtevajo, da se sprejmejo prilagoditveni ukrepi. Kratkoročne prilagoditvene ukrepe je treba obravnavati kot prvo strategijo zaščite pred podnebnimi spremembami in se osredotočiti na posebne grožnje. Ti ukrepi večinoma pomenijo spremembe v praksi upravljanja, medtem ko so spremembe v enoloških praksah potrebne tudi zaradi tehnološkega napredka (Fraga in sod., 2012).

Fraga (2019) je izpostavil podnebje kot pomemben dejavnik, ki spodbuja fiziološki razvoj vinske trte, vegetativno rast, fenologijo, pridelavo in posledično kakovost vina. Podnebni dejavniki določajo tudi geografsko lego vinogradov in spremenljivost vremenskih parametrov, kot so temperature, padavine in sončno sevanje, kar vodi do letnih sprememb rodnosti. Znano je tudi, da vremenski ekstremi škodljivo vplivajo na rodnost in kakovost vinske trte, in sicer toča, pozne zmrzali in prekomerne padavine (Fraga, 2019).

Podnebne spremembe močno vplivajo na pridelavo vinske trte po vsem svetu. To bo vplivalo tudi na kakovost vina, kar bo sprožilo gospodarska vprašanja. Morebitne prilagoditve so lahko posledica sprememb rastlinskega materiala, vinogradniških tehnik in procesa pridelave vina. Premik vinogradov na hladnejša območja in povečano namakanje sta še druge možnosti, vendar lahko povzročita morebitne konflikte glede rabe zemlje in vode. Grozdje trenutno pridelujejo v številnih regijah po vsem svetu, pridelovalci pa so svoje prakse prilagodili širokemu razponu podnebnih razmer, ki jih lahko najdemo med ali znotraj teh območij. To znanje je dragoceno za prepoznavanje možnih prilagoditev podnebnim spremembam. Ker podnebne spremembe vplivajo na vse dejavnosti, povezane s pridelavo vina (gojenje grozdja, pridelava vina, vinsko gospodarstvo in okoljska vprašanja), so potrebne multidisciplinarne raziskave, ki usmerjajo pridelovalce, da še naprej proizvajajo visokokakovostna vina na gospodaren in okoljsko trajnosten način. Pomembno je, da se pridelovalci in potrošniki zavedamo globalnega segrevanja in podnebnih sprememb kot velike grožnje za pridelavo kakovostnega in zdravega grozdja, iz katerega pridelamo vsaj toliko kakovostno vino.

6 VIRI

- Battaglini A., Barbeau G., Bindi M., Badeck, F.W. 2008. European winegrowers' perceptions of climate change impact and options for adaptation. *Regional Environmental Change*, 9(2): 61–73, doi: 10.1007/S10113-008-0053-9
- Biasi R., Brunori E., Ferrara C., Salvari L. 2019. Assessing impacts of climate change on phenology and quality traits of *Vitis vinifera* L: The contribution of local knowledge. *Plants*, 8(5): 121, doi: 10.3390/plants8050121
- Burney J.A., Kennel, C.F., Victor, D.G. 2013. Getting serious about the new realities of global climate change. *Bulletin of the atomic scientists*, 69(4): 49-57, doi: 10.1177/0096340213493882
- Campos I., Marín-González E., Luz G., Barroso J., Oliveira N. 2019. Renewable Energy Prosumers in Mediterranean Viticulture Social-Ecological Systems. *Sustainability*, 11(23): 6781, doi: 10.3390/su11236781

- Chaudhari G.N., Rajkumar B.K., Shreedhara P. 2018. Climate Change and Food Security. Biomolecules report, BR/02/18/08: 6 str.
- Droulia F., Charalampopoulos I. 2021. Future Climate Change Impacts on European Viticulture: A Review on Recent Scientific Advances. *Atmosphere*, 12(4):495, doi: 10.3390/atmos12040495
- E-VitiClimate. 2012. Lifelong Learning Project, E-VitiClimate. EuroProject Lifelong Learning Programme. <http://www.eviticlimate.eu>. (1. 6. 2022).
- Fraga H. 2019. Viticulture and winemaking under climate change. *Agronomy*, 9, 783. doi: 10.3390/agronomy9120783
- Fraga H., Malheiro A.C., Moutinho-Pereira J., Santos, J.A. 2012. An overview of climate change impacts on European viticulture. *Food and Energy Security*, 1: 94–110, doi: 10.1002/fes3.14
- Gentilucci M., Barbieri M., Burt P. 2019. Climate and Territorial Suitability for the Vineyards Developed Using GIS Techniques. V: Exploring the Nexus of Geoecology, Geography, Geoarcheology and Geotourism: Advances and Applications for Sustainable Development in Environmental Sciences and Agroforestry Research. Chenchouni H., Errami E., Rocha F., Sabato L. (ed). CAJG 2018. Advances in Science, Technology & Innovation. Cham, Springer, doi: 10.1007/978-3-030-01683-8_3: 4 str.
- Graham H. Fleet, 2003. Yeast interactions and wine flavour, *International Journal of Food Microbiology*, 86(1-2): 11-22, doi: 10.1016/S0168-1605(03)00245-9
- Grainger K. 2021. Faults, flaws, off-flavours, taints, and undesirable compounds. V: Wine faults and flaws: a practical guide. Grainger K. (ed.). Hoboken, NY, Wiley-Blackwell: 1-12, doi: 10.1002/9781118979082.ch1
- Jones G., Webb L. 2010. Climate Change, Viticulture, and Wine: Challenges and Opportunities. *Journal of Wine Research*, 21(2-3): 103-106, doi: 10.1080/09571264.2010.530091
- Jones G.V., Edwards E.J., Bonada M., Sadras V.O., Krstic M.P., Herderich M.J. 2022. Climate change and its consequences for viticulture. V: Managing Wine Quality (Second Edition), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Reynolds A.G. (ed.). Woodhead Publishing: 727-778, doi: doi.org/10.1016/B978-0-08-102067-8.00015-4
- Lereboullet A., Beltrando G., Bardsley D.K. 2013b. Assessing vulnerability and framing adaptive options of two Mediterranean wine growing regions facing climate change: Roussillon (France) and McLaren Vale (Australia). *EchoGéo*, 23: 20 str. doi: 10.4000/echogeo.13384
- Lereboullet A., Beltrando G., Bardsley D.K. 2013b. Socio-ecological adaptation to climate change: A comparative case study from the Mediterranean wine industry in France and Australia. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 164: 273-285, doi: 10.1016/j.agee.2012.10.008
- Mira de Orduña R. 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production, *Food Research International*, 43(7): 1844-1855, doi: 10.1016/j.foodres.2010.05.00
- Mozell M.R., Thach L., 2014. The impact of climate change on the global wine industry: Challenges & solutions. *Wine Economics and Policy*, 3(2): 81-89. doi: 10.1016/j.wep.2014.08.001
- Padua L., Marques P., Adão T., Guimarães N., Sousa A., Peres E., Sousa, J.J. 2019. Vineyard variability analysis through UAV-based vigour maps to assess climate change impacts. *Agronomy*, 9(10): 581, doi: 10.3390/agronomy9100581
- Santos J.A., Fraga H., Malheiro A.C., Moutinho-Pereira J., Dinis L.-T., Correia C., Moriondo M., Leolini L., Dibari C., Costafreda-Aumedes S., Kartschall T., Menz C., Molitor D., Junk J., Beyer M., Schultz H.R..2020. A Review of the Potential Climate Change Impacts and Adaptation Options for European Viticulture. *Applied Sciences*, 10(9):3092, doi: 10.3390/app10093092
- Schultz H.R. 2008. Climate change and viticulture: A European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 6: 2-12, doi: 10.1111/j.1755-0238.2000.tb00156.x
- Shanmuganathan S., Narayanan A., Sallis P. 2012. Climate Change and Grape Wine Quality: A GIS Approach to Analysing New Zealand Wine Regions. V: Human and Social Dimensions of Climate Change. Chhetri N. (ed.). London, IntechOpen, doi: 10.5772/51252
- Smyth M., Russell J. 2009. From graft to bottle - Analysis of energy use in viticulture and wine production and the potential for solar renewable technologies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(8): 1985-1993, doi: 10.1016/j.rser.2009.01.007
- Ubeda C., Hornedo-Ortega R., Cerezo A. B., Garcia-Parrilla M. C., Troncoso A. M. 2020. Chemical hazards in grapes and wine, climate change and challenges to face. *Food Chemistry*, 314:126222, doi:

10.1016/j.foodchem.2020.126222

- van Leeuwen C., Destrac-Irvine A., Dubernet M., Duchene E., Dowdy M., Marguerit E., Pieri P., Parker A., de Resseguier L., Ollat N. 2019. An update on the impact of climate change in viticulture and potential adaptations. *Agronomy*, 9(9): 514, doi: 10.3390/agronomy9090514
- Vink N., Deloire A., Bonnardot V., Ewert J. 2009. Terroir, climate change, and the future of South Africa's wine industry. Australian Agricultural and Resource Economics Society. pre-AARES conference workshop on The World's Wine Markets by 2030: Terroir, Climate Change, R&D and Globalization, Adelaide Convention Centre, Adelaide, South Australia, 7-9 February 2010: 20 str.
- Vink N., Deloire A., Bonnardot V., Ewert J. 2012. Climate change and the future of South Africa's wine industry. *International Journal of Climate Change Strategies and Management*, 4: 420-441, doi: 10.1108/17568691211277746
- Xyrafis E.G., Fraga H., Nakas C.T., Koundouras, S. 2022. A study on the effects of climate change on viticulture on Santorini Island. *OENO One*, 56(1): 259–273, doi: 10.20870/oenone.2022.56.1.4843

MESO IN MESNI NADOMESTKI

Tomaž POLAK¹, Mateja LUŠNIC POLAK², Lea DEMŠAR³

Povzetek: V zadnjih letih se je povečalo zanimanje za izdelke, ki imitirajo meso, tako po izgledu, kot tudi po senzoričnih lastnostih. Na to so vplivala številna družbena gibanja in prizadevanja različnih socialnih krogov. Dejstvo je, da se na eni strani globalno povečuje povpraševanje po različnih vrstah mesa, na drugi pa poteka soočanje z izzivi zagotavljanja oskrbe z njim. V Sloveniji letno na prebivalca zaužijemo 92,6 kg različnih vrst mesa (vključno z mesnimi izdelki). Čeprav so živalske beljakovine najpomembnejši vir beljakovin, njihova proizvodnja zahteva ogromno obdelovalnih površin in vodnih virov. Na drugi strani pa je proizvodnja mesnih nadomestkov tudi energijsko potraten proces, ki je v nasprotju s trendom minimalno predelanih živil. Trenutno dostopni mesni nadomestki so v glavnem izdelani iz rastlinskih beljakovin, zlasti sojinih, z bolj ali manj posrečeno imitacijo arome in teksturnih lastnosti mesa. Napredna tehnologija omogoča razvoj novih nadomestkov, kamor prištevamo tudi *in vitro* meso ali umetno meso. Mesni nadomestki iz insektov, ki niso samo vir beljakovin, ampak vsebujejo tudi zadostne količine vitaminov, nenasičenih maščobnih kislin in mineralov, predstavljajo morda pomemben alternativni vir beljakovin v prihodnosti. Na prvem mestu v procesu razvoja mesnih nadomestkov je še vedno potrošnik, ki zahteva varnost, prehransko ustreznost in senzorično sprejemljivost izdelka. Hkrati se moramo zavedati, da meso spada med minimalno predelana živila, brez dodanih pomožnih sestavin in aditivov, medtem ko mesni nadomestki sodijo med visoko predelana živila. Glede porabe energije in vpliva na okolje, je potrebno gledati celostno in v prihodnosti ustvariti ravnovesje med porabo živalskih in rastlinskih beljakovin.

Ključne besede: meso, mesni nadomestki, rastlinske beljakovine, aditivi

MEAT AND MEAT ANALOGUES

Abstract: In recent years, interest in products that imitate meat has increased, both in terms of appearance and sensory properties. This has been influenced by many social movements and the efforts of various social circles. The fact is that, on the one hand, the demand for different types of meat is increasing worldwide and, on the other hand, the challenges of ensuring meat must be overcome. In Slovenia, we consume 92.6 kg of different types of meat (including meat products) per capita per year. Although animal protein is the most important source of protein, its production requires a large amount of arable land and water resources. On the other hand, the production of meat substitutes is also an energy-intensive process that runs counter to the trend toward minimally processed foods. Currently available meat substitutes are mainly made from plant proteins, especially soy, and more or less imitate the taste and texture characteristics of meat. Advanced technology is enabling the development of new substitutes, including *in vitro* meat or artificial meat. Insect meat substitutes, which are not only a source of protein but also contain adequate amounts of vitamins, unsaturated fatty acids and minerals, could be an important alternative protein source in the future. The top priority in the development of meat substitute products is still the consumer, who demands safety, adequate nutritional value and sensory acceptability of the product. At the same time, we must be aware that meat is a minimally processed food, with no added excipients or additives, while meat substitutes are highly processed foods. In terms of energy consumption and environmental impact, it is necessary to think holistically and create a balance between the consumption of animal and plant proteins in the future.

Key words: meat, meat analogues, plant-based proteins, additives

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tomaz.polak@bf.uni-lj.si

² Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: mateja.lusnic@bf.uni-lj.si

³ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: lea.demsar@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Beljakovine so esencialna komponenta naše prehrane, zato je oskrba z njimi ključnega pomena. Svet se sooča z izzivom, kako zagotoviti zadostne količine hrane za naraščajočo populacijo, ne da bi s tem ogrozili ekosistem. Brez dvoma proizvodnja hrane močno vpliva na okolje, odgovorna je za 30 % emisij toplogrednih plinov in približno 70-85 % svetovnega vodnega odtisa. Meso še vedno predstavlja glavni vir visokovrednih beljakovin, vendar pa proizvodnja animalnih beljakovin, kot sta meso in mleko, predstavlja velik poseg v okolje, saj mora biti zagotovljenih veliko obdelovalnih površin, vode in ustreznih surovin.

Po nekaterih podatkih naj bi proizvodnja 1 kg govedine zahtevala 5-40 krat večje količine vode v primerjavi s proizvodnjo žita. Med leti 1961 in 2007 se je poraba mesa na prebivalca več kot podvojila. V Sloveniji zaužijemo 92,6 kg različnih vrst mesa na prebivalca letno. Pričakovati je, da se bo z naraščanjem števila prebivalcev, urbanizacijo, industrializacijo in dvigom dohodka do leta 2030 svetovna poraba mesa povečala za kar 72 %. Nekatere projekcije napovedujejo podvojitev proizvodnje živalskih proizvodov, in sicer z 229 bilijonov kg za 6 bilijonov populacije leta 2020 do 465 bilijonov kg za 9,1 bilijonov populacije do leta 2050. Proizvodnja mesa se je v zadnjem desetletju povečala za 5-13 % in se tako približala svojemu maksimumu. V zadnjem obdobju, zaradi vseh omenjenih dejavnikov, narašča zanimanje za proizvodnjo živil, ki temelji na rastlinskih beljakovinah. Prav tako je potrošnikova skrb za okolje in zdravje privedla do razširjene ponudbe vegetarijanske prehrane. Povečuje se število semi-vegetarijancev, poznanih tudi kot "fleksitarijanci", ki v svojo prehrano meso vključujejo le občasno.

Težnja je predvsem na razvoju izdelkov, ki imitirajo meso oziroma mesne izdelke in imajo primerljivo teksturo, aromo, barvo in prehransko vrednost. Tovrstne izdelke imenujemo mesni nadomestki oziroma mesni analogi. Leta 2010, ko je bila njihova proizvodnja še v začetnih fazah razvoja, je predstavljala 1-2 % celotnega trga.

1.1 MESNI NADOMESTKI SKOZI ZGODOVINO

Recepture za mesne nadomestke, izdelane s tradicionalnimi postopki iz rastlinskih surovin, segajo že stoletja nazaj. Osnovne surovine kot so pšenični gluten, sojine beljakovine, gobe, riž in stročnice, skupaj z izbranimi aromatičnimi dodatki, oblikujejo končni izdelek z aromo različnih vrst mesa. Med prvimi najbolj znanimi mesnimi nadomestki rastlinskega izvora je tofu, izdelek, proizveden iz sojinih beljakovin. Tofu običajno proizvajajo v kvadratni obliki, lahko je blago začinjen in z vpojno teksturo, podobno gelu, tako lahko hitro prevzame okus raznih marinad med toplotno obdelavo. Drugi takšen nadomestek na osnovi soje je tempeh. Proizvajajo ga s fermentacijo sojinih, riževih ali prosenih zrn, ki jim po toplotni obdelavi dodajo žlahtno plesen *Rhizopus oligopus*. Po teksturi je tempeh nekoliko gostejši in bolj mesnat v primerjavi s tofujem, predvsem zaradi prisotnosti zrn (Shurtleff in Aoyagi, 2011). Oba izdelka so že stoletja uživali kot tradicionalno jed, v nekaterih predelih Azije že leta 965 p.n.š. (Asgar in sod., 2010). Poleg soje je potrebno omeniti tudi ostale vrste rastlinskih beljakovin, na primer pšenični gluten, ki je osnova za izdelavo tradicionalnega izdelka seitan. Izdelava poteka z izpiranjem testa iz pšenične moke, dokler ni odstranjen večina škroba. Med mesne nadomestke

prištevamo tudi tradicionalni izdelek yuba, katerega osnova je soja. Nastane s sušenjem tanke plasti, ki se tvori na površini kuhanega sojinega mleka (Malav in sod., 2015). Začetek mesnih nadomestkov predstavljajo tudi teksturirane rastlinske beljakovine, pridobljene iz ekstrudirane razmaščene sojine moke, koncentrata sojinih beljakovin ali pšeničnega glutena. Uvedba omenjenega izdelka kot mesnega nadomestka se je pojavila v sredini oziroma do konca 20. stoletja.

V zadnjem desetletju so številne nove moderne tehnologije privedle do razvoja mesnih nadomestkov, ki so sposobni posnemati aromo, teksturo, videz in funkcionalnost konvencionalnih mesnih izdelkov. Naslednjo možnost v prehrani prihodnosti predstavljajo insekti, predvsem kot bogat vir beljakovin in maščob ugodne sestave. Trgovske verige v Švici in Nemčiji že proizvajajo pleskavice z dodatkom insektov. Prav tako drugod v Evropi poročajo o naraščajoči prodaji izdelkov na osnovi insektov za prehrano ljudi kot tudi živali (Ismail in sod., 2020).

1.2 DELITEV MESNIH NADOMESTKOV

Mesne nadomestke običajno delimo na nadomestke rastlinskega izvora (soja, pšenični gluten, grah, itd...), nadomestke celičnega izvora (*in vitro* ali gojeno meso) in nadomestke pridobljene s fermentacijo (mikoproteini). Zadnje raziskave pa v proizvodnjo mesnih nadomestkov vključujejo tudi druge vire beljakovin, kot so na primer beljakovine iz mikroalg spirulina in insektov. Prednost beljakovin, pridobljenih *in vitro* iz mikoproteinov, je v sposobnosti oblikovanja podolgovatih vlaken. Nitaste micelijske beljakovine dajejo teksturi žvečljivost, podobno mesu, hkrati pa veljajo za zdravju koristne. Obe alternativni obliki beljakovin sta, zaradi visokih stroškov proizvodnje, vremenskih vplivov in drugih dejavnikov, še vedno v fazi razvoja in številnih izboljšav (Zhang in sod., 2020).

1.3 SESTAVA MESNIH NADOMESTKOV

Največji izziv v proizvodnji mesnih nadomestkov je zagotoviti primeren izgled, teksturo in aromo končnega izdelka. Meso in mesni izdelki predstavljajo kompleksen sistem. Poleg specifičnih senzoričnih in teksturnih lastnosti, nudijo tudi veliko hranil in zdravju koristnih sestavin. Z namenom zagotoviti izdelek, ki bo imel primerljive lastnosti, so v mesne nadomestke vključenini tudi številni aditivi (Egbert in Borders, 2006). Za lažje razumevanje vpliva posameznih sestavin oziroma aditivov na senzorične lastnosti končnega izdelka, je najprej potrebno razumeti njihove lastnosti in namen uporabe.

Mesni nadomestek je običajno sestavljen iz vode (50-80 %), teksturiranih rastlinskih beljakovin (10-25 %), neteksturiranih beljakovin (4-20 %), različnih arom (3-10 %), maščobe (0-15 %), vezivnih sredstev (1-5 %) in barvil (0-0,5 %). Kombinacija vseh sestavin prispeva h končni sprejemljivosti izdelka. Velika vsebnost vode pomeni na eni strani manjše proizvodne stroške, na drugi strani pa vpliva na sočnost izdelka in sodeluje v procesu emulgiranja. Glede na to, da neteksturirane beljakovine ne zagotavljajo želene teksture in primerne videza izdelka, je bolj priporočljiv dodatek teksturiranih beljakovin (Riaz, 2004). Postopek zamenjave mesnih beljakovin s teksturiranimi poteka na dva načina. Prvi način je mešanje dela mesa in

teksturiranih beljakovin, drugi način pa je zamenjava mesnih beljakovin v celoti. Na ta način dobimo vegetarijanski oziroma veganski končni izdelek, ki mu za doseganje primerne teksture, arome in videza običajno dodamo še dodatne sestavine. Izolati in koncentracije sojinih beljakovin, pšenični gluten in druga vezivna sredstva, kot so razni hidrokoloidi in škrobi, omogočajo prilagajanje sposobnosti vezanja vode v izdelku, vplivajo na teksturo in emulgivne sposobnosti. Tekstura, aroma in izgled so ključne lastnosti, ki vplivajo na sprejemljivost končnega izdelka pri potrošniku (Hoek in sod., 2013).

1.3.1 Beljakovine

Prehranska vrednost beljakovin je odvisna v glavnem od vsebnosti esencialnih aminokislin, pa tudi od prebavljivosti in biološke razpoložljivosti. Aminokislina so osnovni elementi, ki vsebujejo dušik in so hkrati strukturna komponenta beljakovin v človeškem telesu. Na splošno v svetu narašča trend uživanja rastlinske prehrane. Rastlinske beljakovine so zanimive zaradi cene, razpoložljivosti, primernosti za uporabo v novih izdelkih, še posebej pa zaradi njihove funkcionalnosti (Preglednica 1) (Han in sod., 2015; Mattila in sod., 2018). Trenutno se raziskujejo številni viri beljakovin in lastnosti posameznih beljakovinskih frakcij. Raziskave so usmerjene predvsem v razumevanje povezave med procesom, strukturo in funkcijo posameznih beljakovin ter v možnosti izboljšanja kakovosti in funkcionalnosti beljakovinsko bogatih izdelkov (Haque in sod., 2016). Večina mesnih nadomestkov zaenkrat temelji na sojinih beljakovinah, predvsem zaradi specifičnih lastnosti in ugodne cene. V uporabi pa so tudi beljakovine drugih oljnic, prav tako tudi beljakovine proizvedene s fermentacijo na osnovi različnih substratov in mikroorganizmov (Kim in sod., 2011). Kljub številnim virom rastlinskih beljakovin, pa ostaja problem predvsem v pomanjkljivi vsebnosti nekaterih esencialnih aminokislin. Za žita je običajno značilna majhna vsebnost aminokislina lizin, pri stročnicah pa je problem v pomanjkanju žveplo vsebujočih aminokislin (metionina in cisteina). Na drugi strani pa so psevdožita (amarant, kvinoja) dober vir aminokislina lizin (Nosworthy in sod., 2017). Upoštevati je potrebno tudi dejstvo, da se lahko enaka rastlina razlikuje v sestavi makrohranil (beljakovine, maščobe) in aminokislin, kar je predvsem odvisno od klimatskih pogojev, sestave tal in kmetijske prakse. V primeru pomanjkljive sestave aminokislin in slabše prebavljivosti, lahko uravnotežen aminokislinski profil dosežemo s kombinacijo različnih sestavin (Liu in sod., 2017).

Preglednica 1: Glavni viri rastlinskih beljakovin (prirejeno po Kyriakopoulou in sod., 2019)

Vir	Primer
Beljakovine oljnic	Soja, oljna ogrščica, bombažno seme, arašidi, sončnična semena, sezam, žafranika, laneno seme
Beljakovine žitaric	Pšenica, koruza, riž, ječmen, oves, sirek, zrna amaranta
Beljakovine stročnic	Fižol, čičerika, guar, leča, volčji bob, grah
Beljakovine listov	Lucerna, tobak, murva, trava, sladkorni trs, sladkorna pesa, detelja

1.3.2 Pšenični gluten

Pšenični gluten je koheziven, viskoelastičen kompleks, ki se tvori kot produkt med izolacijo škroba iz pšenične moke. V proizvodnji nadomestkov je široko uporaben, predvsem zaradi svojih pozitivnih funkcionalnih lastnosti, kot so topnost, viskoznost, nabrekanje, prehranska vrednost, sposobnost vezanja in ugodnejša cena v primerjavi s sojo, kazeinatom in beljakovinami gob. Zanj je značilna velika vsebnost aminokislina glutamin ter pomanjkanje lizina in treonina. Nadzorovana industrijska ločba pšeničnega škroba od glutena zagotavlja ohranjanje njegovih funkcionalnih lastnosti (Day in sod., 2006).

1.3.3 Beljakovine stročnic

Beljakovine stročnic so prav tako pokazale dobre funkcionalne lastnosti in lahko delujejo kot emulgatorji, stabilizatorji pene in gelatorji (Aluko in sod., 2009). V mesnih nadomestkih prevladuje uporaba grahovitih beljakovin. Struktura grahovitih beljakovin je bistveno mehkejša v primerjavi s sojinimi beljakovinami. V številnih raziskavah želijo s spreminjanjem števila proteinskih vodikovih vezi povečati jakost gela, na primer z dodatkom soli s kaotropnimi ioni oziroma z optimizacijo pogojev proizvodnje, zlasti temperature, velikostjo beljakovinskih delcev itd. Raziskave na čičeriki, leči in volčjem bobu so pokazale dobro sposobnost emulgiranja in stabilizacije pene (Bader in sod., 2011). Omenjeni viri beljakovin, z izjemo čičerike, pa imajo slabšo sposobnost geliranja v primerjavi s sojo. Nekatere študije kažejo, da lahko procesi frakcioniranja in različne stopnje predobdelave stročnic izboljšajo sposobnost geliranja.

1.3.4 Beljakovine oljnic

Pomembna vira beljakovin sta tudi oljna ogrščica in oljna repica. Oljna ogrščica izkazuje dobre emulgivne lastnosti in sposobnost tvorjenja pene. Pri izpostavitvi beljakovin oljne ogrščice visokemu tlaku ali toploti se lahko sproži tvorba gela, ki spominja na teksturo mesa (He in sod., 2014). Frakcija beljakovin oljne repice, ki jo sestavljajo v glavnem albumini in globulini, lahko tvori kohezivne gele pri nizkih koncentracijah soli. Ob dodatku kappa-karagenana so opazili tvorbo zelo močne, elastične mreže, kar kaže na sposobnost delovanja beljakovin oljne ogrščice kot strukturnega sredstva (Tan in sod., 2014).

1.4 SESTAVINE NEBELJAKOVINSKEGA IZVORA

Preglednica 2: Pogosto uporabljene nebeljakovinske sestavine (prirejeno po Sha in Xiong, 2020)

Skupina	Primer	Funkcija
Maščoba	Kokosova maščoba, sojino olje, koruzno olje, sončnično olje, repično olje, sezamovo olje, avokadovo olje, žafranovo olje	Izboljšanje arome, teksture (predvsem nasičene maščobe), občutek v ustih, prehranska vrednost (omega-3 maščobne kisline)
Vezivna sredstva	Pšenična moka, vlaknina ovsa, fermentirana riževa moka, masleni pire iz buč, korenčkov pire, pire sladkega krompirja, vlaknina jabolka, krompirjev škrob, krompirjev dekstrin, pšenični škrob, tapiokin škrob, modificiran koruzni škrob, karagenan, metilceluloza, ksantan gumi, guar gumi, gumi arabikum, inulin, maltodekstrin, lecitin	Vezava vode in imobilizirane maščobe, izboljšanje reoloških lastnosti, teksture in konsistence, zmanjšanje pojava sinereze, vloga emulgirajočih olj
Adhezivna sredstva	Transglutaminaza, kalcijev alginat	Vezava beljakovinskih delcev
Barvila	Leghemoglobin, ekstrakt rdeče pese, granatno jabolko v prahu, karamelne barve, oleorezin, korenčkov ekstrakt, vitamin A palmitat, titanov dioksid	Zagotavljanje rdeče barve in svetlejših odtenkov
Začimbe	Natrijev klorid, kalijev klorid, natrijev inozinat in gvanilat, sojina omaka, dekstroza, laktoza, manitol, kis, jantarna kislina, mlečna kislina, limonin sok, čebula v prahu, zelena, orehi, oves, gobe, kvasni ekstrakt, česen, tekoči dim, ječmenov slad, črni poper, žajbelj, origano, paprika, rožmarin, itd.	Simulacija mesne arome
Minerali	Natrijev klorid, kalijev klorid, kalcijev klorid, kalcijev acetat, železov sulfat, kalcijev fosfat, natrijev fosfat, magnezijev karbonat	Povečanje prehranske vrednosti in vezava vode
Vitamini	Tiamin (B ₁), riboflavin (B ₂), niacinamid (B ₃), piridoksin hidroklorid (B ₆), folna kislina (B ₉), kobalamin (B ₁₂)	Za dopolnitev in preprečitev njihovega pomanjkanja
Antioksidanti	Tokoferoli, različne začimbe, zelišča in njihovi ekstrakti	Preprečevanje procesa oksidacije in diskoloracije
Antimikrobna sredstva	Mlečna kislina, različni ekstrakti začimb, polifosfati	Podaljšanje roka uporabnosti

1.4.1 Maščoba

Živalska maščoba je glavna komponenta, ki prispeva k oblikovanju arome, teksture in sočnosti v mesu in mesnih izdelkih (Calkins in Hodgen, 2007). Za zagotavljanje teksture, podobne živalski maščobi, se običajno uporabljajo trde maščobe, npr. kokos, pomešane z olji, ki vsebujejo večjo količino nenasičenih maščobnih kislin, običajno sončnično in repično olje (Preglednica 2). Uporablja se tudi mešanica nasičenih in nenasičenih maščob stopenih v majhne bele kroglice, ki zagotavlja videz marmoriranosti v rastlinskih burgerjih, pleskavicah in klobasah. Za zagotavljanje ustrezne prehranske vrednosti in arome sta uporabna predvsem sezamovo olje in olje avokada. Številne maščobotopne komponente, ki pomembno prispevajo k aromi, se nalagajo v živalski maščobi, vključno z ogljikovodiki, alkoholi, aldehidi in žveplovimi spojinami (Arshad in sod., 2018). Po drugi strani pa rastlinske maščobe ne vsebujejo

holesterola, kar jih prišteva med prehransko ugodnejše maščobe. V trenutno dostopnih mesnih nadomestkih je vsebnost maščobe majhna, ker se uporabljajo predvsem razmaščene osnovne sestavine. Dodatek maščobe med proizvodnjo vpliva na oblikovanje vlaknaste strukture. Nekatere študije so pokazale, da pri recepturah z deležem olja 15 % ali več, material postane spolzek, kar negativno vpliva na strižno silo med procesom ekstruzije (Egbert in Borders, 2006).

1.4.2 Vezivna sredstva

Vezivna sredstva, ki v mesnih nadomestkih izboljšajo vezanje vode kot tudi maščobe, so lahko rastlinskega ali živalskega izvora. Običajno so to izolati ali koncentradi sojinih beljakovin, pšenični gluten, mlečne beljakovine, jajca, karagenan, ksantan gumi in drugi. Sestavine, ki imajo veliko vsebnost beljakovin, so primerne za vezavo vode in tvorbo proteinske mreže, medtem ko sestavine, ki so brez ali z majhno vsebnostjo beljakovin, kot so moka in škrobi, imajo običajno vlogo polnila. Količina dodanega vezivnega sredstva vpliva tudi na značilnosti in prehransko vrednost končnega izdelka. Pogosto se uporablja pšenični gluten, predvsem zaradi kohezivnosti in viskoelastičnih lastnosti, kar mu omogoča dobro vezavo, tvorbo testa in sposobnost kvašenja. Poleg tega vpliva tudi na zmanjšanje izgub med proizvodnjo in izboljšanje rezljivosti izdelka. Pomembno vezivno sredstvo je tudi jajčni beljak oziroma albumin, ki prispeva k vezavi, vpliva na povečanje vsebnosti beljakovin in na številne druge fizikalno-kemijske lastnosti mesnega nadomestka (Kumar in sod., 2017). Po funkcionalnosti so albuminom podobni tudi sojina moka, sojin izolat ali koncentrat, pri čemer najboljše lastnosti izkazuje izolat, predvsem zaradi odsotni tuje arome. Poleg beljakovinskih vezivnih sredstev so pogosto v uporabi tudi polimeri ogljikovih hidratov, ki imajo predvsem dobro sposobnost geliranja, zgoščevanja, sposobnost za vezanje vode in zmanjšanje sinereze (Imeson, 2009). Te esencialne rastlinske polimere lahko razdelimo v tri skupine, in sicer: (1.) surova vlakna iz celičnih sten rastline, pridobljene iz pšenice, ovsa, jabolk in številnih drugih užitnih rastlin, (2.) prebavljiv škrob in (3.) prečiščeni polisaharidi in njihovi derivati. Polisaharidne gume se običajno pridobivajo iz morskih alg (karagenan, algin), dreves (gumi rožičevca, gumi arabikum) ali z mikrobnou fermentacijo (ksantan) (Sha in Xiong, 2020; Dekkers in sod., 2018).

1.4.3 Arome in ojačevalci okusa

Sprejemljivost mesnega nadomestka za potrošnika je v veliki meri odvisna prav od arome. Za oblikovanje arome izdelkov se trenutno uporabljajo številne slane, pikantne začimbe, mesne arome skupaj z železovimi kompleksi (npr. železov klorofilin ali beljakovine, ki vsebujejo hem). Proces oblikovanje arome med ekstruzijo je kompleksen proces, zaradi številnih fizikalno-kemijskih sprememb. Med segrevanjem na surovinah potečejo kemijske spremembe, kar posredno vpliva tudi na dodane začimbe in arome. Obdelava surovine pri visokih temperaturah in visokih tlakih lahko privede do izhajanja hlapnih komponent, kar vodi do sprememb v zaznavanju arome. Toplotna obdelava skupaj s senzoričnimi spremembami videza izdelka spodbuja interakcijo med komponentami, ki prispevajo k aromi (kot so sladkor, sol, kisline) in beljakovinsko mrežo ter tako vplivajo na oblikovanje teksturnih lastnosti izdelka. Na primer, med Maillardovo reakcijo se iz sladkorjev in aminokislin razvije specifična aroma (Jaeger in sod., 2010). Aroma po pečenem je najbolj zaželen, kljub temu da obstaja velika

nevarnost pojava tujih arom, prav zato je oblikovanje arome pomembna faza v procesu proizvodnje in mora biti pod stalnim nadzorom. Zanimiva je tudi aroma, ki se tvori med vlažno toplotno obdelavo mesa. Številni prekursorji, kot so reducirajoči sladkorji (glukoza, ksiloza, fruktoza in riboza), aminokisliline (cistein, cistin, prolin, lizin, serin, metionin, treonin), tiamin in nukleotidi se uporabljajo za posnemanje omenjene arome v mesnih nadomestkih (Moon in sod., 2011).

1.4.4 Barvila

Barva mesa je pomemben parameter kakovosti, zato tudi mesnim nadomestkom poskušamo zagotoviti podobno barvo. Glavne sestavine mesnih nadomestkov so večinoma sojine beljakovine in gluten, kar posledično privede do rumeno-rjave barve končnega izdelka, kar je svetlejšje v primerjavi s toplotno obdelanim mesom in bistveno drugače v primerjavi s presno govedino (Malav in sod., 2015). Leghemoglobin, hemsko barvilo, pridobljeno iz soje, se običajno uporablja v mletih mesnih nadomestkih in imitira "krvav" videz mesnega hemoglobina in mioglobina. Ekstrakti rdeče pese, rdečega zelja, paprike in korenja se za zagotavljanje rdečkastega videza dodajajo v visokopredelane mesne nadomestke, kot so pleskavice in klobase. Med obdelavo se lahko ta rastlinska barvila razbarvajo, nasprotno pa lahko preidejo v zeleno barvo toplotno obdelanega mesa. Jabolčni ekstrakt pomaga zagotoviti končno barvo toplotno obdelanih obarvanih rdečih pleskavic, saj se polifenoli in askorbinska kislina, ki so v ekstraktu prisotni, na zraku ali med toplotno obdelavo oksidirajo ter preidejo v rjavo barvo (Yoruk in Marshall, 2003).

1.5 TEHNOLOGIJE IZDELAVE MESNIH NADOMESTKOV

Zgodnja metoda za izdelavo mesnih nadomestkov je **tehnologija spinning**, ki sega v leto 1980. Alkalna raztopina beljakovin se ekstrudira skozi spinnerje v kislno koagulacijsko bazo, kar vodi do obarjanja filamentov, ki se nato z različnimi vezivnimi sredstvi povežejo v mesni nadomestek. Omenjena tehnologija je zelo kompleksa in zahteva visokokonzentrirano raztopino rastlinskih beljakovin, prav tako je metoda relativno draga za obsežnejše aplikacije (Manski in sod., 2007).

V zadnjih letih prevladuje **tehnologija termo ekstruzije**. Metoda je poznana v proizvodnji žitaric za zajtrk, je visokoproduktivna in energetsko učinkovita. Rastlinske beljakovine, ki so običajno razmaščene, zmešane z vodo, ogljikovimi hidrati, soljo, začimbami in maščobo, se dovaja v dvovijačni ekstruder, v katerem je visoka temperatura in različna vlažnost, kar zagotavlja oblikovanje vlaknaste strukture podobne mesu (Dekkers in sod., 2018). Proces termoekstruzije delimo na suho ekstruzijo (nizka vlaga) in mokro ekstruzijo (visoka vlaga). Suha ekstruzija (vsebnost vlage pod 30 %) je primerna predvsem za pripravo teksturiranih beljakovin, izdelek ima združeno (agregirano) ter bolj ali manj razširjeno konformacijo (Wild in sod., 2014). Denaturirane in agregirane beljakovine dajejo po rehidraciji teksturiranim beljakovinam značilno teksturo, ki spominja na koščke mesa. Zaradi tega so tudi glavna sestavina nemesnih izdelkov. Teksturirane beljakovine, ki so pripravljene iz koncentriranih sojinih in grahovitih beljakovin, lahko še dodatno obdelamo in dobimo visokobeljakovinske koščke, trakove, nuggetse, prelive, itd. Na drugi strani pa mokra ekstruzija (vsebnost vlage nad

50 %) omogoča razvoj svežih in vrhunskih mesnih nadomestkov, ki imitirajo teksturo mišičnine, videz in žvečljivost pa sta podobna toplotno obdelanemu mesu. Omenjena metoda ponuja kompleksnejše recepture, je robustnejša, prav tako ne zahteva visoke topnosti vseh sestavin. Običajno so v proces izdelave mesnega nadomestka vključene mešane beljakovine stročnic (prevladujejo sojine in grahove), gluten, škrob in neprebavljivi polisaharidi kot vezivno sredstvo. Mešanica se pri visoki temperaturi ekstrudira v kompozitno vlaknasto teksturo podobno mesu. Proces ekstruzije je večstopenjski in vključuje mešanje, hidracijo, striženje, homogenizacijo, kompresijo, deaeracijo, gretje, oblikovanje in ekspanzijo. Kadar poteka ekstruzija pri zmerni do visoki relativni vlažnosti (40-80 %) in visokih temperaturah (140-180 °C), nastanejo strukture vlaken in plasti s teksturiranjem beljakovin med kompleksnim strižnim postopkom. Takšni pogoji omogočajo nadzor viskoznega odvajanja energije in ekspanzijo produkta, olajšajo emulgiranje maščob, geliranje beljakovin, prestrukturiranje delcev in oblikovanje mase (Wild in sod., 2014).

Novejšo tehnologijo v proizvodnji mesnih nadomestkov imenujemo **tehnologija strižnih sil** in temelji na konceptu strukturiranja, ki ga povzroča tok. Naprava je zasnovana kot stožec v stožcu, pri čemer je spodnji stožec vrtljiv. Prostor med stožcema je zaprt, kar prepreči izhajanje pare med segrevanjem pri temperaturah 95-140 °C. Tehnologija je primerna za predelavo mešanih sojinih beljakovin pšeničnega glutena in grahovitih beljakovin-pšeničnega glutena v anizotropna vlakna. Nastala mešanica se izpostavi konstantnemu strigu in segrevanju, po ohlajanju pa se oblikujejo strukturno stabilna vlakna. Z mehanskega vidika imajo vlakna grahovitih beljakovin in glutena, proizvedena pri temperaturi 140 °C, primerljivo moč kot vlakna iz sojinih beljakovin in glutena. Mešanica grahovitih beljakovin, obdelanih pri temperaturi 110-120 °C pa ima podobno mehansko moč kot piščančje meso procesirano pri 50-100 kPa.

Razvijajoča se tehnologija je tudi **3D tiskanje** ali “aditivna tehnologija”, ki omogoča oblikovanje mišične strukture z nadzorovanim dodajanjem rastlinskih beljakovin. Proces tiskanja vključuje mešanje beljakovinskega praška z vodo do nastanka paste, nato pa oblikovanje v plasteh do videza mišičnega vlakna (Dankar in sod., 2018).

Tako tradicionalne kot tudi nove procesne tehnologije se osredotočajo na oblikovanje fibril, ki strukturno spominjajo na mišična vlakna in dajejo zelene senzorične lastnosti, predvsem žvečljivost (Puolanne in Halonen, 2010). Kljub temu, da so omenjene tehnike dokaj uspešne pri zagotavljanju primerne žvečljivosti, pa so potrebne številne inovacije za reprodukcijo vrste kapilarnih sistemov v mišicah, ki so ključnega pomena za posnemanje sočnosti toplotno obdelanega mesa. Mikrostruktura mesnega nadomestka določa ali ima podobne lastnosti kot meso glede teksture, vode in arome. Običajno za vse nadomestke, ki so pridobljeni v procesu ekstruzije velja, da se razlikujejo od mesa, predvsem v pomanjkljivi vlaknasti strukturi, ugrizu in sočnosti v ustih.

1.6 TRENDI V PROIZVODNJI MESNIH NADOMESTKOV

Industrija mesnih nadomestkov je trenutno usmerjena v proizvodnjo burgerjev, mletih izdelkov in klobas, medtem ko je nekoliko manj interesa pri razvoju primarnih kosov, kot so npr. steaki, razlog je predvsem v kompleksnosti sestave tovrstnih izdelkov. Trend je v razvoju mesnih

nadomestkov, ki bi zadovoljil potrebe vegetarijancev in prav tako vplivali na prehransko varnost širšega prebivalstva. Zanimanje za minimalno procesirane nadomestke je bistveno večje kot za visokoprocirane (Hoek in sod., 2013). Kljub temu, da je na trgu veliko prehransko kakovostnih nadomestkov, ki bolj ali manj uspešno imitirajo teksturne lastnosti mesa, problem še vedno predstavljajo tuje arome, ki so posledica osnovnih sestavin. Rešitev je v prikrivanju teh arom, vendar pa posnemanje mesne arome predstavlja velik izziv, glede na to, da specifičen okus po mesu sestavlja več kot 1000 vodotopnih in maščobotopnih komponent (Claeys in sod., 2004).

Številna podjetja v zahodnih državah so uspešna v razvoju nadomestkov, najbolj prepoznavni blagovni znamki sta trenutno Beyond Burger in Impossible Burger. Izdelki temeljijo večinoma na sojinih beljakovinah, pšeničnem glutenu ter jajčnih oziroma mlečnih beljakovinah.

Med netradicionalne mesne nadomestke spada tudi Quorn meso, ki je bil na trgu prvič predstavljeno leta 1985 v Veliki Britaniji. Tehnologija je osnovana na fermentaciji talne glive *Fusarium*, ki proizvaja mikoproteine. Nitasti mikoprotein je bil, zaradi tvorbe mesu podobne vlaknaste strukture, izbran za proizvodnjo mesnih nadomestkov. Zanj je značilna majhna vsebnost maščobe, velika vsebnost vlaknine in visokokakovostnih beljakovin. Trenutno je na trgu več mletih izdelkov iz mikoproteinov, predvsem v obliki koščkov, klobas ali hamburgerjev (Wiebe, 2002). Omeniti je potrebno še en alternativen vir beljakovin, to je laboratorijsko ali umetno meso. Pridobljeno je iz celic živih živali, ki se s procesom celičnega inženiringa namnožijo. Pričakovati je, da bo v bližnji prihodnosti dopolnil trg mesnih nadomestkov. Trenutno je še v fazi razvoja, izziv predstavljata predvsem komercializacija in sprejemljivost izdelka pri potrošniku (De Smet in Vossen, 2016; Sun in sod., 2021).

1.7 PREHRANSKA VREDNOST, VARNOST IN ZDRAVSTVENI VIDIK

Zdravje potrošnika in prehranska varnost sta ključna parametra v živilski industriji. Ena glavnih lastnosti mesnih nadomestkov, v primerjavi z mesom in mesnimi izdelki, naj bi bila izboljšana prehranska vrednost in ugoden vpliv na zdravje. Problem predstavlja visoka stopnja procesiranja (mešanje, homogenizacija, uporaba visokih temperatur, ...), kar vodi v neizogibne izgube nekaterih hranil, bodisi naravno prisotnih ali dodanih. Prav tako ni povsem jasno, ali imajo anorganske mineralne snovi in organsko hemsko železo, cink, selen ter drugi elementi v sledovih, dodane v nadomestek, enako biološko učinkovitost v primerjavi s tistimi, ki so v mesu naravno prisotne. Vsebnost soli v mesnih nadomestkih je običajno večja kot v klasičnih mesnih izdelkih, zato zmanjšanje vsebnosti natrija predstavlja naslednji izziv (Sha in Xiong, 2020). Številni procesi predobdelave lahko povzročijo inaktivacijo nekaterih antinutritivnih dejavnikov, prisotnih v nadomestkih na osnovi soje. Na primer, obdelava sojinega izolata s fitazo lahko privede do zmanjšanja vsebnosti fitinske kisline. Beljakovine sojinega izolata vsebujejo inhibitorje tripsina. Kljub temu da veljajo za toplotno nestabilne, pa njihovo uničenje pri zmerni temperaturi toplotne obdelave (npr. 93 °C) zahteva dolgotrajnejše segrevanje (npr. 60 minut). Eden od možnih načinov za zmanjšanje vsebnosti encimskih inhibitorjev v beljakovinah stročnic (izolati, koncentрати) je uporaba ultra-visoke temperature. Naslednja pomanjkljivost mesnih nadomestkov je široka uporaba aditivov, kar pa je v nasprotju z današnjimi trendi, kjer je velik poudarek na "clean label" izdelkih. Večinoma gre za dodatek

konzervansov, stabilizatorjev in nekaterih barvil, kot so titanov dioksid, metilceluloza in lecitin, ki v mesnih izdelkih običajno niso prisotni (Bohrer, 2019). Velika količina aditivov, skupaj z nasičenimi maščobnimi kislinami in veliko vsebnostjo soli, postavlja vprašanje o prehransko ugodnejših in zdravju koristnejših nadomestkih v primerjavi z mesom. Visoka temperatura toplotne obdelave beljakovinskih živil lahko privede do nastanka raznih toksičnih in karcinogenih snovi, kot so heterociklični aromatski amini. Podobno kot meso so tudi nadomestki dovzetni za njihovo tvorbo (Barzegar in sod., 2019).

Za določeno populacijo imajo lahko nekatere stročnice (npr. soja, leča, fižol in grah), ki so sestavni del mesnih nadomestkov, alergeni učinek, kar je posledično privedlo do omejitve razvoja mesnih nadomestkov iz omenjenih virov beljakovin. Podobno je pri nadomestkih, ki vsebujejo beljakovine iz žit (pšenica, rž in ječmen), saj se lahko pri nekaterih potrošnikih pojavi preobčutljivost na gluten. Posamezne študije so izrazile zaskrbljenost glede prehrane bogate s sojo, saj naj bi imela negativen vpliv na kognitivne funkcije in razpoloženje ljudi. Prehrana rastlinskega izvora je običajno bogata s prehranskimi purini, kot sta adenin in hipoksantin, ki jih prištevamo med visoko urikogene spojine. Rešitev v proizvodnji nadomestkov predstavljajo proteinski izolati oziroma koncentracije pšenice, soje, graha ali gliv, za katere je značilna nizka vsebnost purinov (Havlik in sod., 2010).

Problem v proizvodnji nadomestkov predstavlja proces oksidacije beljakovin, do katerega lahko pride med samo proizvodnjo ali kot posledica prisotnosti maščob, podobno kot v mesnih izdelkih. Proces oksidacije lahko npr. v sojinem izolatu povzroči zmanjšanje količine dostopnih aminokislin, zmanjša se tudi občutljivost za prebavno proteolizo (Chen in sod., 2013). Kljub številnim izzivom, ki spremljajo nadomestke na osnovi soje, pa ima le-ta tudi koristne funkcije, saj je bogata s topno prehransko vlaknino, sestavljeno iz galaktoze, arabinoze, galakturonske kisline, ksiloze, fruktoze, ramnoze ter oligosaharidov, kot sta rafinoza in stahioza (Nakata in sod., 2017).

1.8 MESNI NADOMESTKI IN EKONOMSKI VIDIK

Cene mesnih nadomestkov na trgu so običajno bistveno višje v primerjavi z mesom in mesnimi izdelki, kar je dodatna pomanjkljivost. Razvoj novih tehnologij je usmerjen predvsem v zmanjšanje proizvodnih stroškov ob zagotavljanju kakovosti izdelka. Ena od možnih rešitev je metoda z visoko zmogljivostjo, optimizacija pogojev predelave, uporaba cenejših, a še vedno funkcionalnih beljakovin in ostalih sestavin (Egbert in Borders, 2006).

V proizvodnji mesnih nadomestkov se je povečal regulatorni nadzor nad uporabo sestavin, njihovim izvorom in poimenovanjem izdelka. Pojavlja se vprašanje o upravičenosti uporabe besede meso v imenu izdelka, ki je rastlinskega izvora, ker naj bi bilo to zavajajoče za potrošnika. Tako je na primer Francija že uvedla prepoved uporabe določenih terminov za izdelke rastlinskega izvora, kot so vegetarijanske klobase, veganska slanina, burger, steak, itd. Ostajajo številni izzivi, kako ohraniti trenutni zagon v proizvodnji mesnih nadomestkov, predvsem zaradi številnih tehnoloških ovir in dejavnikov, povezanih z varnostjo in predpisi (Sha in Xiong, 2020).

2 ZAKLJUČEK

Danes mesni nadomestki predstavljajo le eno od možnosti prehranske izbire. Obstaja zelo majhna verjetnost, da bi popolnoma izrinili oziroma nadomestili običajno meso in mesne izdelke. Zagotovo bodo mesne beljakovine tudi v bližnji prihodnosti še vedno najpomembnejši vir beljakovin. S tega vidika je nesmiselno razvijati nadomestke z namenom popolne zamenjave z mesom, ampak je potrebno ustvariti primerno ravnovesje med porabo živalskih in rastlinskih beljakovin.

3 VIRI

- Aluko R. E., Mofolasayo O. A., Watts B. M. 2009. Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (*Pisum sativum* L.) seed flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (20): 9793–9800
- Arshad M. S., Sohaib M., Ahmad R. S., Nadeem M. T., Imran A., Arshad M. U., Kwon J.H., Amjad Z. 2018. Ruminant meat flavor influenced by different factors with special reference to fatty acids. *Lipids in Health and Disease*, 17(1): 223 <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0860-z>
- Asgar M., Fazilah A., Huda, N., Bhat R., Karim, A. 2010. Nonmeat Protein Alternatives as Meat Extenders and Meat Analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9 (5): 513–529
- Bader S., Bez J., Eisner P. 2011. Can protein functionalities be enhanced by high-pressure homogenization? A study on functional properties of lupin proteins. *Procedia Food Science*, 1: 1359–1366
- Barzegar F., Kamankesh M., Mohammadi A. 2019. Heterocyclic aromatic amines in cooked food: A review on formation, health risk-toxicology and their analytical techniques. *Food Chemistry*, 280: 240–254
- Bohrer B. M. 2019. An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products. *Food Science and Human Wellness*, 8 (4): 320–329
- Calkins C. R. & Hodgen J. M. 2007. A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, 77(1): 63–80
- Chen N., Zhao M., Sun W. 2013. Effect of protein oxidation on the in vitro digestibility of soy protein isolate. *Food Chemistry*, 141 (3): 3224–3229
- Claeys E., Smet S. D., Balcaen A., Raes K., Demeyer D. 2004. Quantification of fresh meat peptides by SDS-PAGE in relation to ageing time and taste intensity. *Meat Science*, 67 (2): 281–288
- Dankar I., Haddarah, A., Omar F. E. L., Sepulcre F., Pujolà M. 2018. 3D printing technology: The new era for food customization and elaboration. *Trends in Food Science Technology*, 75: 231–242
- Day L., Augustin M. A., Batey I. L., Wrigley C. W. 2006. Wheat-gluten uses and industry needs. *Trends in Food Science and Technology*, 17 (2): 82–90
- De Smet S. & Vossen E. 2016. Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science*, 120: 145–156
- Dekkers B. L., Boom R. M., van der Goot A. J. 2018a. Structuring processes for meat analogues. *Trends in Food Science and Technology*, 81: 25–36
- Egbert R. & Borders C. 2006. Achieving success with meat analogs. *Food Technology*, 60 (1): 28–34
- Han, S.W., Chee, K.M., Cho S.J. (2015). Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein. *Food Chemistry*, 172: 766–769
- Haque M. A., Timilsena Y. P., Adhikari B. 2016. Food Proteins, Structure, and Function. Reference Module in Food Science, 1–8 <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03057-2>
- Havlik J., Plachy V., Fernandez J., Rada V. 2010. Dietary purines in vegetarian meat analogues. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (14): 2352–2357
- He R., He H. Y., Chao D., Ju X., Aluko R. 2014. Effects of High Pressure and Heat Treatments on Physicochemical and Gelation Properties of Rapeseed Protein Isolate. *Food and Bioprocess Technology*, 7 (5): 1344–1353

- Hoek A. C., Elzerman J. E., Hageman R., Kok F. J., Luning P. A., Graaf C. 2013. Are meat substitutes liked better over time? A repeated in-home use test with meat substitutes or meat in meals. *Food Quality and Preference*, 28 (1): 253–263
- Imeson A. 2009. Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents. *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents*, 1–352. DOI:10.1002/9781444314724
- Ismail I., Hwang Y., Joo S.T. 2020. Meat analog as future food: a review. *Journal of Animal Science and Technology*, 62 (2): 111-120
- Jaeger H., Janositz A., Knorr D. 2010. The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies. *Pathologie Biologie*, 58 (3): 207–213
- Kim K., Choi B., Lee I., Lee H., Kwon S., Oh K., Kim A. Y. 2011. Bioproduction of mushroom mycelium of *Agaricus bisporus* by commercial submerged fermentation for the production of meat analogue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (9): 1561–1568
- Kumar P., Chatli M. K., Mehta N., Singh P., Malav O. P., Verma A. K. 2017. Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (5): 923–932
- Kyriakopoulou K., Dekkers B., van der Goot A. J. 2019. Chapter 6—Plant-Based Meat Analogues. In C. M. Galanakis (Ed.), *Sustainable Meat Production and Processing* (pp. 103–126). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814874-7.00006-7>
- Liu K., Zheng J., Chen F. 2017. Relationships between degree of milling and loss of Vitamin B, minerals, and change in amino acid composition of brown rice. *LWT - Food Science and Technology*, 82: 429–436
- Malav O. P., Talukder S., Gokulakrishnan P., Chand S. 2015. Meat Analog: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55: 1241–1245
- Manski J. M., Riemsdijk L. E., Goot A. J., Boom R. M. 2007. Importance of intrinsic properties of dense caseinate dispersions for structure formation. *Biomacromolecules*, 8 (11): 3540–3547
- Mattila P., Mäkinen S., Euroala M., Jalava T., Pihlava J. M., Hellström J., Pihlanto A. 2018. Nutritional Value of Commercial Protein-Rich Plant Products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2): 108–115
- Moon J. H., Choi I. W., Park Y. K., Kim Y. 2011. Development of natural meat-like flavor based on Maillard reaction products. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 31 (1): 129–138
- Nakata T., Kyoui D., Takahashi H., Kimura B., Kuda T. 2017. Inhibitory effects of soybean oligosaccharides and water-soluble soybean fibre on formation of putrefactive compounds from soy protein by gut microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97: 173–180
- Nosworthy M. G., Neufeld J., Frohlich P., Young G., Malcolmson L., House J. D. 2017. Determination of the protein quality of cooked Canadian pulses. *Food Science and Nutrition*, 5 (4): 896–903
- Puolanne E. & Halonen, M. 2010. Theoretical aspects of water-holding in meat. *Meat Science*, 86 (1): 151–165
- Riaz M. N. 2004. Texturized soy protein as an ingredient. *Proteins in Food Processing*, 517–558
- Sha L., Xiong Y. L. 2020. Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges. *Trends in Food Science and Technology*, 102: 51–61
- Shurtleff W. & Aoyagi A. 2011. History of Tempeh and Tempeh Products. A Special Report on The History of Traditional Fermented Soyfoods, 1–85
- Sun C., Ge J., He J., Gan R., Fang Y. 2021. Processing, Quality, Safety, and Acceptance of Meat Analogue Products. *Engineering*, 7 (5): 674–678
- Tan S. H., Mailer R. J., Blanchard C. L., Agboola S. O., Day L. 2014. Gelling properties of protein fractions and protein isolate extracted from Australian canola meal. *Food Research International*, 62: 819–828
- Wiebe M. 2002. Myco-protein from *fusarium venenatum*: A well-established product for human consumption. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58 (4): 421–427
- Yoruk R., Marshall M. R. 2003. Physicochemical Properties and Function of Plant Polyphenol Oxidase: A Review 1. *Journal of Food Biochemistry*, 27(5): 361–422
- Zhang G., Zhao X., Li X., Du G., Zhou J., Chen J. 2020. Challenges and possibilities for bio-manufacturing cultured meat. *Trends in Food Science and Technology*, 97: 443–450

OBSEVANJE SADJA IN ZELENJAVE Z VIDNO IN UV-C SVETLOBO

Branka LEVAJ¹, Zrinka ČOSIĆ², Maja REPAJIC³, Zdenka PELAIĆ⁴, Rajko VIDRIH⁵

Povzetek: Kakovost svetlobe vpliva na številne fiziološke procese plodov pred in po obiranju. V sadovnjaku spekter in intenzivnost sončne svetlobe vplivata na barvo plodov, ki je eden najpomembnejših parametrov kakovosti sadja. Za zagotavljanje visoke kakovosti sadja se svetloba v sadovnjakih uravnava z odsevnimi folijami pod drevesi in barvnimi mrežami za senčenje. Plodovi sadja se odzivajo tudi na obsevanje po obiranju s svetlobo različnih valovnih dolžin. Izkazalo se je, da obsevanje z modro svetlobo po obiranju aktivira fenilpropanoidno metabolno pot, ki inducira sintezo antocianinov in drugih fenolnih spojin, kar povzroči intenzivnejšo rdečo barvo. Glede zorenje plodov, modra svetloba pospeši dihanje in izločanje etilena. Poleg indukcije fenolnih spojin, modra svetloba deluje protimikrobno z aktivacijo reaktivnih kisikovih zvrsti, hidroksilnih radikalov, superoksidnih anionov in prostega kisika. V zadnjem času UV-C svetloba postaja alternativa dezinfekciji sadja in zelenjave po obiranju. Raziskave so pokazale, da UV-C svetloba zavira in upočasni rast mikroorganizmov na površini sadja in zelenjave. Poleg tega UV-C inducira tudi *de-novo* sintezo fenolnih spojin, s čimer se poveča antioksidativni potencial. V poskusih s sveže rezanim sadjem in zelenjavo UV-C obsevanje uspešno upočasni rast mikrobov in tudi inaktivira encime, vključno s polifenol oksidazo, ki je odgovorna za porjavenje.

Gljučne besede: vidna svetloba, UV-C svetloba, sekundarni metaboliti, protimikrobno delovanje

LIGHT IRRADIATION OF FRUITS AND VEGETABLES WITH VISIBLE AND UV-C LIGHT

Abstract: Light quality affects many aspects of fruit physiology pre and postharvest. In orchard, sunlight composition and intensity affect fruit color that is one of the most important quality parameter. To assure high quality fruit, in orchards light is manipulated by means of under tree reflective foils and coloured shed nets. Fruit responds also to postharvest irradiation with light of different spectra. Postharvest irradiation with blue light proved to activate phenylpropanoid pathway inducing synthesis of anthocyanins and other phenolic compounds which resulted in more intensive red color. Regarding fruit ripening, blue light enhance respiration and ethylene production. Beside inducing phenolic compounds, blue light acts antimicrobially through activation of reactive oxygen species, hydroxyl radicals, superoxide anions and singlet oxygen. Recently, UV-C light become a common alternative to sanitizing both fruit and vegetables post-harvest. Research proved that UV-C light sanitizes fruit and vegetable and delay microbial growth on fruit peel. Beside that UV-C also induce *de-novo* synthesis of phenolic compounds thus enhancing antioxidative potential. In experiments with fresh-cut fruits and vegetables UV-C irradiation successfully delay microbial growth and also inactivates enzymes including polyphenol oxidase responsible for browning.

Key words: visible light, UV-C light, secondary metabolites, antimicrobials

¹ prof. dr., Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb,, e-mail: blevaj@pbf.hr

² PhD., Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, e-mail: zcosic@pbf.hr

³ Asst. Prof., Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, e-mail: maja.repajic@pbf.unizg.hr

⁴ PhD, Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Pierottijeva 6, Zagreb, e-mail: zpelaic@pbf.hr

⁵ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: rajko.vidrih@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Svetloba ima zelo pomembno vlogo pri razvoju vseh delov rastlin vključno s plodovi. Svetloba predstavlja za rastline stres, katerega posledica je oksidativni stres in aktivacija obrambnega mehanizma. Med drugim svetloba aktivira encime v fenilpropanoidni verigi, ki katalizirajo nastanek sekundarnih metabolitov vključno s fenolnimi spojinami. Pri plodovih je svetloba odločujoča za razvoj barve, pomanjkanje svetlobe v notranjosti krošenj vpliva na slabšo obarvanost in tudi slabši razvoj plodov. Najnovejše raziskave ne preučujejo samo vpliva dnevne svetlobe na razvoj rastlin ampak tudi posameznih valovnih dolžin svetlobe. Sposobnost odziva na svetlobo obdržijo plodovi sadja tudi po obiranju. Poobirno obsevanje poveča sintezo fenolnih spojin vključno z antociani kar pomembno prispeva k boljši obarvanosti plodov. Modra svetloba valovnih dolžin od 400 do 450 nm se je pokazala kot najučinkovitejša za sintezo antocianov. Na senčni strani po obiranju obsevana jabolka razvijejo barvo enakovredno naravno obarvanim plodovom.

Poleg omenjenih učinkov na sekundarne metabolite, kažejo nižje valovne dolžine svetlobe, predvsem UV-C protimikrobno in tudi za encime letalno aktivnost. Zaradi teh lastnosti predstavlja UV-C svetloba kot neionizirajoče sevanje alternativno tehnologijo za preprečevanja mikrobiološkega kvara jagodičevja in narezanega sveže pakiranega sadja. UV-C obsevanje narezanega sadja in zelenjave preprečuje porjavenje zaradi inaktivacije encimov.

2 VPLIV SVETLOBE RAZLIČNIH VALOVNIH DOLŽIN NA FIZIOLOGIJO SADJA IN ZELENJAVE

2.1 VPLIV STRESA NA AKTIVNOST ANTIOKSIDATIVNIH ENCIMOV PRED OBIRANJEM

Pri rastlinah povzročijo stresni dejavniki kot so suša, previsoka temperatura, presežek svetlobe in drugo oksidativni stres, ki se kaže kot povečanje reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS, ang. Reactive Oxygen Species). Kot odgovor na stres se poveča aktivnost encimov peroksidaze (POD), katalaze (CAT) superoksid dismutaze (SOD), glutation peroksidaze (GPX) in askorbat peroksidaze (APX), ki inaktivirajo ROS (Tavanti in sod., 2021, Zhou in sod., 2021).

Povečanje intenzivnosti osvetlitve poveča aktivnost antioksidativnih encimov, aktivnost je odvisna tudi od valovne dolžine (Huyskens-Keil in sod., 2020, Zushi in sod., 2020, Zhou in sod., 2021). Pri in vitro gojenemu paradižniku je obsevanje z modro LED svetlobo (vrh 420 in 450 nm) in rdečo LED svetlobo (vrh 625 in 660 nm) povečalo vsebnost H₂O₂ in peroksidacijo lipidov (Zushi in sod., 2020). Večja intenzivnost obsevanja je povečala aktivnost encimov APX in dehidro askorbat reduktaze (DHAR), rdeča svetloba je vplivala na povečanje aktivnosti DHAR in CAT (Zushi in sod., 2020). Tudi pri solati je obsevanje povečalo aktivnost encimov APX, DHAR, monodehidroaskorbat reduktazo (MDHAR) in glutation reduktazo (GR) z rdečo svetlobo (500 nm) bolj kot z modro svetlobo (400 nm) ali UV (300 nm) (Zhou in sod., 2021). Tudi zmanjšanje intenzivnosti osvetlitve začasno vodi v povečanje aktivnosti antioksidativnih encimov POD, CAT in SOD (Shafiq in sod., 2021). Pogoji sence prispevajo le kratkotrajno na povečanje omenjenih encimov, po 5 dneh se aktivnost zmanjša na začetni nivo.

2.2 PO OBIRANJU

Tudi po obiranju je vpliv obsevanja s svetlobo podoben. Obsevanje pak čoja (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) po obiranju z belo svetlobo poveča aktivnost antioksidativnih encimov POD, CAT in APX (Zhou in sod., 2020). Obsevani pak čoi ima višjo vsebnost askorbinske kisline, manjšo vsebnost malondialdehida, manjšo izgubo mase med skladiščenjem in posledično boljše senzorično kakovost predvsem v zadnjem obdobju skladiščenja (Zhou in sod., 2020). Obsevanje jagod po obiranju z modro svetlobo (470 nm) je vplivalo na višjo aktivnost SOD, CAT in APX (Xu in sod., 2014). Obsevanje češenj z modro svetlobo (444 nm) ter kombinacijo bele, modre in zelene svetlobe je povečalo aktivnost encima fenil alanin amonijak liaze (PAL), ki je prvi encim v fenilpropanoidni verigi in katalizira pretvorbo aminokisline fenil alanin v trans cimetno kislino, ki je prekursor nastanka flavonoidov in ostalih polifenolnih spojin. Tudi pri obsevanju jabolk z modro svetlobo se je povečala aktivnost PAL odvisno od sorte jabolk (Kokalj in sod., 2019). Čeprav je aktivnost PAL praviloma v pozitivni korelaciji s sintezo antocianov do povečanja antocianov pri sorti 'Carjevič' ni prišlo kljub povečanju aktivnosti PAL (Kokalj in sod., 2019), kar kaže na sortno specifično odzivnost.

2.3 VPLIV SVETLOBE NA HITROST ZORENJA

Obsevanje z modro svetlobo (470 nm) po obiranju poveča izločanje etilena pri breskvah, vpliva na višjo suho snov ter hitrejšo zmanjševanje trdote. Pri paradižniku obsevanje v rastlinjaku pospešuje rdeče obarvanje, izločanje etilena in zorenje plodov (Zhang in sod., 2020). Pri pomarančah sta avtorja Ballester in Lafuente (2017) dokazala povečano izločanje etilena že 1 uro po obsevanju z modro svetlobo (450 nm). Poobiralno obsevanje jagod z modro svetlobo (470 nm) je pospešilo dihanje, izločanje etilena in vplivalo na povečanje suhe snovi (Xu in sod., 2014). Pri zelenjavi pak čoi pa avtorji (Zhou in sod., 2020) poročajo o manjši intenzivnosti dihanja zaradi poobiralnega obsevanja z belo svetlobo.

2.4 VPLIV SVETLOBE NA SEKUNDARNE METABOLITE

Obsevanje solate med rastjo s kombinacijo rdeče svetlobe (662 nm) in modre svetlobe (460 nm) v razmerju rdeča/modra 3:1 skupno $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ je vplivalo na povečanje vsebnosti suhe snovi ter askorbinske kisline (Zhou in sod., 2021). Avtorji glede na rezultate priporočajo 8 urno obsevanje s $500 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ za povečanje vsebnosti askorbinske kisline.

Poobiralno obsevanje z modro svetlobo (444 nm) in kombinacijo bele, modre in zelene svetlobe poveča vsebnost antocianov pri češnjah med 10 dnevni obsevanjem (Kokalj in sod., 2019). Najbolj se je povečala vsebnost cianidin 3-O- glukoze, za faktor 2,8 ter cianidin 3-O- rutinoze za faktor 1,7. Povečanje vsebnosti obeh antocianov je vplivalo na večjo skupno razliko v barvi v primerjavi z neobsevanimi plodovi ter intenzivnejšo rdečo barvo plodov češenj (Kokalj in sod., 2019). Obsevanje češenj z UV-B svetlobo (310 nm) ni vplivalo na povečano sintezo antocianov. Obsevanje češenj z vsemi tremi zgoraj omenjenimi vrstami svetlobe ni vplivalo na vsebnost ostalih fenolnih spojin kot sta npr., neoklorogenska in 3-p-kumaroilkinska kislina (Kokalj in sod., 2019). Na vsebnost askorbinske kisline poobiralno obsevanje ni imelo značilnega vpliva, opazen je trend povečanja askorbinske kisline drugi dan obsevanja ter trend

zmanjšanja deseti dan obsevanja z modro ter kombinacijo bele, modre in zelene svetlobe (Kokalj in sod., 2019).

Poobiralno obsevanje jabolk z modro svetlobo (444 nm; 7 dni, 8°C) je značilno povečalo vsebnost antocianov cianidin 3-O-galaktozida (Ci-3-gal) in cianidin 3-O-arabinozida (Ci-3-arab), (Kokalj in sod., 2019). Povečanje antocianov je bilo odvisno od sorte jabolk, najbolj se je povečalo pri sorti 'Idared', manj pri sorti 'Fuji' pri sorti 'Carjevič' pa se vsebnost antocianov ni povečala. Samo pri sorti 'Idared' se je med obsevanjem povečala vsebnost cianidin 7-O-arabinozida (Ci-7-arab) in cianidin 3-O-ksilozida (Ci-3-ksil). Vsebnost antocianov je bila pri obsevanih plodovih sorte 'Idared' drugačna v primerjavi z naravno svetlobo, kjer je bila višja vsebnost peonidin 3-O-galaktozida (Peo-3-gal) na račun vsebnosti Ci-3-arab (Kokalj in sod., 2019). Za razliko od obsevanja češenj se je pri obsevanju jabolk povečala vsebnost ostalih fenolnih spojin, predvsem derivatov kvercetina. Obsevanje z modro svetlobo pri jabolkih poveča vsebnost kvercetin 3-O-arabinopiranozida (KV-3-arab), kvercetin 3-O-galaktozida (KV-3-gal) in kvercetin 3-O-glukozida (KV-3-glu) ter klorogenske kisline. Obsevanje pomaranč z modro svetlobo (450 nm) je izmed fenolnih spojin povečalo predvsem vsebnost skoparona, fenolne spojine, ki se povezuje s povečano odpornostjo sadja na okužbe s plesnimi (Ballester in Lafuente 2017).

3 VPLIV MODRE SVETLOBE NA MIKROORGANIZME

Protimikrobne lastnosti svetlobe proučujejo raziskovalci na mnogih področjih (medicina, farmacija, agronomija, živilstvo), saj gre za študije in razvoj različnih metod, ki uporabljajo svetlobo kot protimikrobno sredstvo.

Protimikrobna aktivnost modre svetlobe je odvisna od različnih dejavnikov, od katerih so najpomembnejši:

- valovna dolžina (λ) in svetlobni tok (izržen kot energija sevanja (J/cm^2) = gostota moči (W/cm^2) x čas (s)) ali fotonski tok ($\mu mol/m^2$ s)
- skupina mikrobov (plesni, kvasovke, bakterije, virusi) oz. vrsta mikrobov ter njihova oblika rasti (npr. planktonska ali biofilmska oblika).

Nedavne študije potrjujejo protimikrobni vpliv modre svetlobe na sveže rezanem ananasu, pomarančnem soku, mleku, koži piščancev siru v rezinah (Hyun in sod., 2020). Protimikrobni učinek modre svetlobe najverjetneje vzbudi endogene fotovzpodbujevalce kot so citokromi, flavini, NADH in porfirini. Endogeni vzpodbujevalci tvorijo po absorpciji svetlobe ob prisotnosti kisika reaktivne kisikove zvrsti H_2O_2 , hidroksilne radikale, superoksidne anione in singletni kisik (Luksienė in Zukauskas 2009). Reaktivne kisikove zvrsti poškodujejo celične proteine, lipide in DNK kar vodi v celično smrt (Bumah in sod., 2013). Kombinacija modre svetlobe in riboflavina se je pokazala kot učinkovita za kontrolo *E. coli* O157:H7 in *Salmonella typhimurium* v jabolčnem soku (Kim in sod., 2022). Modra svetloba je v kombinaciji z riboflavinom zmanjšala za 3-4 logaritemske enote zaradi tvorbe reaktivnih kisikovih spojin, ki so vplivale na različne encime in zmanjšale robustnost celičnih sten obeh patogenih mikroorganizmov (Kim in sod., 2022). Obsevanje pomaranč z modro svetlobo (450 nm) je zaviralo rast plesni *Penicillium digitatum* inokuliranih po obsevanju. Intenzivnejšo inhibicijo razvoja plesni so opazili ko je bila inokulacija izvedena 3 dni po zaključenem 48 urnem

obsevanju. Inhibicijo razvoja *P. digitatum* avtorji povezujejo s povečanjem vsebnosti fenolne spojine scoparona zaradi obsevanja (Lafuente in sod., 2021).

4 UPORABA OBSEVANJA Z UV-C SVETLOBO

4.1 PRINCIP DELOVANJA UV-C SVETLOBE NA MIKROORGANIZME

Ultravijolično sevanje (UV-C je neionizirajoče sevanje, ki obsega razpon valovnih dolžin od 200 do 280 nm in se smatra za perspektiven netermičen način konzerviranja hrane. Njegove prednosti so učinkovito delovanje na različne vrste mikroorganizmov (MO), ne pušča ostankov v tretirani hrani, enostavno rokovanje in ne prevelike investicije v opremo (Yaun in sod., 2004) (Ma in sod., 2017, Koutchma 2019, Onik in sod., 2019). UV-C obsevanje zmanjša rast MO, upočasnjuje procese porjavenja (GUAN IN SOD., 2013) in inhibira aktivnost peroksidaze (POD) (Teoh in sod., 2016), poveča odpornost na gnilobo oziroma z drugimi besedami podaljša rok trajanja sadja in zelenjave (Jakubowski 2019).

Največji protimikrobni učinek UV-C obsevanja je dosežen pri 254 nm, njegova učinkovitost bazira na strukturnih spremembah DNK mikroorganizmov zaradi zamreženja pirimidina, kar posledično onemogoča transkripcijo in replikacijo (podvojevanje) (Bintsis in sod., 2000). Uspešnost antimikrobnega delovanja je odvisna od doze obsevanja in od lastnosti posameznega mikroorganizma. Npr. raziskave avtorjev (Martínez-Hernández in sod., 2015) so pokazale, da je doza UV-C obsevanja potrebna za zmanjšanje populacije *Escherichia coli*, *Salmonelle enteritidis* in *Listeria monocytogenes* za 1 log CFU g⁻¹ v minimalno predelanem brokoliju 1.07, 0.02 oziroma 9.26 kJ m⁻², kar pomeni, da je *S. Enteritidis* najobčutljivejša, *L. monocytogenes* pa najbolj odporna. Poleg tega so mnogi mikroorganizmi razvili mehanizem za popravljanje poškodb zaradi UV-C obsevanja (Fan in sod., 2017) na principu fotoreaktivacije s pomočjo encima fotoliazaze. UV-C obsevanje lahko deluje razen na DNK mikroorganizmov tudi na proteine, membrane in druge dele celic (Fan in sod., 2017) kar posledično prav tako onemogoča razvoj mikroorganizmov. Poleg omenjenega povzroča UV-C obsevanje poškodbe rastlinskega tkiva, poveča stres in intenzivnost dihanja (Rico in sod., 2007) ter deluje na mnoge encime tkiva. Pokazalo se je, da je vpliv UV-C obsevanja na encime odvisen od narave in občutljivosti encimov (Manzocco in sod., 2015, Koutchma 2019). Izpostavljanje encimov UV-C obsevanju vodi v spremembe v prostorski strukturi kar omogoča boljše izpostavljenost aktivnih mest encimov, kar posledično lahko vodi celo do začetnega povečanja aktivnosti encimov (Augusto in sod., 2015). V literaturi je mogoče najti nasprotujoče si rezultate glede učinkovitosti UV-C sevanja, ki verjetno ni odvisna le od narave mikroorganizma in vrste obdelanega sadja in zelenjave, temveč tudi od izvedbe minimalne obdelave, torej uporabljenega razkužila in/ali sredstva za preprečevanje porjavenja, pakiranja in uporabljeni dozi (Manzocco in sod., 2015; Koutchma, 2019).

Zato je lahko uporaba neionizirajočega UV-C obsevanja učinkovita, če je optimalna doza sevanja za vsako posamezno surovino ali izdelek (minimalno predelano ali predelano sadje in zelenjave, MPViP) predhodno testirana in določena.

4.2 UPORABA UV-C OBSEVANJA ZA SVEŽE SADJE IN ZELENJAVO

UV-C svetlobi se pripisuje potencial pri uporabi pred in po obiranju sadja in zelenjave (Urban in sod., 2016). Kot razlog avtorji navajajo, da je UV-C svetloba učinkovitejša v primerjavi z ostalimi valovnimi dolžinami, kot prednost se omenja predvsem zelo hiter odziv sadja in zelenjave pri osvetljevanju (Urban in sod., 2016). V primerjavi z ostalimi valovnimi dolžinami je pri UV-C potreben krajši čas in tudi manjša intenzivnost osvetljevanja saj pride hitreje do poškodb. Vpliv UV-C svetlobe je odvisen od vrste ter načina predelave sadja in zelenjave. Pri svežem paradižniku (Maharaj in sod., 1999), bučkah (Erkan in sod., 2001) in solati (Allende in Artés, 2003) inducira hitro zvišanje intenzivnosti dihanja. Vpliv UV-C svetlobe na sveže sadje in zelenjavo je podoben kot vpliv drugih valovnih dolžin, ki vplivajo na povečanje intenzivnosti dihanja in izločanja etilena. Pri sveže narezanih melonah (Lamikanra in sod., 2005) in brokoliju (Costa in sod., 2006) pa povzroča znižanje aktivnosti dihanja. UV-C svetloba deluje bolj agresivno na mikroorganizme in encime kar se kaže v bolj inhibitornem vplivu na rezano sadje in zelenjavo, pri prekoračenju priporočljive doze pride hitro do poškodb tkiva (Urban in sod., 2016).

Obsevanje intaktnega svežega sadja in zelenjave z UV-C svetlobo dokazano pripomore zmanjšanju izgub zaradi fiziološkega in mikrobiološkega kvara z delovanjem UV-C sevanja na encime in mikroorganizme. Ker pa je delovanje encimov tesno povezano s kemijsko sestavo, so številne študije spremljale spremembe posameznih sestavin zaradi vpliva UV-C sevanja in posledično spremembe med skladiščenjem. Rocha in sod., (2015) so preučevali vpliv UV-C obsevanja (254 nm) z različnimi dozami (2,3, 6,9, 11,5 in 34,5 kJ m⁻²) na gomoljih krompirja in potrdili manjšo pojavnost gnilobe krompirja, obdelanega z odmerkom 34,5 kJ m⁻² po 21 dneh skladiščenja pri 25 °C in 88 % relativne vlažnosti (RH) v primerjavi z drugimi odmerki, kar je bilo skladno s številom bakterij *Pectobacterium carotovorum* (povzročitelj gnilobe). Število bakterij na tretiranih gomoljih se je zmanjšalo 24 ur po obdelavi, pri najvišji dozi obsevanja (34,5 kJ m⁻²) pa bakterije *P. carotovorum* niso zaznali.

Zmanjšano dovzetnost za gnitje so opazili tudi pri figah, obsevanih z UV-C svetlobo v odmerkih 0,71, 1,32, 2,64 in 4,01 kJ m⁻², čeprav je odmerek 4,01 kJ m⁻² povzročil razpoke na kožici fige (Usberti in Ferraz 2020). V prispevku avtorjev Čošić in sod., (2021) so bili gomolji krompirja izpostavljeni sevanju z dozami 1,08, 2,70, 5,40 in 10,08 kJ m⁻² v času trajanja 2, 5, 10 in 20 min. Po 24-urni izpostavljenosti gomoljev dozi sevanja 10,08 kJ m⁻² je bilo skupno število aerobnih mezofilnih bakterij za 1 log CFU g⁻¹ nižje kot pri neobdelanih gomoljih. V raziskavi so preučili tudi učinek obračanja gomoljev po polovici časa obsevanja za bolj enakomerno obdelavo, vendar to ni imelo pomembnega vpliva. Rocha in sod., (2015) so ugotovili, da izpostavljenost gomoljev UV-C obsevanju poveča delež glikoalkaloidov (α -hakonin in α -solanin), spojin z zaščitnim vplivom na kožico in meso gomoljev. Nadalje, v raziskavi Čošića in sod., (2021) so opazili povečanje vsebnosti fenolnih spojin zaradi obsevanja z UV-C, ki so znane po svoji zaščitni vlogi.

V zvezi s tem je boljša vitalnost obdelanega krompirja v zgoraj opisanih primerih povezana z zmanjšanjem števila mikroorganizmov zaradi UV-C sevanja, pa tudi s povečanjem deleža spojin z zaščitno vlogo.

Podobno lahko obsevanje z UV-C svetlobo pri pomarančah upočasni kvarjenje z neposrednim delovanjem na plesni zaradi površinske absorpcije sevanja, ki inaktivira konidije gliv, in s posrednim delovanjem na indukcijo presnovnih in anatomskih sprememb v flavedu citrusov (debelejše celične stene) (Papoutsis in sod., 2019). Prav tako se po obsevanju v flavedu kopičijo fenolne spojine in fitoaleksini, ki so sekundarni presnovki s protiglivičnim delovanjem (Kanashiro in sod., 2020).

Na jagodah so preučevali možnost obdelave že pred obiranjem in dobili obetavne rezultate. Jagode, vzgojene v zavarovanem prostoru so pred obiranjem obdelali z UV-C svetlobo v odmerku 60 mJ cm^{-2} , pri čemer so ugotovili večjo trdoto in večji delež elaginske kisline v primerjavi z neobdelanimi jagodami (Xie in sod., 2014). Tudi po obiranju so jagode, obsevane z UV-C svetlobo v odmerkih $2,15$ in $4,30 \text{ kJ m}^{-2}$ (čas obsevanja 5 in 10 min), pokazale boljšo obstojnost v primerjavi z neobdelanimi (Erkan in sod., 2008).

Syamaladevi in sod., (2015) so izvedli študijo o vplivu UV-C sevanja na inaktivacijo na površini jabolka, češenj, jagod in malin inokulirane plesni *Penicilium expansum*. Največje zmanjšanje $1,8$ (jabolko), $2,4$ (češnja), $2,6$ (jagoda) in $2,8$ (malina) $\log \text{ CFU g}^{-1}$ je bilo doseženo pri odmerkih $1,2$, $2,1$, $3,3$ oziroma $3,3 \text{ kJ m}^{-2}$. Razlog za različne rezultate glede na vrsto plodov je različna morfološka struktura površine plodov, tako da je hidrofobna narava malin z visoko površinsko hrapavostjo povzročila manjšo inaktivacijo *P. expansum*.

Onik in sod., (2019) so celotno površino jabolka obdelali z UV-C sevanjem v odmerku $9,0 \text{ kJ m}^{-2}$, nato pa so bila jabolka shranjena pri $20 \text{ }^\circ\text{C}$ in $85\text{--}95 \%$ relativni vlažnosti 15 dni. Ugotovili so, da je vsebnost sladkorjev (glukoza, fruktoza in saharoza) med skladiščenjem ostala podobna, vendar se je razmerje med sladkorji in kislinami povečalo, z drugimi besedami, zmanjšal se je delež kislin. Na vzorcih je bila izvedena analiza transkriptoma, rezultati kažejo, da je znižanje kislin posledica presnove malata zaradi regulacije NADP-malat dehidrogenaze in fosfoenolpiruvat karboksilat kinaze v jabolku med skladiščenjem. Zato velja, da UV-C obsevanje pomaga pri presnovi malata, kar prispeva k izboljšanju okusa jabolka brez vpliva na druge parametre kakovosti.

Podobno so Lin in sod., (2017) ugotovili manjše povečanje vsebnosti sladkorjev v UV-C obsevanih gomoljih krompirja med skladiščenjem pri $4 \text{ }^\circ\text{C}$ v primerjavi z neobdelanim vzorcem. Domneva se, da UV-C obsevanje vpliva na regulacijo kaskade encimov, saharoza fosfat sintaze, inhibitorja invertaze in invertaze, ki so vsi na nek način vključeni v proces nastanka sladkorjev. Povečanje vsebnosti sladkorjev je sicer v krompirju dobro znan pojav do katerega pride med skladiščenjem pri temperaturi nižji od $8 \text{ }^\circ\text{C}$, kar je nezaželeno in negativno vpliva na kemično sestavo ocvrtega krompirja ali prispeva k tvorbi nezaželenega akrilamida. Akrilamid nastaja v Maillardovi reakciji iz reducirajočih sladkorjev in proste aminokisline asparagin med cvrtjem pri temperaturah nad $120 \text{ }^\circ\text{C}$ (Bethke in Bussan 2013). Večji delež reducirajočih sladkorjev poveča vsebnost akrilamida. Po podatkih Mednarodne agencije za raziskave raka (IARC) je akrilamid potencialno rakotvoren za ljudi in ga je zato treba strogo nadzorovati.

Poleg tega je bilo ugotovljeno, da lahko UV-C obsevanje poveča tvorbo bioaktivnih spojin, kot

so vitamini, karotenoidi in že omenjene fenolne spojine, kar vse vpliva na povečano antioksidativno učinkovitost, kot je razvidno iz več testiranih vrst sadja in zelenjave, kot npr., pri jagodah (Erkan in sod., 2008).

4.3 UPORABA UV-C OBSEVANJA ZA MINIMALNO PREDELANO SADJE IN ZELENJAVO

Minimalno predelano sadje in zelenjava je obdelano sadje in zelenjava, torej očiščeno (odstranjeni vsi neužitni deli) je 100 % uporabno, pakirano, izjemno praktično, nespremenjenih senzoričnih lastnosti in hranilne vrednosti in še vedno ohranja svežino (Lamikanra 2002). Takoj, ko sta sadje ali zelenjava mehansko poškodovana, kar v tem primeru pomeni lupljenje, rezanje in/ali izkoščičevanje, se poruši celovitost surovine, aktivirajo se številni encimi in rastlinsko tkivo pride v stik s kisikom in mikroorganizmi, kar naredi izdelek bolj dovzeten za kvarjenje. Po drugi strani pa so postopki, ki se uporabljajo pri proizvodnji takega sadja in zelenjave, vsi tisti, ki se uporabljajo pri konvencionalni predelavi do blanširanja. Minimalno predelano sadje in zelenjava nista izpostavljena termični obdelavi (Laurila in Ahvenainen 2002), ki ima vlogo encimske inaktivacije in uničenja mikroorganizmov. V zvezi s tem je pri tej proizvodnji velik izziv ohraniti svežino in čim dlje doseči stabilen, prehransko polnovreden, senzorično ustrezen in varen proizvod. Minimalni rok trajanja tovrstnih izdelkov, ki je zaželen za maloprodajo, je 8 dni, pri čemer je posebej omejujoč dejavnik rast mikroorganizmov, pa tudi porjavenje, ki so ji podvržene številne vrste sadja in zelenjave. Zato se poleg drugih netermičnih tehnik raziskuje možnost uporabe UV-C sevanja pri izdelavi minimalno predelanega sadja in zelenjave.

Tako kot pri intaktnem sadju in zelenjavi ter rezanem sadju in zelenjavi so pričakovani pozitivni učinki UV-C obsevanja zaradi protimikrobnega delovanja in ker UV-C obsevanje predstavlja abiotski stres, ki posledično spodbudi sintezo bioaktivnih spojin.

Avtorji Alegria in sod., (2012) so preučevali učinke toplotnega šoka (100 °C/45 s) in UV-C obsevanja (0,78 kJ m⁻²) na celem korenju (*Daucus carota* cv. Nantes), na kakovost naknadno naribanega in pakiranega v 35 µm debele polipropilenske vrečke med skladiščenjem pri 5 °C. Vzorci, obdelani s toploto in UV-C obsevanjem, so imeli višjo vsebnost fenolov in so pokazali manjšo aktivnosti POD med shranjevanjem v primerjavi s kontrolnimi vzorci (dezinfekcija 200 mg L⁻¹ prostega klora /1 min). Vsi vzorci so imeli vizualno dobro barvo, čeprav je bila vsebnost karotenoidov nižja kot na začetku poizkusa. Poleg tega je bilo v vzorcih, obdelanih z UV-C svetlobo, po začetnem redukciji med nadaljnjim shranjevanjem opaženo določeno povečanje vsebnosti karotenoidov. Poleg tega UV-C obsevanje ni pokazalo pomembnega protimikrobnega učinka.

Na Prehrambeno-biotehnološki fakulteti Univerze v Zagrebu so v okviru projekta HRZZ "Inovativne tehnike pri minimalni predelavi krompirja (*Solanum tuberosum*) in njegovo zdravje po pripravi" (2017 - 2021) izvedli raziskavo o UV-C osevanju za podaljšanje roka uporabnosti minimalno predelanega krompirja (Pelaic in sod., 2021). Preučevali so fizikalne, kemijske in senzorične lastnosti pred in po pripravi krompirja za uživanje. Krompir sorte Birgit so po pranju in lupljenju narezali na 4 mm debele rezine, jih potopili za 3 minute v raztopino natrijevega

askorbata (2 % m/v), posušili, vakuumsko zapakirali (poliamidne/polietilenske vrečke, 100 in 130 μm) in izpostavili UV-C obsevanju (0, 1,62, 2,70 in 5,40 kJ m^{-2} , kar ustreza 0, 3, 5 in 10-minutni izpostavljenosti UV-C sevanju) in shranili 23 dni pri 6 °C. Rezine krompirja v vrečkah so bile zložene v eni plasti, da so bile popolnoma izpostavljene sevanju. Po 8, 11, 15 in 23 dneh so bile opravljene analize tako surovega krompirja kot tudi toplotno obdelanega, (kuhanje, cvrtje). UV-C obdelava v času 5 in 10 minut je znatno zmanjšala rast skupnih aerobnih mezofilnih bakterij, povečala skupno suho snov in parameter barve svetlost (L^*) ter pozitivno vplivala na barvo, vonj in čvrstost surovega krompirja. Za kuhane vzorce, obdelane z UV-C svetlobo, je značilen izrazitejši značilen vonj in okus krompirja. Na splošno so se z UV-C obsevanjem, zlasti v času 5 in 10 min, kakovost in senzorične lastnosti minimalno obdelanega krompirja ohranile 15 dni pri 6 °C, število aerobnih mezofilnih bakterij pa je bilo približno 2 log CFU g^{-1} nižje od neobdelanega vzorca. Kar zadeva fenolne spojine, je uporaba UV-C obsevanja povzročila zmanjšanje vsebnosti klorogenske kisline. Poleg tega je UV-C obsevanje povzročilo povečanje vsebnosti sladkorja (glukoza, fruktoza, saharoza) in posledično povečanje akrilamida v ocvrtih vzorcih. Vendar pa so bile v študiji določene vrednosti akrilamida pod najvišjo dovoljeno mejo, določeno z Uredbo Komisije EU (2017/2158) za krompirjeve izdelke, ki je 750 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ocvrtega vzorca.

Avtorji (Teoh in sod., 2016) so testirali vpliv nekoliko višjih doz UV-C obsevanja (2,28, 6,84, 11,41 in 13,68 kJ m^{-2}) na krožnikih minimalno obdelanega krompirja, na aktivnostjo encimov, odgovornih za porjavenje. Odmerek 6,84 kJ m^{-2} se je izkazal za najboljšega glede na to, da so imeli ti vzorci rezin krompirja najnižjo aktivnost polifenol oksidaze (PPO), fenilalanin amonijak liaze in POD po 10 dneh pri 4 °C. Rezine krompirja so bile predhodno potopljene v raztopino askorbinske kisline in kalcijevega klorida ter pakirane v zračno prepustne plastične škatle. V poškodovanem tkivu, kjer je ogrožena celična celovitost, lahko encimi pridejo v stik s fenolnimi spojinami, kar povzroči reakcije porjavenja. Encima PPO in POD v prisotnosti kisika katalizirata reakcije, pri katerih pride do oksidacije polifenolov, ki se spremenijo v kinone in polimerizirajo, da tvorijo rjave pigmente t.i. melanoidine. Zaradi navedenega se aktivnost PPO uporablja kot parameter za oceno nagnjenosti k porjavenju rezanega sadja in zelenjave in je zaželeno, da je čim nižja.

Študija učinka UV-C obsevanja za čas 1, 3 ali 5 min na narezane kocke melone pred shranjevanjem pri temperaturi 5 ± 1 °C in 85-90 % relativne vlažnosti se je pokazala kot učinkovita. UV-C obsevanja v času 3 min. je ugodno vplivalo na barvo (višji parameter L^*) in povečanje topne suhe snovi, ne pa tudi na druge parametre, kot sta izguba elektrolitov ali izguba teže (Kasim in sod., 2014).

Podobno kot v prejšnji študiji obstajajo študije, ki ne potrjujejo bistveno večje učinkovitosti UV-C sevanja v primerjavi z nekaterimi drugimi metodami. Tako se je v študiji avtorjev Xie in sod., (2017) obdelava krompirjevih rezin s potapljanjem za 2 minuti v raztopino natrijevega sulfata (2,5 % m/v) pokazala učinkovitejša glede na aktivnost PPO in POD, barvne parametre L^* , a^* in b^* ter skupno število bakterij med shranjevanjem rezin, pakiranih v polietilenske vrečke 25 dni pri 4 °C od obdelave z UV-C obsevanjem, ki je trajalo 3 minute.

Prav tako UV-C obsevanje (60 in 90 s) ni bilo učinkovito pri preprečevanju porjavenja sveže

narezanega ananasa (*Ananas comosus* L. Merr. Cv. Comte de Paris), pakiranega v plastične posode, zaprte s polimerno folijo in shranjene pri 10 °C. Porjavenje je bilo večje pri vzorcih obdelanih daljši čas, tudi vsebnost vitamina C se je bistveno zmanjšala ne glede na čas obsevanja. Kljub zmanjšanju čvrstosti, topne suhe snovi in sladkorja ter povečanju skupne kislosti v vzorcih, obdelanih z UV-C, so bile te spremembe bistveno manj odvisne od časa obdelave v primerjavi z neobdelanim vzorcem (Pan in Zu, 2012).

Vendar pa so Araque in sod., (2022), ki so uporabili doze sevanja 2 in 4 kJ m⁻², ugotovili, da je obsevanje z dozo 4 kJ m⁻² pri intenzivnosti 36 W m⁻² zmanjšalo gnitje narezanih jagod, iztekanje soka, mehčanje, dehidracijo in število kvasovk in plesni. Poleg tega se je bolje ohranila barva jagod, splošna sprejemljivost pa je bila dobro ocenjena pri senzoričnih testiranjih s strani potrošnikov. Obsevanje ni vplivalo na kislost, topno suho snov ali fenolne spojine, zato bi lahko za podaljšanje roka uporabnosti sveže narezanih jagod priporočali UV-C obsevanje v odmerku 4 kJ m⁻².

Grača in sod., (2020) so ugotovili, da je UV-C obsevanje (7,5 in 10 kJ m⁻²) najučinkovitejša metoda za zmanjšanje kvasovk (mešanica kvasovk, *Candida sake*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia fermentans*, *Metschnikowia pulcherrima*), inokuliranih s sveže narezanimi plodovi jabolki (Royal gala) in shranjenih 9 dni pri 4 °C. Poleg UV-C obsevanja so bile uporabljena tudi tretiranja z nakisano in nevtralnno elektrolizirano vodo in raztopino natrijevega hipoklorita (100 ppm).

V eni najnovejših raziskav so primerjali klasične različice UV-C obsevanja (nizko tlačno živosrebrno žarnico), ki oddajala svetlobo z valovno dolžino 253,7 nm, z novejšimi LED sijalkami, ki oddajajo svetlobo z valovno dolžino približno 280 nm. Glede na dobljene rezultate LED svetilke predstavljajo sprejemljivejšo rešitev glede na ceno, vzdržljivost, moč in učinkovitost proti patogenim mikroorganizmom. UV-C obsevanje pri obeh valovnih dolžinah (277 in 253,7 nm z dozo 500 mJ cm⁻²) je za 28 dni preprečilo rast modre plesni, ki je bila inokulirana na površino jabolka v teku 28 dni. Poleg tega obsevanje z UV-C svetlobo, ki je zmanjšala *P. expansum* za 2 log CFU g⁻¹, ni poslabšala fizikalno-kemijskih parametrov kakovosti jabolka v 12 tednih skladiščenja pri 25 °C (de Souza in sod., 2020).

Iz zgornjih primerov je razvidno, da je za podaljšanje roka uporabnosti minimalno predelanih izdelkov treba določiti optimalne doze UV-C sevanja glede na najvišjo učinkovitost in najmanjšo škodo, ki jo lahko povzročijo visoki odmerki, ob upoštevanju lastnosti sadja in zelenjave, sredstev proti porjavenju, embalažnih materialov in pogojev pakiranja in skladiščenja.

5 ZAKLJUČEK

Uporaba svetlobe v rastni dobi in po obiranju sadja in zelenjave se je pokazala kot perspektivna tehnologija za povečanje prehranske vrednosti in mikrobiološke obstojnosti. Pri pridelavi več vrst sadja in zelenjave se proizvajalci odločajo za spremenjeno osvetlitev z uporabo barvnih mrež nad ali odbojnih folij pod krošnjami dreves. Obsevanje z modro svetlobo pospešuje sintezo sekundarnih metabolitov predvsem fenolnih spojin in v manjši meri ostalih spojin ter

deluje zaviralno na razvoj mikroorganizmov. Na omenjene spremembe ima veliko bolj izražen učinek UV-C svetloba, ki učinkovito inaktivira mikroorganizme ter encime. Poobiravno obsevanje z UV-C svetlobo se je pokazalo kot učinkovito za podaljšanje obstojnosti jagodičevja ter narezanega sveže pakiranega sadja in zelenjave.

6 VIRI

- Alegria C., Pinheiro J., Duthoit M., Gonçalves E. M., Moldão-Martins M., Abreu M., 2012. Fresh-cut carrot (cv. Nantes) quality as affected by abiotic stress (heat shock and UV-C irradiation) pre-treatments. *LWT - Food Science and Technology*, 48: 197-203
- Allende A., Artés F., 2003. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed 'Lollo Rosso' lettuce. *Food Research International*, 36: 739-746
- Augusto P. E. D., Ibarz R., Garvín A., Ibarz A., 2015. Peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) photo-inactivation in a coconut water model solution using ultraviolet (UV). *Food Research International*, 74: 151-159
- Ballester A.-R., Lafuente M. T., 2017. LED Blue Light-induced changes in phenolics and ethylene in citrus fruit: Implication in elicited resistance against *Penicillium digitatum* infection. *Food Chemistry*, 218: 575-583
- Bethke P. C., Bussan A. J., 2013. Acrylamide in Processed Potato Products. *American Journal of Potato Research*, 90: 403-424
- Bintsis T., Litopoulou-Tzanetaki E., Robinson R. K., 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry - a critical review. *J Sci Food Agric*, 80: 637-645
- Bumah V. V., Masson-Meyers D. S., Cashin S. E., Enwemeka C. S., 2013. Wavelength and bacterial density influence the bactericidal effect of blue light on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Photomed Laser Surg*, 31: 547-553
- Costa L., Vicente A. R., Civello P. M., Chaves A. R., Martínez G. A., 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*, 39: 204-210
- Erkan M., Wang C. Y., Krizek D. T., 2001. UV-C irradiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue. *Environ Exp Bot*, 45: 1-9
- Erkan M., Wang S. Y., Wang C. Y., 2008. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 48: 163-171
- Fan X., Huang R., Chen H., 2017. Application of ultraviolet C technology for surface decontamination of fresh produce. *Trends in Food Science & Technology*, 70: 9-19
- Graça A., Santo D., Pires-Cabral P., Quintas C., 2020. The effect of UV-C and electrolyzed water on yeasts on fresh-cut apple at 4 °C. *Journal of Food Engineering*, 282: 110034
- Guan W., Fan X., Yan R., 2013. Effect of combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, native microbial loads, and quality of button mushrooms. *Food Control*, 34: 554-559
- Huyskens-Keil S., Eichholz-Dündar I., Hassenberg K., Herppich W. B., 2020. Impact of light quality (white, red, blue light and UV-C irradiation) on changes in anthocyanin content and dynamics of PAL and POD activities in apical and basal spear sections of white asparagus after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 161: 111069
- Hyun J.-E., Lee S.-Y., 2020. Blue light-emitting diodes as eco-friendly non-thermal technology in food preservation. *Trends in Food Science & Technology*, 105: 284-295
- Jakubowski T., 2019. Impact of UV-C Irradiation of Potato Seed Tubers on the Defects in Potato Plant Crops. *Agricultural Engineering*, 23: 71-77
- Kanashiro A. M., Akiyama D. Y., Kupper K. C., Fill T. P., 2020. *Penicillium italicum*: An Underexplored Postharvest Pathogen. *Frontiers in microbiology*, 11: 606852-606852
- Kasim R., Kasim M. U., 2014. Biochemical and color changes of fresh-cut melon (*Cucumis melo* L. cv. Galia) treated with UV-C. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 34: 547-551
- Kim D.-K., Shin M., Kim H.-S., Kang D.-H., 2022. Inactivation efficacy of combination treatment of blue light-emitting diodes (LEDs) and riboflavin to control *E. coli* O157:H7 and *S. Typhimurium* in apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 78: 103014

- Kokalj D., Zlatič E., Cigić B., Kobav M. B., Vidrih R., 2019. Postharvest flavonol and anthocyanin accumulation in three apple cultivars in response to blue-light-emitting diode light. *Scientia Horticulturae*, 257: 108711
- Kokalj D., Zlatič E., Cigić B., Vidrih R., 2019. Postharvest light-emitting diode irradiation of sweet cherries (*Prunus avium* L.) promotes accumulation of anthocyanins. *Postharvest Biology and Technology*, 148: 192-199
- Lafuente M. T., Romero P., Ballester A.-R., 2021. Coordinated activation of the metabolic pathways induced by LED blue light in citrus fruit. *Food Chemistry*, 341: 128050
- Lamikanra O., Kueneman D., Ukuku D., Bett-Garber K. L. 2006. Effect of Processing Under Ultraviolet Light on the Shelf Life of Fresh-Cut Cantaloupe Melon. *Journal of Food Science*, 70, 9: C534-C539
- Laurila E., Ahvenainen R. 2002. 9 - Minimal processing in practice: Fresh fruits and vegetables. *Minimal Processing Technologies in the Food Industries*. T. Ohlsson in N. Bengtsson, Woodhead Publishing: 219-244.
- Leidy Carolina Ortiz A., Darré M., Pedro Marcos C., Vicente A., 2022. Short UV-C treatments extend the shelf-life of fresh-cut strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Camarosa). *Ingeniería e Investigación*, 42:
- Lim W., Harrison M. A., 2016. Effectiveness of UV light as a means to reduce *Salmonella* contamination on tomatoes and food contact surfaces. *Food Control*, 66: 166-173
- Lin Q., Xie Y., Liu W., Zhang J., Cheng S., Xie X., Guan W., Wang Z., 2017. UV-C treatment on physiological response of potato (*Solanum tuberosum* L.) during low temperature storage. *J Food Sci Technol*, 54: 55-61
- Luksiene Z., Zukauskas A., 2009. Prospects of photosensitization in control of pathogenic and harmful microorganisms. *J Appl Microbiol*, 107: 1415-1424
- Ma L., Zhang M., Bhandari B., Gao Z., 2017. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 64: 23-38
- Maharaj R., Arul J., Nadeau P., 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 15: 13-23
- Manzocco L., Nicoli M. C., 2015. Surface processing: existing and potential applications of ultraviolet light. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 55: 469-484
- Martínez-Hernández G. B., Navarro-Rico J., Gómez P. A., Otón M., Artés F., Artés-Hernández F., 2015. Combined sustainable sanitising treatments to reduce *Escherichia coli* and *Salmonella* Enteritidis growth on fresh-cut kailan-hybrid broccoli. *Food Control*, 47: 312-317
- Onik J. C., Xie Y., Duan Y., Hu X., Wang Z., Lin Q., 2019. UV-C treatment promotes quality of early ripening apple fruit by regulating malate metabolizing genes during postharvest storage. *PloS one*, 14: e0215472-e0215472
- Pan Y.-G., Zu H., 2012. Effect of UV-C Radiation on the Quality of Fresh-cut Pineapples. *Procedia Engineering*, 37: 113-119
- Papoutsis K., Mathioudakis M. M., Hasperué J. H., Ziogas V., 2019. Non-chemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus caused by *Penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (blue mold). *Trends in Food Science & Technology*, 86: 479-491
- Pelaić Z., Čošić Z., Pedisić S., Repajić M., Zorić Z., Levaj B., 2021. Effect of UV-C Irradiation, Storage and Subsequent Cooking on Chemical Constituents of Fresh-Cut Potatoes. *Foods*, 10:
- Rico D., Martín-Diana A. B., Barat J. M., Barry-Ryan C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 373-386
- Rios de Souza V., Popović V., Warriner K., Koutchma T., 2020. A comparative study on the inactivation of *Penicillium expansum* spores on apple using light emitting diodes at 277 nm and a low-pressure mercury lamp at 253.7 nm. *Food Control*, 110: 107039
- Rocha A. B. O., Honório S. L., Messias C. L., Otón M., Gómez P. A., 2015. Effect of UV-C radiation and fluorescent light to control postharvest soft rot in potato seed tubers. *Scientia Horticulturae*, 181: 174-181
- Shafiq I., Hussain S., Raza M. A., Iqbal N., Asghar M. A., Raza A., Fan Y.-f., Mumtaz M., Shoaib M., Ansar M., Manaf A., Yang W.-y., Yang F., 2021. Crop photosynthetic response to light quality and light intensity. *Journal of Integrative Agriculture*, 20: 4-23
- Syamaladevi R. M., Adhikari A., Lupien S. L., Dugan F., Bhunia K., Dhingra A., Sablani S. S., 2015. Ultraviolet-C light inactivation of *Penicillium expansum* on fruit surfaces. *Food Control*, 50: 297-303

- Tavanti T. R., Melo A. A. R. d., Moreira L. D. K., Sanchez D. E. J., Silva R. d. S., Silva R. M. d., Reis A. R. d., 2021. Micronutrient fertilization enhances ROS scavenging system for alleviation of abiotic stresses in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 160: 386-396
- Teoh L. S., Lasekan O., Adzahan N. M., Hashim N., 2016. The effect of ultraviolet treatment on enzymatic activity and total phenolic content of minimally processed potato slices. *J Food Sci Technol*, 53: 3035-3042
- Torri L., Sinelli N., Limbo S., 2010. Shelf life evaluation of fresh-cut pineapple by using an electronic nose. *Postharvest Biology and Technology*, 56: 239-245
- Urban L., Charles F., de Miranda M. R. A., Aarrouf J., 2016. Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105: 1-11
- Usberti F., Ferraz A., 2021. UV-C radiation on fresh fig quality. *Scientia Agricola*, 78:
- Xie Y., Lin Q., Guan W., Cheng S., Wang Z., Sun C., 2017. Comparison of Sodium Acid Sulfate and UV-C Treatment on Browning and Storage Quality of Fresh-Cut Potatoes. *Journal of Food Quality*, 2017: 1-7
- Xie Z., Charles M., Rolland D., Roussel D., Deschênes M., Dubé C., Khanizadeh S., Fan J., 2015. Preharvest exposure to UV-C radiation: Impact on strawberry fruit quality. *Acta Horticulturae*, 1079: 589-592
- Xu F., Shi L., Chen W., Cao S., Su X., Yang Z., 2014. Effect of blue light treatment on fruit quality, antioxidant enzymes and radical-scavenging activity in strawberry fruit. *Scientia Horticulturae*, 175: 181-186
- Yaun B. R., Sumner S. S., Eifert J. D., Marcy J. E., 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *Int J Food Microbiol*, 90: 1-8
- Zhang J., Zhang Y., Song S., Su W., Hao Y., Liu H., 2020. Supplementary Red light results in the earlier ripening of tomato fruit depending on ethylene production. *Environ Exp Bot*, 175: 104044
- Zhou C., Shao M., Liu W., Li B., Wang Q., Liu J., Wen Y., Yang Q., 2021. Regulation of ascorbate accumulation and metabolism in lettuce by end-of-production high light irradiation provided by red and blue LEDs. *Environ Exp Bot*, 189: 104567
- Zhou F., Zuo J., Xu D., Gao L., Wang Q., Jiang A., 2020. Low intensity white light-emitting diodes (LED) application to delay senescence and maintain quality of postharvest pakchoi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino var. *communis* Tsen et Lee). *Scientia Horticulturae*, 262: 109060
- Zushi K., Suehara C., Shirai M., 2020. Effect of light intensity and wavelengths on ascorbic acid content and the antioxidant system in tomato fruit grown in vitro. *Scientia Horticulturae*, 274: 109673

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM MEDICAL PLANTS GROWN IN LIGHT MODIFIED ENVIRONMENT

Lidija MILENKOVIĆ¹, Ljubomir ŠUNIĆ², Jasna MASTILOVIĆ³, Žarko KEVREŠAN⁴, Renata KOVAČ⁵, Dragan CVETKOVIĆ⁶, Ljiljana STANOJEVIĆ⁷, Bojana DANILOVIĆ⁸, Jelena STANOJEVIĆ⁹, Zoran S. ILIĆ^{10*}

Abstract: Thyme, marjoram, lemon balm, mint, and sweet basil were used to determine whether light modification (plants grown under pearl nets with 50% shaded index or un-shaded - open field conditions) could improve the antimicrobial activity of essential oils (EOs). Obtained results were discussed concerning previously determined yield and composition of EOs from five medicinal plants. Seven microorganisms were selected to determine the antimicrobial activity of medicinal plants essential oils. The inhibition zone is dependent primarily on the plant species and the influence of shading is much less expressed. The results revealed that EOs from *Thymus vulgaris* L., proved most active against all isolates with inhibitory zone range from 24 mm (*B. subtilis*) to 56 mm (*C. albicans*). From all species of the plants, only marjoram exhibits inhibition (18-20 mm) in the case of *P. aeruginosa*. EOs from shaded thyme and marjoram expressed higher inhibition effects in comparison to other shaded or unshaded plants against all tested microorganisms. EOs from all shaded plants, except basil, showed higher anti-candida activity than EOs from unshaded plants. The results of this study suggest that the natural products derived from Lamiaceae plants may have potential use in the food and/or pharmaceutical industries as antimicrobial agents.

Keywords: mint plants; shading; essential oils; composition: antimicrobial activity

PROTIMIKROBNA AKTIVNOST ETERIČNIH OLJ IZ ZDRAVILNIH ZELIŠČ GOJENIH V OKOLJU S SPREMENJENO SVETLOBO

Povzetek: Preučevali smo gojenje timijana, majarona, melise, mete in bazilikev razmerah spremenjene svetlobe (rastline, gojene pod bisernimi mrežami s 50-odstotnim indeksom senčenja ali nezasenčene – dnevna svetloba) z namenom ugotoviti ali senčenje izboljša protimikrobno delovanje eteričnih olj (EO). Dobljene rezultate smo obravnavali glede predhodno določenega donosa in sestave EO iz vseh petih zdravilnih zelišč. Za ugotavljanje protimikrobnega delovanja eteričnih olj zdravilnih zelišč je bilo izbranih sedem mikroorganizmov. Območje inhibicije je odvisno predvsem od rastlinske vrste, vpliv senčenja pa je veliko manj izražen. Rezultati so pokazali, da so se EO iz timijana izkazale za najbolj aktivne proti vsem izolatom z razponom zaviralnih con od 24 mm (*B. subtilis*) do 56 mm (*C. albicans*). Od vseh izbranih zelišč kaže samo majaron inhibicijo (18-20 mm) v primeru *P. aeruginosa*. EO iz zasenčenega timijana in majarona sta v primerjavi z drugimi zasenčenimi ali nezasenčenimi rastlinami izrazili višje inhibicije proti vsem testiranim mikroorganizmom. EO iz vseh osenčenih rastlin, razen bazilike, so pokazali večjo aktivnost proti kandidi v primerjavi z EO iz nezasenčenih rastlin. Rezultati te študije

¹ Prof dr Lidija Milenković, University of Priština in Kos. Mitrovica, Faculty of Agriculture, 38219 Lešak, Serbia, lidija.milenkovic@pr.ac.rs

² Prof dr Ljubomir Šunić, University of Priština in Kosovska Mitrovica, Faculty of Agriculture, 38219 Lešak, Serbia, ljubomir.sunic@pr.ac.rs

³ Prof dr Jasna Mastilović, University of Novi Sad, Institute of Food Technology, 21000 Novi Sad, Serbia, jasna.mastilovic@fins.uns.ac.rs

⁴ dr Žarko Kevrešan, University of Novi Sad, Institute of Food Technology, 21000 Novi Sad, Serbia, zarko.kevresan@fins.uns.ac.rs

⁵ dr Renata Kovač, University of Novi Sad, Institute of Food Technology, 21000 Novi Sad, Serbia, renata.kovac@fins.uns.ac.rs

⁶ prof dr Dragan Cvetković, University of Niš, Faculty of Technology, 16000 Leskovac, Serbia, dragancvetkovic1977@yahoo.com

⁷ prof.dr Ljiljana Stanojević, University of Niš, Faculty of Technology, 16000 Leskovac, Serbia, stanojevic@tf.ni.ac.rs

⁸ prof. dr. Bojana Danilović, University of Niš, Faculty of Technology, 16000 Leskovac, Serbia, bojana_danilovic@yahoo.com

⁹ Jelena Stanojević, University of Niš, Faculty of Technology, 16000 Leskovac, Serbia, jelena_stanojevic@yahoo.com

¹⁰ prof dr Zoran Ilić, University of Priština in Kos. Mitrovica, Faculty of Agriculture, 38219 Lešak, zoran.ilic63@gmail.com

*Correspondence: zoran.ilic63@gmail.com; Tel.: +381-63-8014966

kažejo, da bi lahko naravni proizvodi, pridobljeni iz rastlin *Lamiaceae*, imeli potencialno uporabo v živilski in/ali farmacevtski industriji kot protimikrobna sredstva.

Ključne besede: zdravilna zelišča, senčenje, eterična olja, sestava, protimikrobna učinkovitost

1 INTRODUCTION

Essential oils (EOs) are volatile secondary metabolites extracted from medicinal plants with positive effects on human health, accepted as natural antimicrobials instead of chemical preservatives in food products (Pandey et al., 2017). The chemical composition of the EOs contributes to their medicinal value which is responsible for the antibacterial properties highly depends on different geographical origin, chemotypes, environment, method of production, maturation stage, plant parts from which EO was derived, as well as harvesting time, isolation techniques, duration, and storage conditions (Helalet et al., 2019; Tmušić et al., 2021). EOs are natural origin, with a wide spectrum of antimicrobial activity (Soković et al., 2010) use of small concentrations, do not leave any residual effect on fresh produce (Vermani and Garg, 2002), inexpensive and renewable (Kalemba and Kunicka, 2003). They could be used as alternatives for chemical fungicides because they are known as “reduced-risk” pesticides and they are safe for consumption and environmental (Tzortzakakis, 2007a, 2007b).

Climate conditions play very important role in the accumulation and composition of essential oils in the plants (Murillo-Amador et al., 2013). For the medical plant production and synthesis of secondary metabolites, light intensity and quality have great affect. Light modification could improve the quantity and quality of essential oils in medicinal plants (Ilić et al., 2022; Milenković et al., 2021). Shading plants by photo-selective shade nets synthesized more EOs than plants exposed to full sun light (Ilić et al., 2021).

Since the main components of EOs are very complex and variable, it is very difficult to link them to a antimicrobial activity (Milenković et al., 2021). An association between the chemical composition of the most dominant components in the EO and the antimicrobial activity was observed (Carrasco et al., 2012). EOs from *Lamiaceae* species as an oral liquid in dental hygiene procedures demonstrated high antimicrobial activity against pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*) and opportunistic yeast *Candida albicans* (Shanaida et al., 2021). EO isolated from *Lamiaceae* species in the appropriate amount and proportion are increasingly used in food preservation, but also in pharmaceutical and cosmetic products. Special attention should be paid to the protection of biological activities of EO during food processing because they are volatile and can easily oxidize (Beykiet et al., 2014). Although the antibacterial and antioxidant abilities of EOs are well documented, studies on environmental impact, especially light intensity, on the antibacterial activity of EOs are still limited. From the economic aspect, it is necessary to create adequate microclimatic conditions in the field for the production of medicinal plants with a high potential of their EOs against bacteria and fungi.

The present paper aimed to investigate the effect of light modification under shading conditions on the EOs composition of thyme, marjoram, lemon balm, mint, and basil and their antimicrobial activity against pathogenic microorganisms.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 PLANT MATERIAL AND GROWING CONDITIONS

The experiment was conducted during 2019-2020 in an experimental garden at the village Moravac in South Serbia (21°42' E, 43°30' N, altitude 159 m). *Thymus vulgaris* L. (thyme), *Origanum majorana* L. (marjoram), *Melissa officinalis* L. (lemon balm), *Mentha piperita* L. (mint), and *Ocimum basilicum* L. (sweet basil), were used to determine whether shading conditions (plants cover by color nets) could improve essential oils and antioxidant activity in plants.

The seeds were sown in the field with the task to achieve an optimal plant density of 50 plants/m². Treatment combinations were replicated three times with one shading treatment (pearl net with a shade index of 50%) and non-shaded control treatment in a split-plot design. In the second year, after establishing the plant's production, medicinal plants were harvested for essential oils extraction (main harvest in the middle of August).

2.2 CLEVENGER-HYDRODISTILLATION

Growing of medical plants, under colored shade nets and non-shaded as well as the process of production of EOs by hydrodistillation were performed as described Ilić et al. (2022) and Milenković et al. (2021). The content of essential oil is displayed in % (v/m), which conforms to mL/100 g of air-dried plant material.

2.3 GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS) AND GAS CHROMATOGRAPHY/FLAME IONIZATION DETECTION (GC/FID) ANALYSIS

The use of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and GC-flame ionization detection (GC-FID) for characterization of medical plants essential oils is described in our previous research (Milenković et al., 2021) following methods by Sparkman et al. (2011).

2.4 DPPH ASSAY

The ability of the essential oil to scavenge free DPPH radicals was determined using the DPPH assay. Absorption was measured at 517 nm immediately after adding the DPPH radical and after 20 minutes of incubation with the radical (see Stanojević et al., 2015; 2017).

2.5 ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Microorganisms. Seven microorganisms were selected to determine the antimicrobial activity of analyzed EOs: (six bacterial strains) *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), and *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) and (fungal strain) *Candida albicans* (ATCC 2091). Microorganisms are from the collection of the Laboratory for Microbiology, Faculty of Technology, Leskovac.

2.5.1 Disc-diffusion method

The agar discdiffusion method was used for testing the antimicrobial activity of EOs obtained (Kiehlbauch, 2000). All details about sterilization, prepared initial suspensions, inoculation, and incubation were expressed in our previous explorations (Ilić et al., 2021).

All experiments were carried out in three replications and the results were expressed as the mean value \pm standard deviation.

2.6 STATISTICAL METHODS

ANOVA was used to analyze the significance (TIBCO Software Inc. Palo Alto, CA, USA. 2020, version 14.0.015.). Duncan's multiple range test was used for the analysis of significance (with a level of 0.01) of differences between means. For explanatory data analysis, multivariate principal component analysis was used.

3 RESULTS

3.1 GROWING CONDITIONS

In open field conditions during the summer months (July and August) we record values of Photosynthetically active radiation (PAR) over the $2200 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ and solar radiation around $900 (\text{W m}^{-2})$. These parameters are quite high due to global warming and plants need some kind of protection against excessive radiation. One of the solutions is the application of shade nets. Net houses have the potential to create an appropriate microclimate that positively affects plants' productivity and quality. Compared to the light parameters, the temperature and relative humidity under the nets are less exposed to changes. Shading significantly affects solar radiation and PAR in relation to the unshading (open field) conditions. More intense reduction was observed in the afternoon, then in the morning, while the decrease in light intensity at noon was about 50% (Table 1).

Table 1. Influence of shading on growing environment (average day in July)

Time (h)	PAR* ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		Solar radiation (W m^{-2})		Temperature $^{\circ}\text{C}$		Relative Humidity %	
	Un shading	Shading Reduction %	Un shading	Shading	Un shading	Shading Reduct.%	Un shading	Shading Reduct.%
6:00	182.5	31.2	162.5	40.5	16.7	0.0	74.7	-4.1
9:00	1325.6	46.0	513.8	281.0	24.7	-0.4	71.8	0.0
12:00	2242.2	49.1	874.5	459.5	31.4	-2.2	47.3	-2.1
15:00	1684.1	51.9	790.5	351.0	31.5	-2.4	48.2	-1.2
18:00	672.0	53.9	375.5	90.9	28.3	-1.0	50.4	-0.2

*PAR.-Photosynthetically active radiation

3.2 ESSENTIAL OILS (EOS) YIELD

The yield of EOs of thyme was 2.57 mL/100g of plant material (p.m) from shaded and 2.32 mL/100g of unshaded plant material. Shaded marjoram (1.68 mL/100g p.m.), lemon balm (0.22 mL /100g p.m.), mint (2.23 mL/100g p.m.) and basil plants (1.32 mL/100g p.m.) showed a higher content of EO than unshaded plants (1.51 mL/100g p.m.: 0.18 mL/100g p. m.; 2.00

mL/100g p.m. and 1.12 mL/100g p.m. respectively), Tab 2. (Ilić et al., 2022; Milenković et al., 2021).

Table 2. Yield of essential oil and EC₅₀ values of thyme, marjoram, lemon balm, mint and basil

Plant species	Shading	Essential oil yield, mL/100 g p.m.	EC ₅₀ , mg mL ⁻¹ / 20 min incubation
Thyme	Unshaded	2.32 ^b ± 0.03	0.944 ^a ± 0.001
	Shaded	2.57 ^a ± 0.09	0.852 ^a ± 0.005
Marjoram	Unshaded	1.51 ^d ± 0.03	54.012 ^c ± 1.051
	Shaded	1.68 ^c ± 0.03	19.972 ^d ± 0.199
Lemon balm	Unshaded	0.18 ^f ± 0.003	7.957 ^c ± 0.092
	Shaded	0.22 ^e ± 0.01	7.706 ^b ± 0.091
Mint	Unshaded	2.00 ^b ± 0.03	13.081 ^e ± 0.103
	Shaded	2.23 ^a ± 0.01	11.701 ^d ± 0.098
Basil	Unshaded	1.12 ^d ± 0.01	0.762 ^a ± 0.008
	Shaded	1.32 ^c ± 0.01	0.682 ^a ± 0.002
ANOVA (p values)			
Plant species		0.00000	0.00000
Shading		0.00000	0.00000
Plan species · shading		0.00518	0.00000

3.3 ESSENTIAL OILS COMPOSITION

The antimicrobial activity of EOs mainly depends on the chemical composition. In this research the main components of the thyme essential oil are thymol (8.05-9.35 mg/mL); γ -terpinene (3.49-4.04%); p-cymene (2.80-3.60%) and caryophyllene oxide (1.54-2.15%). The majority of EO compounds in the marjoram cultivated in unshaded and shaded conditions were terpinene 4-ol (7.44-7.63%), γ -terpinene (2.82-2.86%), and linalool (2.04-2.65%). The main components of the lemon balm EO are geranial (6.84-7.78%); neral (3.02-3.52%), piperitenone oxide (1.67-5.36%), and caryophyllene oxide (1.54-2.15%). Shaded plants contained a higher content of geranial and neral compared to unshaded plants. The major components identified in mint EO are piperitenone oxide, 1,8-cineole, and myrcene. Accumulation of piperitenone oxide (14.0%), caryophyllene oxide (2.27%) and myrcene (0.91%) was higher in unshaded (control plants) than in shaded plants (12.0%, 1.32% and 0.78%, respectively). Basil EO contained various chemical compounds. The majority of the compounds in the oil were linalool (9.06-10.2%), 1,8-cineole (2.06-1.26%), α -trans-bergamotene (1.21-1.47%), epi- α -cadinol (0.93-1.17%) and eugenol (0.83-1.20%). Shaded plants obtained higher linalool and α -trans-bergamotene yield (Tab. 3) (Ilić et al., 2022; Milenković et al., 2021).

Table 3. Contents of the most common components of medicinal plants depending on the light modification

Method of production		Components %		
Plant species				
Thyme				
	Thymol	γ -Terpinene	p-Cymene	
unshade	8.05	3.49	2.80	
shade	9.35	4.04	3.60	
Marjoram				
	Terpinen-4-ol	Linalool	γ -Terpinene	
unshade	7.44	2.04	2.82	
shade	7.63	2.65	2.86	
Lemon balm				
	Geranial (E-citral)	Piperitenone oxide	Caryophyllene oxide	
unshade	6.84	5.36	2.15	
shade	7.78	1.67	1.54	
Mint				
	Piperitenone oxide	1,8-Cineole	Myrcene	
unshade	14.0	2.27	0.91	
shade	12.0	1.32	0.78	
Basil				
	Linalool	1,8-Cineole	α -trans-Bergamotene	
unshade	9.06	2.06	1.21	
shade	10.20	1.26	1.47	

3.4 ANTIOXIDANT ACTIVITY

All medicinal plants covered by shade nets showed higher antioxidant activity than unshaded – control plants. Based on the results given in Table 2. the highest antioxidant activity was observed in basil and thyme EOs from plants covered by nets. The EC_{50} values (efficient concentration of oil) decreased in the following order (the smaller the EC_{50} value, the better the antioxidant): shaded basil (0.682) > shaded thyme (0.852) > shaded lemon balm (7.706) shaded mint (11.701) > shaded marjoram (19.972) (Milenković et al., 2021).

3.5 ANTIMICROBIAL ACTIVITY

The obtained results provide evidence that all EOs from Lamiaceae medicinal plants of Serbia exhibit efficacy against analyzed pathogenic microorganisms. Our results revealed that EOs from *Thymus vulgaris* L., proved most active against all isolates with inhibitory zone range between 22 mm and 56 mm. All five EOs (*Thymus vulgaris* L., *Origanum majorana* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., and *Ocimum basilicum* L.) showed significant anti-candida activity (Table 4).

Table 4. Antimicrobial activity (inhibition zone, mm) of essential oils from shading and nonshading medicinal plants

Microorganisms	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	<i>Candida albicans</i> ATCC 2091
Medical plants	Inhibition zone (mm ± SD)						
A ¹ thyme	36.67±1.53	n.z.	24.00±1.73	35.67±2.08	42.33±0.58	54.67±1.15	56.00±0.00
A ² thyme	37.67±1.15	n.z.	22.00±1.00	36.67±0.58	42.00±1.00	46.00±3.46	54.00±2.00
B ¹ marjoram	25.67±0.58	20.00±1.00	23.67±1.53	28.67±0.58	39.33±1.15	24.67±1.15	29.33±1.15
B ² marjoram	33.67±1.15	18.67±0.58	30.67±0.58	29.00±1.00	35.33±3.05	30.67±3.05	23.00±1.73
D ² lemon balm	11.33±0.58	n.z.	11.67±0.58	20.33±0.58	37.33±1.15	/	/
E ¹ mint	12.00±1.00	n.z.	14.33±0.58	15.33±0.58	17.00±1.00	12±0.00	45.67±0.58
E ² mint	n.z.	n.z.	14.33±1.15	16.00±1.00	21.00±1.00	n.z.	38.67±1.15
F ¹ basil	n.z.	n.z.	12.33±0.58	16.33±0.58	36.00±1.00	12.00±0.00	26.67±3.05
F ² basil	18.67±0.58	n.z.	12.33±0.58	14.33±0.58	25.33±0.58	21.33±1.15	34.67±3.05

¹-Shading plants

²-Unshading plants

n.z. –no zone

/ - not treated

The microbial inhibition zone of thyme EO was the largest in the case of *C. albicans*. Marjoram exhibits the most expressed inhibition in the case of *P. aeruginosa*. These two plants exhibit higher inhibition effects in comparison to mint and lemon balm for all other microorganisms included in this investigation (Table4). Inhibition zone was dependent primarily on medicinal plants and the influence of shading was less expressed.

3.6 PCA ANALYSIS

The differentiation based on the first principal component (PC1), explaining 65.14% of total variability, points out that EOs from marjoram and thyme shaded plants exhibit higher inhibition effects in comparison to mint and lemon balm for all other microorganisms included in this investigation. Thyme EO has a higher antimicrobial potential than basil.

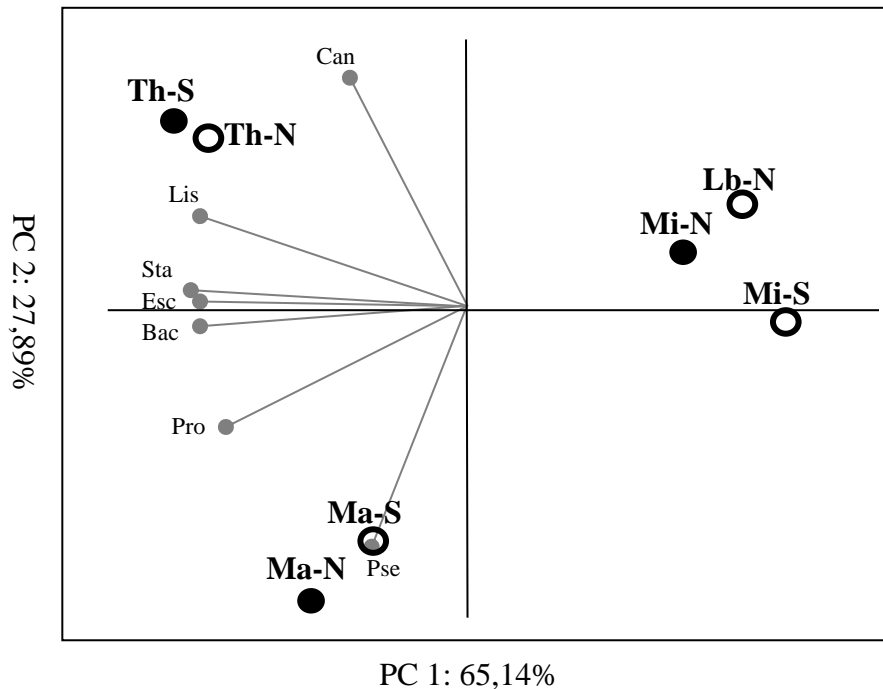


Figure 1: Bi-plot of principal component analysis of antimicrobial potential of essential oils from selected medicinal plants

Esc-*Escherichia coli*; Pse-*Pseudomonas aeruginosa*; Pro-*Proteus vulgaris*; Bac-*Bacillus subtilis*; Sta-*Staphylococcus aureus*; Lis-*Listeria monocytogenes*; Can-*Candida albicans*; **Th-S** (thyme-shaded), **Th-N** (thyme-nonshaded); **Lb-N** (lemon balm-nonshading), **Mi-N** (mint-nonshaded), **Mi-S** (mint-shaded); **Ma-N** (marjoram-nonshaded), **Ma-S** (marjoram-shaded)

4 DISCUSSION

Method of production (open field or protected area) and environmental (light conditions and solar radiation) greatly affect the quality and composition of the medicinal plants. Among all plants, the lowest accumulation of essential oils was observed in the unshaded lemon balm (0.18 mL/100g p.m.) while the highest oil accumulation was achieved in shaded thyme plants (2.57 mL/100g p.m.). In our previous studies, we have observed significantly different yields of the EOs between shaded and unshaded plants. Thus, the lowest accumulation of EOs in sweet basil was observed in the unshaded, control plants (1.02 mL/100g p.m.) while the highest oil yield was achieved in plants from red shade nets (3.23 mL/100g p.m.), Milenković et al., 2019. The spectral changes provided by colored shade nets during medicinal plants production, similar to our research, resulted in a higher yield of EO content in sweet basil (Ilić et al., 2021), lemon balm (Oliveira et al., 2016), and sage (Li et al., 1996). Synthesis and accumulation of secondary metabolites from medicinal plants largely depend on the intensity of light as a result of applying shade nets. The chemical components most commonly found as the main ingredients in EOs, among plants presented in Table 3, include piperitenone oxide (thyme), terpinen-4-ol (marjoram), geranial (E-citral) lemon balm, piperitenone oxide (mint), and linalool (basil). Oxygen-containing monoterpenes seem particularly important antifungal component in the plants from Lamiaceae family. Its activity and derivatives, such as caryophyllene oxide are well known. Essential oils containing high concentrations of phenolic monoterpenes (e.g., p-cymene, γ -terpinene, 1,8-cineole, myrcene) with great antifungal activities. Important antifungal chemicals often presented in Lamiaceae are also other monoterpenes as alcohol linalool and

cyclic 1,8-cineole, limonene, pinenes, and terpinenes. Results from Table 3 show that all of these antifungal substances are common in the presented plants. The oil composition was close to the Mediterranean country such as Tunisia (Sellami et al., 2009), Spain (Ibáñez and Blázquez, 2017), and Greece (Komaitis et al., 1992).

Among five plant species investigated in this work, basil and thyme plants are characterized by the highest level of antioxidant activity and could be used as natural antioxidants for food preservation. These plants species tolerate shading well, and nets provide greater presence and biosynthesis of polyphenolic compounds known to exhibit antioxidant properties (Milenković et al., 2019). The main compounds of essential oil in thyme were thymol, with the content of 25%-50% from Serbia or 68.1% from Spain (Gavaric et al., 2015; Rota et al., 2008).

The compositions of the EOs in lemon balm from our research were geranial (E-citral), piperitenone oxide, and caryophyllene oxide. EOs of lemon balm from Algeria was dominated by neral, geranial, and citronellal. This composition was qualitatively similar to the oils from Serbia (Mimica-Dukic et al., 2004), Slovakia (Holla et al., 1997), Egypt (Shabby et al., 1995), etc.

Solar irradiance affected the concentration of mint volatile compounds as well as their composition. The main components of the mint oil from our research were piperitenone oxide. The results of EOs from mint plants in the same region (Bosnia and Hercegovina) show the highest content of menthol 43.66%, menthone 20.02% and iso-menthone 7.73% (Marjanović-Balaban et al., 2018) or EOs of mint from Serbia with the content of menthol (37.04%), Soković et al., (2009). Variations in EO content and certain components in medical plants are generally genetic (ecotypes, genotypes, lines, and varieties), but they may be influenced also by environmental and cultivation conditions, growing techniques and practices, phenological stages, seasonal variations, etc. (Moghaddam and Mehdizadeh, 2017).

Essential oils from Lamiaceae plants (*Thymus vulgaris* L., *Origanum majorana* L., *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Origanum vulgare*, and *Ocimum basilicum* L.) are natural products, against many different types of microbes (Avetisyan et al., 2017), including food-borne pathogens (Kozłowska et al., 2015).

EOs significantly inhibits the growth of microbes by disrupting the cell membranes and their permeability, leads to the leakage of ions, and coagulation of cell contents leading to cell death (Dorman and Deans, 2000). In some of the previous research, species from Lamiaceae family exhibited the strongest antifungal activity with inhibition zones ranging from 39 mm to 45 mm compared with standard antifungal molecules (Ketoconazole, Fluconazole, and Amphotericin 100) which range from 0 mm to 14 mm only (Helal et al., 2019).

Gram-positive bacteria are more susceptible to growth inhibition by plant EOs (because of the single membrane structure) than Gram-negative bacteria due to the great complexity of the double membrane-containing cell envelope (El Abed et al., 2014). In our investigation the most expressed inhibition effect was noticed in case of Gram-positive (*B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*), Gram-negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*) bacterium and one fungus (*C. albicans*).

E. coli is considered to be a dominant bacterium species in the digestive tract. Fecal contamination of water and food is most often caused by the presence of this bacterium. Thyme (36-37 mm) and marjoram (25-33 mm) EOs showed very strong antibacterial activity against *E. coli*. EOs from mint and basil had no antifungal activity against *E. coli*. Results from our study do not show an increase in the antifungal efficacy against *E. coli* of EOs obtained from shaded plants. *P. aeruginosa* an aerobic Gram-negative bacterium is opportunistic pathogen that rarely causes disease in healthy persons. EOs from all plants has no antibacterial effects against this bacterium, except EO from the marjoram plant. The essential oil of shaded marjoram (39 mm), lemon balm (37 mm), and basil (36 mm) had the strongest inhibition activity against *B. subtilis* than EOs from unshaded plants (35 mm, 17 mm, 25 mm, respectively).

L. monocytogenes is a Gram-positive facultative anaerobic pathogenic bacteria species that leads to listeriosis disease after consumption of contaminated food. EO from shade thyme exhibits the highest antibacterial effects on this bacterium (*L. monocytogenes*) than EOs from other plants. Thyme EOs derived from shaded plants is more effective and has the better antimicrobial ability (54 mm) than EOs from thyme unshaded plants (46 mm).

S. aureus is a gram-positive bacterium that is among many harmful effects to humans. EOs from all plants involved in this research manifests good antimicrobial potential. Method of plant production (shaded or unshaded conditions) had no effects on EOs antimicrobial potential against *S. aureus*.

EOs from all medicinal plants showed strong antifungal activity against *C. albicans*. EOs from plants grown under nets showed the strongest antifungal activity (thyme 56 mm, mint 45 mm; marjoram 29 mm) compared to EOs from plants cultivated in open field (thyme 54 mm; mint 38 mm; and marjoram 23 mm, respectively).

The antibacterial activity of the most widely used EOs from *Thymus* species, which belong to the Lamiaceae family, was also demonstrated against several microorganisms such as *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *K. pneumoniae*, and *L. Monocytogenes* (Golkar et al., 2020; Goudjil et al., 2020). The EOs of *Thymus pulegioides* demonstrated the strongest antimicrobial effects on typical and clinical strains of *Staphylococcus aureus* with the inhibition zones in the range of 24.0-31.0 mm (Shanaida et al., 2021). The antibacterial activities of EOs from *Thymus vulgaris* in a study performed by Pesavento et al. (2015), was found to have the highest antibacterial activity against *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. enteritidis* among EOs from other Lamiaceae species.

Among the all tested natural antimicrobials, the essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum majorana* as well as their components, thymol, and carvacrol, were the most promising. In combination of various plant-derived antimicrobials probably due to synergistic effects should improve both the spectrum of activity and the level of inhibition.

Similarly, EOs from the Turkish *Thymus vulgaris* with thymol (55.35%) and *p*-cymene (11.2%) as the major components demonstrated high inhibition zones against *Bacillus cereus*,

Staphylococcus epidermidis, and *Staphylococcus aureus* (Gedikoğlu et al., 2019). The EOs of *Thymus vulgaris* from Poland with thymol, *p*-cymene, and γ -terpinene as main compounds, show the strong bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* (Kot et al., 2019). The EOs of thyme from India are characterized by the great anti-candidal potential (Jafri and Ahmad, 2020).

Essential oil of *Thymus vulgaris* L. as natural preservative with antilisterial activity was shown to be very effective replacement for nitrates in meat products (Salvaneschi et al., 2021). In the literature, the results of experiments showed that the oil from the *Thymus* exhibited extremely strong activity against all of the clinical strains. Thyme EO has been used to treat wound infections as an antibacterial agent in oral hygiene (Nikolic et al., 2014). There is a relationship between the high activity of thymol oil and the presence of phenol components to the bacteria's (Sienkiewicz et al., 2011; Rota et al., 2008).

Peppermint (*Mentha piperita* L.) EO, which was mainly characterized by menthol and menthone, showed significant levels of antibacterial activity against *S. aureus*, *Micrococcus flavus*, *B. subtilis*, *S. enteritidis*, *Staphylococcus epidermidis* (Kot et al., 2019) and *E. coli* (Gishen et al., 2020). Good inhibition zones against *C. albicans* were also obtained from *Mentha piperita* oils (38.0-45.0 mm). Thyme (16.0-30.0 mm) showed much larger inhibition zones than other oils and streptomycin (0-20.0 mm), Sokovic et al. (2009).

The mode of action of EO goes in the direction of disrupting the permeability of cell membranes caused by changes in its barrier properties that are related to coagulation of the cytoplasm and damage to lipids and proteins and can be lethal (Viuda-Martos et al., 2011). *C. albicans* are very often present in hospital-acquired infections (Haque et al., 2018), while *B. cereus* are food born microorganisms (Tewari and Abdullah, 2015). The application of EOs as natural disinfectants in medical facilities or as agents for suppression of microbial activity in food, should be seriously considered. EOs from medicinal plants could be used as natural ingredient in pharmaceutical products for the treatment against infection by *C. albicans* (Nobile and Johnson, 2015). Because *C. albicans* very often present microorganism that causes urinary infection, it is recommended that the obtained EO be used not only in prevention but also in therapy (Liu et al., 2017). Natural antifungal agents could be more effective than commercial antifungal preparations which could cause harmful effects (Mazzariol et al., 2017).

Good phytomedicinal potential with the best antimicrobial activity has shown basil essential oil (with the inhibition zone of 40.00 mm) on coagulase-positive *Staphylococcus* (Stanojevic et al., 2017). In research from Ilić et al. (2021) basil essential oils from a plant grown under blue nets are characterized with higher eugenol content and show superior antimicrobial activity against *S. aureus*, *E. coli*, and *P. Vulgaris* and could be a good natural antimicrobial agent. The differences in the antibacterial effects of plant extracts may be due to the differences in their phytochemical compositions. According to literature, the mode of action of EOs against a pathogen or non-pathogen bacteria cannot be attributed to one specific mechanism.

5 CONCLUSIONS

All EOs revealed antibacterial properties, but the degree of bacterial growth inhibition induced by plant materials was shown to be related to bacterial strain and herbal sources. The EOs have antimicrobial activity against a wide range of microorganisms. The EOs of thyme (*Thymus vulgaris* L.) are the most active in terms of antimicrobial and antifungal activity. The EOs of thyme and mint showed significant activity against *C. albicans*. The zone of inhibition of microorganisms in thyme and marjoram is larger concerning other plants for all microorganisms included in this study. Due to the instability of EOs under environmental stresses such as temperature and light, novel technologies (shade nets) might be helpful to protect plants and improve their characteristics and antimicrobial activities. The present study suggested the possible use of EOs as an alternative to synthetic preservatives and chemical additives in food and pharmaceutical products.

6 REFERENCES

- Andrews J.M. 2005. BSAC standardized disc susceptibility testing method. *J. Antimicrob. Chemother.* 56: 60-76.
- Avetisyan A., Markosian A., Petrosyan M., Naira Sahakyan, Babayan A., Aloyan S., Trchounian A. 2017. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. *BMC Compl. Alter. Med.* 17(1): 60.
- Badee A.Z.M., Moawad R.K., El Noketi M.M., Gouda M.M. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *J. App. Sci. Res.* 9(2): 1193-1201.
- Beyki M., Zhavah S., Khalili S.T., Rahmani-Cherati T., Abollahi A., Bayat M., Tabatabaei M., Mohsenifar A. 2014. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Ind. Crops Prod.* 54: 310-319.
- Carrasco H., Raimondi M., Svetaz L., Liberto M.D., Rodriguez M.V., Espinoza L., Madrid A., Zacchino S. 2012. Antifungal activity of eugenol analogues. Influence of different substituents and studies on mechanism of action. *Molecules.* 17:1002-1024.
- Desam N.R., Al-Rajab A.J., Sharma M., Mylabathula M.M., Gowkanapalli R.R., Albratty M. 2019. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha × Piperita* L. (peppermint) essential oils. *J. King Saud Univ. Sci.* 31: 528-533.
- El Abed N., Kaabi B., Smaali M.I., Chabbouh M., Habibi K., Mejri M., Mazouki M.N., Ahmed S.B.H. 2014. Chemical composition and antibacterial activities of *Thymus capitata* essential oil with its preservative effects against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. *Evid-Bas Comp Altern. Med.* ID 152487.
- Gavaric N., Mozina S.S., Kladar N., Bozin B. 2015. Chemical profile, antioxidant and antibacterial activity of Thyme and Oregano essential oils, Thymol and Carvacrol and their possible synergism. *J. Essen. Oil Bearing Plants.* 18(4): 1013-1021.
- Gedikoğlu A., Sökmen M., Çivit A. 2019. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Sci. Nutr.* 7(5): 1704-1714.
- Gishen N.Z., Taddese S., Zenebe T., Dires K., Mengiste B., Shenkute D., Tesema A., Shiferaw Y., Luelekal E. 2020. In vitro antimicrobial activity of six Ethiopian medicinal plants against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Eur. J. Integr. Med.* 36: 101121.
- Golkar P., Mosavat N., Jalali S.A.H. 2010. Essential oils, chemical constituents, antioxidant, antibacterial and in vitro cytotoxic activity of different *Thymus species* and *Zataria multiflora* collected from Iran. *South Afr. J. Bot.* 130: 250-258.
- Goudjil M.B., Zighmi S., Hamada D., Mahcene Z., Bencheikh S.E., Ladjel S. 2020. Biological activities of essential oils extracted from *Thymus capitatus* (Lamiaceae). *South Afr. J. Bot.* 128: 274-282.

- Haque M., Sartelli M., McKimm J., Abu Bakar M. 2018. Health care-associated infections - an overview. *Inf. Drug Res.* 11: 2321-2333.
- Helal I.M., El-Bessoumy A., Al-Bataineh E., Joseph M.R.P., Rajagopalan P., Chandramoorthy H.C., Ben Hadj Ahmed S. 2019. Antimicrobial efficiency of essential oils from traditional medicinal plants of Asir Region, Saudi Arabia, over drug resistant isolates. *Biomed Res Int.* 8928306
- Holla M., Svajdlenka E., Tekel J., Vaverkova S., Havranek E. 1997. Composition of the essential oil from *Melissa officinalis* L. cultivated in Slovak Republic. *J Essen Oil Res.* 9: 481-484.
- Ibáñez D.M., Blázquez A.M. 2017. Herbicidal value of essential oils from oregano-like flavour species. *Food Agric. Immunol.* 28(6): 1168-1180.
- Ilić S.Z., Milenković L., Šunić Lj., Tmušić N., Mastilović J., Kevrešan Ž., Stanojević Lj., Danilović B., Stanojević J. 2021. Efficiency of basil essential oil antimicrobial agents under different shading treatments and harvest times. *Agronomy MDPI.* 11: 1574.
- Ilić S.Z., Milenković L., Tmušić N., Stanojević Lj., Cvetković D. 2022. Essential oils content, composition and antioxidant activity of lemon balm, mint and sweet basil from Serbia. *LWT Food Sci Technol.* 153: 112210.
- Jafri H., Ahmad I. 2020. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *J Med Mycol.* 30 (1): 100911.
- Kalemba D., Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem.* 10(10): 813-829.
- Kiehlbauch J.A., Hannett G.E., Salfinger M., Archinal W., Monserrat C., Carlin C. 2000. Use of the national committee for clinical laboratory standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York State Laboratories. *J. Clin Microb.* 38(9): 3341-3348.
- Komaitis M.E., Ifanti-Papatragianni N., Melissari-Panagiotou E. 1992. Composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.). *Food Chem.* 45(2): 117-118.
- Kot B., Wierzchowska K., Piechota M., Czerniewicz P., Chrzanowski G. 2019. Antimicrobial activity of five essential oils from Lamiaceae against multidrug resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat. Prod. Res.* 33(24): 3587-359.
- Kozłowska M., Laudy A.E., Przybył J., Ziarno M., Majewska E. 2015. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. *Acta Pol Pharm.* 72(4): 757-67. PMID: 26647633.
- Li Y., Craker L.E., Potter T. 1996. Effect of light level on the essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). *Acta Hort.* 426: 419-426.
- Liu X., Ma Z., Zhang J., Yang L. 2017. Antifungal compounds against *Candida* infections from traditional Chinese medicine. *Bio Med Res. Internat.* 4614183.
- Marjanović-Balaban Ž., Stanojević Lj., Kalaba V., Stanojević J., Cvetković D., Cakić M., Gojković V. 2018. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Menthae piperitae* L. *Quality of Life.* 9(1-2): 5-12.
- Mazzariol A., Bazaj A., Cornaglia G. 2017. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *J Chemoth.* 29(1): 2-9.
- Milenković L., Stanojević J., Cvetković D., Stanojević L., Lalević D., Šunić L., Fallik E., Ilić S.Z. (2019). New technology in basil production with high essential oil yield and quality. *Ind. Crops Prod.* 140: 111718.
- Milenković L., Ilić S.Z., Šunić Lj., Tmušić N., Stanojević Lj., Cvetković D. 2021. Modification of light intensity influence essential oils content, composition and antioxidant activity of thyme, marjoram and oregano. *Saudi J Biol Sci.* 28: 6532-6543.
- Mimica-Dukic N., Bozin B., Sokovic M., Simin N. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J Agric Food Chem.* 52(9): 2485-2489.
- Moghaddam M., Mehdizadeh L. 2017. Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. *Handbook of Food Bioengineering. Soft Chemistry and Food Fermentation.* Eds: Grumezescu, A M and Holban, A. M. In: Academic Press, 379-419.

- Murillo-Amador B., Nieto-Garibay A., López-Aguilar R., Troyo-Diéguez E., Rueda Puente E.O., Flores-Hernández A., Ruiz-Espinoza F.H. 2013. Physiological, morphometric characteristics and yield of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. exposed to open-field and shade-enclosure. *Ind. Crop. Prod.* 49: 659-667.
- Nobile C.J., Johnson A.D. 2015. *Candida albicans* biofilms and human disease. *Ann. Rev. Microbiol.* 69: 71-92.
- Oliveira G.C., Vieira W.L., Bertolli S.C., Pacheco A.C. 2016. Photosynthetic behavior, growth and essential oil production of *Melissa officinalis* L. cultivated under colored shade nets. *Chilean J. Agric Res.* 76: 123-128.
- Pandey A.K., Kumar P., Singh P., Tripathi N.N., Bajpai V.K. 2017. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Front. Microbiol.* 7: 2161
- Piras A., Gonçalves M.J., Alves J., Falconieri D., Porcedda S., Maxia A., Salgueiro L. 2018. *Ocimum tenuiflorum* L. and *Ocimum basilicum* L., two spices of Lamiaceae family with bioactive essential oils. *Ind. Crops Prod.* 113: 89-97.
- Pesavento G., Calónico C., Bilia A.R., Barnabei M., Calesini F., Addona R., Mencarelli L., Carmagnini L., Di Martino M.C., Nostro A.L. 2015. Antibacterial activity of oregano, rosmarinus and thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control.* 54: 188-189.
- Rota M.C., Herrera A., Martínez R.M., Sotomayor J.A., Jordán M.J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control.* 19: 681-687.
- Shabby A.S., El-Gengaihi S., Khattab M. 1995. Oil of *Melissa officinalis* L. as affected by storage and herb drying. *J Essen Oil Res.* 7: 667-669.
- Shanaida M., Hudz N., Białon M., Kryvtsova M., Svydenko L., Filipiska A., Wiczorek P. 2021. Chromatographic profiles and antimicrobial activity of the essential oils obtained from some species and cultivars of the *Menthae tribe* (Lamiaceae). *Saudi J Biol Sci.* 28: 497 6145-6152.
- Sienkiewicz M., Lysakowska M., Cieciewicz J., Denys P., Kowalczyk E. 2011. Antibacterial activity of thyme and lavender essential oils. *Med Chem.* 7: 674- 689.
- Sellami I.H., Maamouri E., Chahed T., Wannas W.A., Kchouk M.E., Marzouk B. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Ind. Crops Prod.* 30: 395-402.
- Soković M.D., Vukojević J., Marin P.D., Brkić D.D., Vajs V., Van Griensven L.J.L.D. 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules.* 14: 238-249.
- Soković M., Glamočlija J., Marin D., Brkić D., van Griensven L.J.L.D. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules.* 15: 7532-7546
- Sparkman D.O., Penton Z.E., Fulton K.G. 2011. Gas chromatography and mass spectrometry: a practical guide, 2nd Eds: Elsevier Inc., Oxford, USA
- Stanojević J.S., Stanojević L.P., Cvetković D.J., Danilović B.R. 2015. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of the turmeric essential oil (*Curcuma longa* L.). *Adv. Technol.* 4(2):19-25.
- Stanojevic Lj., Marjanovic-Balaban Z., Kalaba V., Stanojevic J., Cvetkovic D., Cakic M. 2017. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *J Essen Oil Bearing Plants.* 20(6): 1557-1569.
- Tewari A., Abdullah S. 2015. *Bacillus cereus* food poisoning: international and Indian perspective. *J Food Sci Technol.* 52(5): 2500-2511.
- Tmušić N., Ilić Z.S., Milenković L., Šunić L., Lalević D., Kevrešan Ž., Mastilović J., Stanojević L., Cvetković D. 2021. Shading of medical plants affects the phytochemical quality of herbal extracts. *Horticulturae.* 7: 437.
- Tzortzakis N.G. 2007a. Antifungal activity of the essential oils against green mould (*Penicillium digitatum*). *AgroThesis.* 5: 19-25.
- Tzortzakis N.G. 2007b. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 8: 111-116.

Viuda-Martos M., Mohamadyb M.A., Fernández-López J., Abd El-Razik K.A., Omer E.A., Pérez-Alvarez J.A., Sendra E. 2011. In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*. 22: 1715-1722.

Vermani K., Garg S. 2002. Herbal medicine for sexually transmitted diseases and AIDS. *J. Ethnopharmacol.* 80: 49-66.

PRIDOBIVANJE IN ZAŠČITA FUNKCIONALNIH SESTAVIN IN FUNKCIONALNIH MATERIALOV IZ ŽIVILSKIH STRANSKIH PROIZVODOV IN NEUŽITNIH DELOV ODPADNE HRANE

Ilja Gasan OSOJNIK ČRNIVEC¹, Mihaela SKRT², Mija SEŽUN³ in Nataša POKLAR ULRIH⁴

Povzetek: V Sloveniji po podatkih SURS-a zavržemo vsak šesti obrok. V letu 2020 smo tako ustvarili okrog 144.000 ton odpadne hrane, pri čemer njene letne količine naraščajo za 3 % od leta 2013. Polovica evidentirane odpadne hrane izvira iz gospodinjstev, tretjina iz gostinstva in strežbe hrane, desetina iz distribucije ali trgovine z živili in dodatna slaba desetina iz proizvodnje in predelave hrane. V živilskopredelovalni industriji predstavljajo velike količine odpadne prevelik strošek, zato so s tega vidika že v osnovi proizvodni procesi optimizirani. Izzivi za nadaljnje zmanjševanje odpadnih tokov pa predstavljajo stranski proizvodi ter ločevanje in uporaba nastalih neužitnih delov hrane med procesiranjem. Pri razvoju ustreznih rešitev je smotno upoštevati načela Direktive (EU) 2018/851, ki podaja prioritete načine uporabe tovrstnih tokov (t.j. preden ti tokovi postanejo odpadek) v smeri: (i) preprečevanja presežkov hrane, (ii) uporabe presežkov hrane za prehrano ljudi, (iii) uporabe presežkov hrane za prehrano živali in (iv) uporabo presežkov hrane z drugimi načini, ki niso povezani s prehrano. V prispevku bomo prikazali stanje odpadne hrane v Sloveniji in Evropski uniji ter možnosti za njeno preprečevanje. Prav tako bomo na konkretnih primerih prikazali možnosti pridobivanja in izrabe bioaktivnih in vlakninskih komponent. Na primer, zunanji deli sadja in zelenjave ter drugi proizvodni ostanki pridelave rastlin pogosto vsebujejo znatne količine fenolnih snovi (flavonoidov, antocianov ipd.), kjer je smiselno izkoristiti njihovo antioksidativno delovanje (na primer, za podaljševanje obstojnosti živil in drugih izdelkov). V primerih, kadar pridobljene snovi niso dovolj dostopne, jih lahko dodatno zaščitimo in/ali integriramo v živilo z uporabo nano-/mikrokapsulacijskih postopkov. Hkrati so tovrstni tokovi pogosto tudi dober vir lignoceluloze ter zato primerni za preoblikovanje v embalažne materiale.

Gljučne besede: bioaktivne spojine, vlaknine, proizvodni ostanki, stranski proizvodi, odpadna hrana

RECOVERY AND PROTECTION OF FUNCTIONAL INGREDIENTS AND FUNCTIONAL MATERIALS FROM FOOD PROCESSING BY PRODUCTS AND INEDIBLE PARTS OF FOOD WASTE

Abstract: Every sixth meal is discarded in Slovenia, according to the national statistical data. In 2020, we generated around 144,000 tons of food waste. These amounts have been steadily increasing for 3% annually since 2013. Half of this food waste originates from households, a third from catering and food service, a tenth from food retail and another tenth from food production and processing. In the food processing industry, large amounts of food waste are not cost-effective. Therefore, food production processes are already optimized from this point of view. The challenges for further reduction of waste streams and food production optimisation lie in (i) by-products streams and (ii) separation and utilization of inedible parts of food. The development of appropriate solution should adhere to the principles of the waste hierarchy of food stated in the Directive (EU) 2018/851, which sets out priority uses (i.e. before these streams become waste) in the order of: (i) avoidance and prevention of surplus food accumulation, (ii) use of surplus food for human consumption, (iii) use of surplus food for animal consumption; and (iv) use of surplus food into added-value non-food/feed products. In this contribution, we will present the state of food waste in Slovenia and the European Union and the possibilities for its prevention. We will demonstrate

¹ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: gasan.osojnik@bf.uni-lj.si

² asist. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: mihaela.skrt@bf.uni-lj.si

³ dr., Inštitut za celulozo in papir, Bogišičeva 8, Ljubljana, e-mail: mija.sezun@icp-lj.si

⁴ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: natasa.poklar@bf.uni-lj.si

with concrete examples the possibilities of obtaining and using bioactive and fibrous components. For example, the external parts of fruits and vegetables and other production residues of plant production often contain significant amounts of phenolic substances (flavonoids, anthocyanins, etc.), where it makes good sense to utilize their antioxidant effects (for example, to prolong the shelf life of food and other products). In case the substances may not be sufficiently accessible, they can be additionally used and/or integrated into the food by nano-/microencapsulation procedures. In addition, they are often a rich source of lignocellulose and are therefore suitable for subsequent transformation into packaging materials.

Key words: bioactive compounds, fibres, production residues, by products, food waste

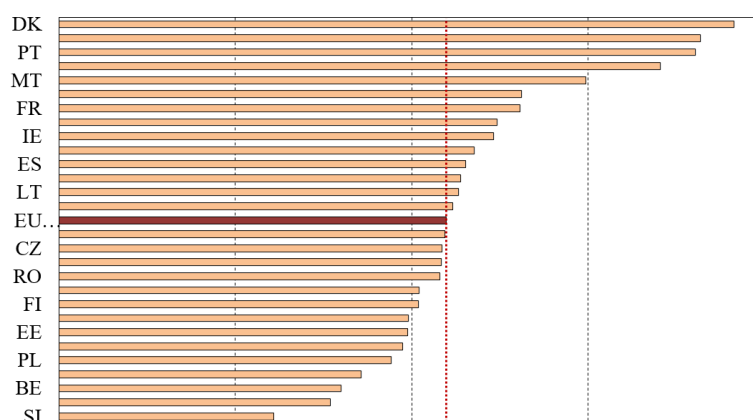
1 UVOD

Pridelana hrana, ki je ne zaužijemo, nosi odtis vseh predhodnih postopkov, od pridelave, predelave in dobave do prodaje in priprave, ter tako na eni strani zmanjšuje samo količino razpoložljive hrane, na drugi pa povzroča številne neugodne okoljske (poraba energije, podnebne spremembe, razpoložljivost virov), družbene (zdravje, enakopravnost) in gospodarske (upravljanje z viri, nestanovitnost cen, rast stroškov, poraba, ravnanje z odpadki in blagom, ciljni trgi) učinke.

Različne študije ocenjujejo, da na svetovnem nivoju ostaja 30 do celo 50 % vse proizvedene hrane nezaužite (EC, 2010; Gustavsson in sod., 2010). V Sloveniji po oceni Statističnega urada Republike Slovenije (SURS) zavržemo 16 % prodane hrane (Žitnik in Vidic, 2016). Odpadna hrana je neposredno povezana s preskrbo hrane, zagotavljanjem varnosti živil in varstvom okolja, zato je spopadanje s problematiko odpadne hrane naloga celotne družbe. Ukrepanje za preprečevanje in zmanjševanje odpadne hrane je aktualna tematika, ki se razvija v okviru številnih nacionalnih aktivnostih, kakor tudi na širši regionalni in globalni ravni. Te med drugim zajemajo: (i) nedavno nacionalno Strategijo za manj izgub hrane in odpadne hrane v verigi preskrbe s hrano: „Spoštujmo hrano, spoštujmo planet“, (ii) številne aktivnosti Platforme EU za preprečevanje izgub hrane in odpadne hrane (EC, 2022) in EU Strategija „od vil do vilic“, ter (iii) skupna prizadevanja za doseganje Ciljev trajnostnega razvoja (ang. *Sustainable Development Goals* - SDGs) Generalne skupščine Združenih narodov, zlasti SDG12.3 (prepolovitev globalnih količin odpadne hrane do leta 2030).

1.1 ODPADNA HRANA

Odpadna hrana so vsa surova ali obdelana živila in ostanki teh živil, ki se izgubijo pred pripravo hrane, med njo ali po njej in pri uživanju hrane, vključno s hrano, ki se odvrže med proizvodnjo, distribucijo, prodajo in izvajanjem storitev, povezanih s hrano, in v gospodinjstvih (Kalin in sod., 2021). Pri tem odpadna hrana zajema tako užitni kakor tudi neužitni del posameznega živila.



Odpadna hrana (kg/prebivalca)

Slika 1: Ocenjene nastale količine odpadne hrane v verigi preskrbe s hrano v distribuciji, maloprodaji, gostinstvu in strežbi hrane ter gospodinjstvih v letu 2019 v skupini držav EU-28 (Forbes in sod., 2021)

V državah Evropske unije po poročilu UNEP-a (Forbes in sod., 2021) letno nastane med 60 in 190 kg odpadne hrane na prebivalca (slika 1). Glede na to poročilo v Sloveniji, v primerjavi z ostalimi državami, nastane najmanj odpadne hrane. Pri neposredni primerjavi teh vrednosti moramo biti vsekakor previdni, saj nekatere države zajemajo podatke o odpadkih, ki lahko vsebujejo odpadno hrano, medtem ko podatek za Slovenijo zajema le odpadno hrano, ki je končala v sistemu za ravnanje z odpadki. Pred dokončno primerjavo bomo morali zato počakati na rezultate enotnega poročanja držav članic, ki bo po letu 2022 (EC, 2022).

Po podatkih Statističnega urada Republike Slovenije (SURs) smo v Sloveniji v letu 2020 povzročili preko 143.000 ton odpadne hrane (preglednica 1). Količina odpadne hrane letno narašča in se v obdobju med leti 2013 in 2021 povečuje, v poprečju za 3 % letno. Glede na oceno SURs-a, je bilo v letu 2020 v odpadni hrani 40 % užitnega dela, ki bi ga z ustrežno ozaveščenostjo potrošnikov in pravilnim odnosom do hrane lahko bistveno zmanjšali. Preostali del so predstavljale luščine, olupki, koščice ipd., kar sicer smatramo za neužitni del odpadne hrane.

Preglednica 1: Odpadna hrana po izvoru (v tonah) med leti 2013 in 2020 in sestava (odstotki) v letu 2020 v Sloveniji (Vir podatkov: Statistični urad Republike Slovenije, 03. 11. 2021)

Odpadna hrana po izvoru (tone)	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2020 %
Kmetijska pridelava in proizvodnja živil	7.950	9.516	10.001	10.726	10.485	10.839	12.118	10.850	▶ 7,6
Distribucija in trgovina	9.165	9.478	12.933	14.492	13.115	13.763	14.447	15.290	▶ 10,6
Gostinstvo in strežba hrane	38.313	41.348	44.824	43.899	40.568	42.071	44.388	42.666	▶ 29,7
Gospodinjstva	63.023	64.761	66.141	68.521	67.594	73.182	69.850	74.764	▶ 52,1
Skupaj (tone)	118.450	125.102	133.898	137.638	131.761	139.856	140.804	143.570	
Skupaj (kg/prebivalca)	57,5	60,7	64,9	66,7	63,8	67,6	67,4	68,4	

V letu 2020 je polovico odpadne hrane nastalo v gospodinjstvih, tretjina pa v gostinstvu in drugih dejavnostih, kjer se pripravlja in streže hrana. V distribuciji hrane in živilskih trgovinah je nastalo desetino odpadne hrane. Najmanjši delež je predstavljala odpadna hrana nastala v proizvodnji živil (7,6 %, kar pa je sicer tretjina vseh organskih odpadkov v predelavi živil (Osojnik Črnivec in sod., 2021a)), pri čemer ostanki organskega izvora, ki so se porabili za krmo živali, niso všteti. Prav tako v količino odpadne hrane niso všteti nekateri drugi tokovi, kot je na primer doma kompostirana odpadna hrana ter odpadne tekočine in odpadna hrana, ki preko kuhinjskih odtokov konča v kanalizacijskem omrežju.

Primerjava med leti 2019 in 2020 kaže na vpliv epidemije covid-19 na nastajanje odpadne hrane, na račun drugačnega poteka posameznih dejavnosti. Tako je v gospodinjstvih (+2,5 odstotne točke) in distribuciji ter trgovini s hrano (+1 o. t.) nastalo proporcionalno več odpadne hrane, v proizvodnji hrane (-1 o.t.) in gostinstvu ter drugih oblikah strežbe (-2 o.t.) pa manj. Prav tako se je manj odpadne hrane predelalo v bioplinarnah (s 50 % na 47 %), več pa v kompostarnah (z 27 % na 31 %).

V različnih segmentih verige preskrbe s hrano lahko predvidimo nastajanje različnih deležev

užitnega in neužitnega dela hrane v odpadni hrani, vendar se podatki o tovrstni podrobni sestavi ne beležijo. Kljub temu že sami celokupni podatki o količinah nastale odpadne hrane jasno nakazujejo, da spopadanje s problematiko odpadne hrane zahteva (i) strategije preprečevanja in zmanjševanja odpadne hrane (zlasti za užitni del), (ii) kakor tudi pristope krožnega in biogospodarstva (za del, ki ga ni mogoče uporabiti v prehrani).

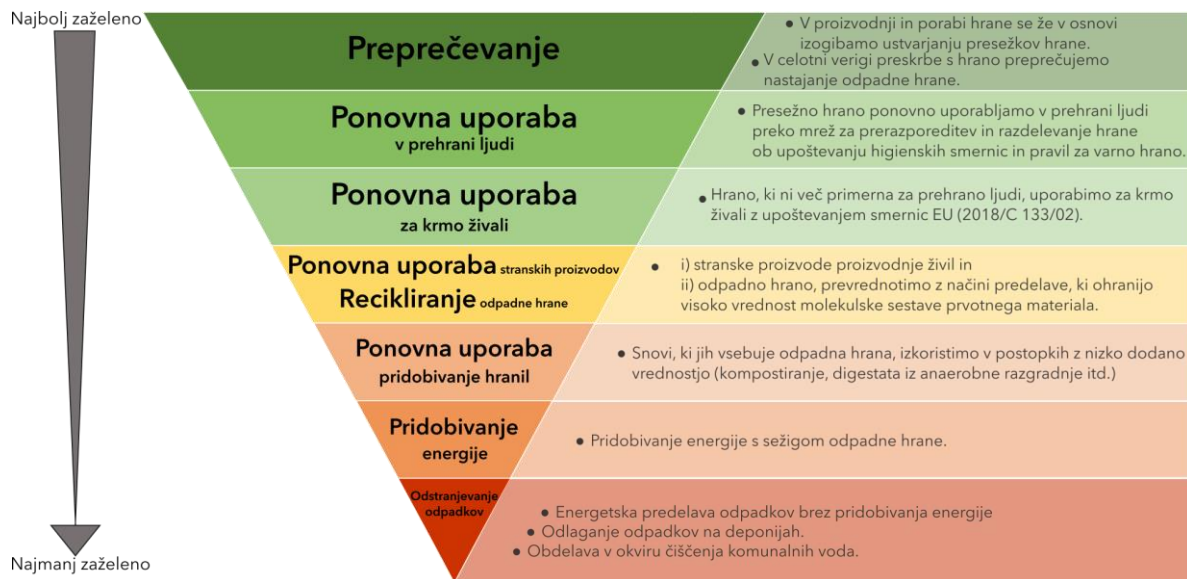
1.1.1 Preprečevanje in zmanjševanje količine odpadne hrane

Poglavitni vzrok nastajanja odpadne hrane je kopičenje presežkov hrane vzdolž verige preskrbe s hrano. Presežki hrane so neprodane količine hrane oziroma druge presežne količine (pogosto imenovane tudi kot »viški hrane«). Presežkom hrane se posvečajo številne smernice, saj z njihovim preprečevanjem in zmanjšanjem preprečimo nastajanje odpadne hrane (t.j. s pravočasno uporabo presežkov odpravimo količine hrane, ki bi jih sicer zavrgli po preteku roka uporabnosti).

Direktiva (EU) 2018/851 izpostavlja pomembno potrebo po učinkoviti izrabi tudi neužitnega dela hrane, ki nastaja med pridelavo/predelavo/pripravo/zaužitjem. Direktiva uvaja prioriteten načine preprečevanja in ravnanja z odpadno hrano (ang. *waste hierarchy*) v smeri:

1. Preprečevanja presežkov hrane.
2. Uporabe presežkov hrane za prehrano ljudi.
3. Uporabe presežkov hrane za prehrano živali.
4. Uporabe presežkov hrane z drugimi načini, ki niso povezani s prehrano.
5. Predpisanih načinov učinkovitega ravnanja z odpadki.

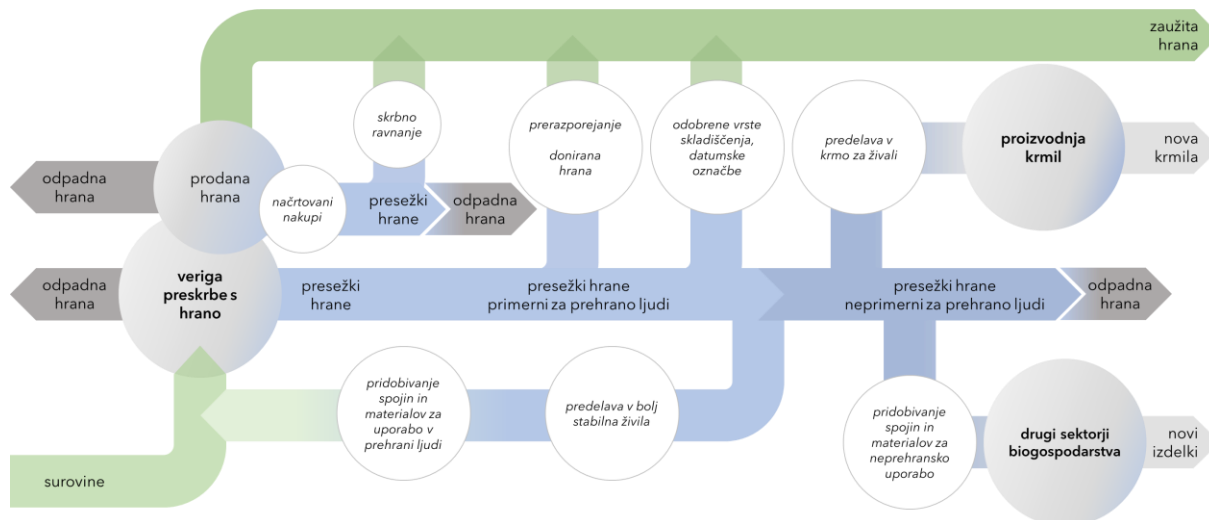
Prednostni vrstni red ravnanja z odpadno hrano prikazujemo kot obrnjeno piramido, saj je zaželeno, da bi največje količine presežkov hrane že dovolj zgodaj preprečili ali vsaj zmanjšali, kar so najbolj učinkoviti načini ravnanja. Slika 2 povzema prednostni vrstni red ravnanja z odpadno hrano po angleški različici Platforme EU za preprečevanje izgub hrane in odpadne hrane (Sanchez Lopez in sod., 2020; Osojnik Črnivec in sod., 2021a; EC, 2022). V slovenskem nacionalnem kontekstu bo hierarhija ravnanja z odpadki umeščena v novi Program ravnanja z odpadki in Program preprečevanja odpadkov Republike Slovenije (MOP).



Slika 2: Prednostni vrstni red ravnanja s presežno hrano, ostanki proizvodnje in stranskimi proizvodi ter odpadno hrano (povzeto po angleški različici Sanchez Lopez in sod., 2020; Osojnik Črnivec in sod., 2021a)

Piramida se med prednostnimi strategijami najprej osredotoča na preventivne ukrepe, sledijo poti ponovne uporabe presežne hrane, primerne za prehrano ljudi, ponovna uporaba hrane, ki ni več primerna za prehrano ljudi (kot krma za živali), recikliranje materiala v izdelke z visoko dodano vrednostjo (z ohranitvijo osnovne molekularne strukture – brez popolne razgradnje), recikliranje hranil in nenazadnje pridobivanje energije. Energetska predelava odpadkov brez pridobivanja energije in odlaganje odpadkov na odlagališčih sta najmanj zaželeni ukrepa ravnanja z odpadno hrano, ki sta primerna za interventne ukrepe in za tiste vrste odpadne hrane, ki so neizogibne in jih ni mogoče preprečiti ali uporabiti s predhodnimi postopki (Osojnik Črnivec in sod., 2021a).

Konec leta 2019 so bila v okviru EU platforme za preprečevanje izgub hrane in odpadne hrane pripravljena priporočila za delovanje na področju preprečevanja odpadne hrane, ki naslavljajo tako posamezne deležnike na vseh stopnjah v agroživilski preskrbovalni verigi kot tudi vse vključene deležnike iz javnega in zasebnih sektorjev (EU PFLFW, 2019). Glavni namen priporočil je omejiti nastajanje presežkov hrane na vseh stopnjah agroživilske preskrbne verige, od proizvodnje, predelave, distribucije do porabe. V primeru nastanka presežkov hrane predvidevajo ponovno uporabo, s katero bi zagotovili kar največjo vrednost virov hrane, skladno s hierarhijo ravnanja z odpadki. Na sliki 3 prikazujemo nekaj primerov ravnanja, ki so skladno s prednostnim vrstnim redom namenjeni preprečevanju nastajanja oziroma zmanjševanju in uporabi presežkov hrane, še preden ti postanejo odpadki.

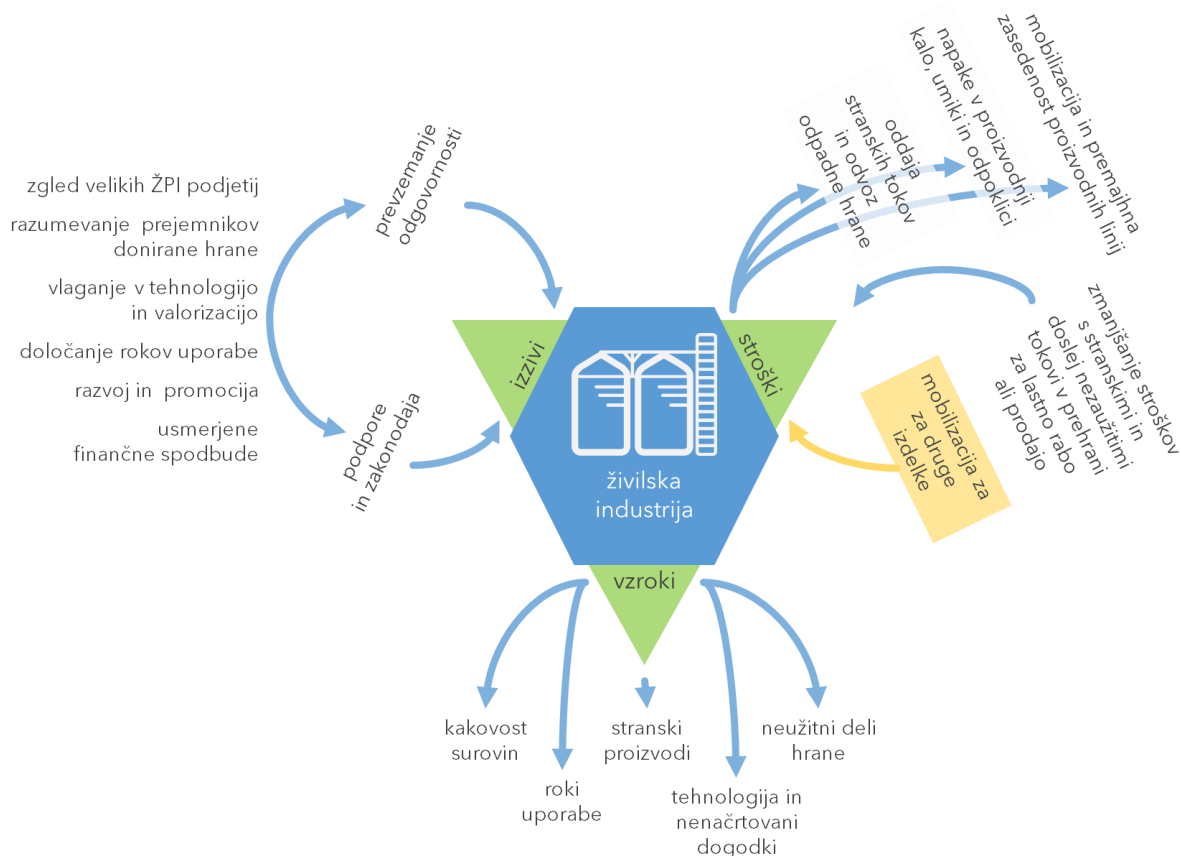


Slika 3: Shematski prikaz možnih načinov zmanjševanja oziroma uporabe presežkov hrane in posledičnega zmanjševanja odpadne hrane

Nadalje ima, ob spoštovanju hierarhije ravnanja z odpadki, uporaba neužitnega dela hrane v krožnem bio-gospodarstvu velik potencial, saj je ta lahko pomembna surovina za številne bio-osnovane proizvode, od predelave v funkcionalne materiale ali za pridobivanje različnih kemikalij (Osojnik Črnivec in sod., 2021a), pri čemer prenos tovrstnih rešitev v prakso upočasnjujejo tehnološke, stroškovne in zakonodajne prepreke, pa tudi različni družbeni vidiki (Juvančič in sod., 2021a). V tem oziru ima večjo perspektivo pridobivanje funkcionalnih komponent, ki so uporabne v živilski industriji (na primer bioaktivnih spojin in prehranskih vlaknin) za reformacijo živil, podaljševanje obstojnosti živil ter za uporabo v embalaži.

1.2 ODPADNA HRANA V ŽIVILSKOPREDELOVALNI INDUSTRIJI

V okviru projekta »Hrana ni odpad« je bila opravljena Analiza stanja in vzrokov nastajanja odpadne hrane v Sloveniji (Osojnik Črnivec in sod., 2021a), v kateri smo izvedli polstrukturirane intervjuje z deležniki, ki so vključeni v aktivnosti v slovenskih organizacijah, ki so dejavne oziroma načrtujejo aktivnosti na področju odpadne hrane. Polovica deležnikov je izhajala iz dejavnosti, ki sovpadajo z živilskopredelovalnim sektorjem (od tega javni sektor, 20 %; akademske inštitucije, 2 %; panožne inštitucije, 11 %; gospodarske organizacije, 20 %; nevladne organizacije, 2 %).



Slika 4: Shematski prikaz možnih načinov zmanjševanja oziroma uporabe presežkov hrane in posledičnega zmanjševanja odpadne hrane

Preliminarna analiza (slika 4) kaže na to, da so proizvodni procesi živilskopredelovalne industrije z vidika nastajanja odpadne hrane (užitni del) že relativno dobro optimizirani, saj velike količine odpadne hrane v proizvodnji že v osnovi predstavljajo prevelik strošek.

Odpadna hrana ustvarja visoke in rastoče stroške odvoza ter visoke stroške upravljanja z odpadnimi tokovi na lokaciji izvora, vključno s potrebnimi prostorskimi kapacitetami.

Mobilizacija presežkov hrane v prehranske in druge izdelke se vprašanim predstavnikom živilske industrije zdi smiselna, poznajo tudi že nekaj uspešnih primerov na trgu.

Nadaljnje vzroke nastajanja odpadne hrane, ki so jih izpostavili sogovorniki, lahko razdelimo glede na potek procesiranja.

1.2.1 Nastajanje odpadne hrane pred predelavo

Povezava živilske industrije s kmetijstvom se pri nastajanju odpadne hrane odraža predvsem pri dobavi surovin. Naročanje, kakovost vhodnih surovin ter upravljanje strateških kontrolnih točk tudi vplivata na možnost nastanka odpadne hrane. Za nastajanje odpadne hrane je pomembno, da živilskopredelovalni obrati pri naročanju niso vezani na zunanji izgled surovine (t.j. kmetijskih pridelkov oz. sadja in zelenjave), temveč na njegovo kakovost, zato lahko veliko naredijo tudi na področju zmanjševanja presežkov kmetijskih pridelkov z okrnjenim izgledom.

Večinoma neužitni deli odpadne hrane nastajajo pred predelavo, predvsem zaradi priprave, čiščenja ter lupljenja, odstranjevanja kosti in obrezovanja surovin. Temu delu odpadne hrane se ni mogoče izogniti in to ločevanje poteka bolj učinkovito na tehnološki liniji kot v primerih, ko se ti deli ločujejo kasneje, v ostalih delih verige preskrbe s hrano.

1.2.2 Nastajanje odpadne hrane med proizvodnjo in pakiranjem

Zagoni in vzdrževanje linij ter kalo so lahko vir odpadne hrane v predelavi, kakor tudi pri pakiranju živil. Za razvoj novega izdelka je treba večkrat prilagoditi recepturo, izvesti več poskusov in prenesti proizvodnjo z laboratorijske ravni na industrijsko. Odpadna hrana nastaja tudi zaradi priprave strojev na pravilno delovanje in odmerjanje izdelka v embalažo.

Odpadno hrano v živilski industriji po mnenju sogovornikov predstavljajo tudi stranski produkti in predvsem neužitni deli hrane, ki nastajajo pri ločevanju užitnega dela hrane med procesiranjem (količine so specifične za posamezen proizvodni proces oziroma glede na uporabljeno surovino). Čeprav količine nastalih stranskih proizvodov ne prištevamo v odpadno hrano, je način ravnanja s stranskimi proizvodi pomemben. Stranski proizvodi lahko postanejo odpadki pri nadaljnji uporabi ali predelavi. Prav tako nizka izkoriščenost stranskih proizvodov, s prodajo ali oddajo stranskih tokov drugim uporabnikom v procese z nizko dodano vrednostjo, ne ustvarja optimalnih donosov. Podjetja se vedno bolj posvečajo uporabi stranskih proizvodov za bolj učinkovito reformacijo obstoječih živil ali pripravo novih produktov. Mobilizacija stranskih produktov v lastnem procesu ali za prodajo je tehnično možna, zahteva pa zagonski strošek, ustrezno logistiko in shranjevanje ter stalen dotok surovine (količinsko in časovno), kar včasih predstavlja težavo za možnost predelave.

Sogovorniki izpostavljajo tudi tehnološke možnosti zmanjševanja odpadne hrane, ki vključujejo vlaganje v ustrezno opremo, kakor tudi mobilizacijo in predelavo nezasedenih proizvodnih linij.

1.2.3 Nastajanje odpadne hrane po proizvodnem procesu

Poleg nastajanja odpadne hrane, zaradi neustreznega ravnanja z živili med skladiščenjem in distribucijo, odpadna hrana nastane predvsem zaradi zahtev trga in kupcev.

Proizvodne prakse in možnosti prav tako vplivajo na nastajanje odpadne hrane v nadaljnjih členih verige preskrbe s hrano, zlasti faza pakiranja in določanje rokov uporabnosti.

Napake pri označevanju se lahko odražajo v umikih s trga, medtem ko neoptimalna izbira embalaže ali volumna pakiranja prav tako vplivata na količino odpadne hrane.

Potrebna je večja podpora v razvoju rokov uporabnosti, v smislu določanja roka uporabnosti novih živil, podaljševanja roka obstoječim izdelkom ali prilagajanja roka po reformulaciji živil, ki je na primer potrebno, kadar v živilu zmanjšamo vsebnost aditivov. S tega vidika je v živilskopredelovalni industriji pomembno tudi določanje rokov uporabnosti vhodnih surovin.

2 MOŽNOSTI UPORABE NEUŽITNIH DELOV HRANE

Neužitni deli hrane v živilskopredelovalni industriji v glavnini predstavljajo biomaso, ki nastaja pri procesiranju organskih surovin v živila z ločevanjem in/ali ekstrakcijo frakcij z visoko hranilno vrednostjo iz osnovne surovine. Poglavitni viri ostankov so proizvodnja in predelava sadja, zelenjave, mesa, sladkorja, mleka, pekovskih in slašičarskih izdelkov in alkoholnih ter brezalkoholnih pijač (Russ, 2008; Juvančič in sod., 2021). Proizvodni ostanki živilskopredelovalne industrije so odvisni od dejavnosti predelave in pa vhodne surovine.

Po poročilu projekta »Bridge2Bio« na temo ovrednotenja in karakterizacije biomase v primarni proizvodnji in predelavi hrane (Juvančič in sod., 2021) v preglednici 2 povzemamo pregled proizvodnih ostankov različnih sektorjev živilskopredelovalne industrije.

Preglednica 2: Odpadna hrana po izvoru (v tonah) v letih 2013–2020 in sestava (odstotki) v letu 2020 v Sloveniji

Vir ostanka	Vrsta ostanka	Količina ostanka
Meso in druga živila živalskega izvora	živalski stranski proizvodi – govedo	40-55 ut. %
	živalski stranski proizvodi – prašiči in perutnina	30-40 ut. %
	ostanki predelave rib	50-75 ut. %
	ostanki konzerviranja rib	30-65 ut. %
	ostanki predelave rakov in školjk	50-60 ut. %
	ostanki predelave mehkužcev	20-50 ut. %
	jajčne lupine	3-15 ut. %
Sadje in zelenjava	ostanki sortiranja pri pobiranju sadja in zelenjave	< 5 ut. %
	ostanki predelave sadja in zelenjave	5-30 ut. %
	neužitni in neustrezni rastlinski deli	1-30 ut. %
	ostanki (olupki, pulpa, semena, rastline) pri predelavi paradižnika	40 ut. %
Proizvodnja rastlinskih olj	trdni ostanki stiskanja - sončnična semena	40-70 ut. %
	trdni ostanki stiskanja - soja	30-40 ut. %
	trdni ostanki stiskanja - gorčica	7 ut. %
	trdni ostanki stiskanja - oljke	18-20 ut. %
	vegetacijske vode - oljčno olje	30 ut. %
	oljne koščice (ovoj, semena)	20 (16/4) ut. %
Mleko in mlečni izdelki	sirotka pri proizvodnji sira	4-10 × m izdelka
	ostanek pri proizvodnji sira	1-5 ut. % izdelka
	kalo in ostanek pri proizvodnji konzumnega mleka	< 5 ut. %
Mlevska industrija, pekarstvo in slašičarstvo	otrobi	10-20 ut. % izdelka
	zdrob	5-10 %
	izločena zrna/semena, lupine, luščine	< 1 %
	fini prah, pleve, slama	< 1 %
	frakcija separatorja semen	1-4 %
	pekovski odpadki in odpadno testo	< 1 %
	jajčne lupine	2-8 %
	stranski tokovi pri proizvodnji škroba iz pšenice ali koruze	40-50 %
Proizvodnja brezalkoholnih pijač	ostanki sočenja jabolk	23-35 ut. %
	ostanki sočenja citrusov	50 ut. %
	ostanki sočenja paradižnika	3-7 ut. %
	ostanki sočenja korenja	30-40 ut. %
	ostanki sočenja rdeče pese	15-30 ut. %
Proizvodnja alkoholnih pijač	pivske tropine	20 ut. % izdelka
	vroča pivska usedlina	2 ut. %
	odvečni pivovarski kvas	2 ut. %
	odpadna diatomejska zemlja s pivskim filtratom	0,5 ut. %
	grozdna pecljevina	2-8 ut. %
	grozdne tropine	10-20 ut. %
	usedlina pri bistrenju vina	1,5-5 ut. %
	kvasna usedlina v vinu	3-4,5 ut. %

Ti ostanki ponazarjajo odpadne tokove, ki so primerni za (i) neposredno pridobivanje biopolimerov (t.j. lipidi, proteini, polisaharidi, vlaknine), (ii) neposredno pridobivanje bioaktivnih spojin (na primer vitamini, polifenoli, peptidi, antioksidanti), (iii) neposredno pridobivanje ali uporabo za snovi z drugo posebno funkcijo (na primer bioadsorbenti) ter (iv) mikrobnno, encimsko ali kemijsko pretvorbo v druge produkte. Pri tem se neposredna uporaba nanaša na nezahtevne procese mehanske predelave in ekstrakcijske postopke, za pridobivanje oziroma koncentriranje zelenih snovi v takšni obliki, v kakršni jih vsebujejo ostanki.

Ostanki proizvodnje so vse snovi, ki nastanejo pri proizvodnem procesu, katerega glavni namen ni proizvodnja teh snovi. Glede na nadaljnjo rabo lahko ostanki (Uredba o odpadkih (Ur.l. RS, št. 37/15, 69/15 in 129/20)) v živilskopredelovalni industriji postanejo stranski produkt ali pa odpadek. Istovrstni ostanki so, glede na rabo, tako lahko **stranski proizvodi** (kadar se uporabijo) ali pa **odpadki** (kadar se zavržejo). V pravilno zasnovanem biogospodarstvu, ki deluje po načelih krožnega gospodarstva, je ključno, da postanejo ostanki proizvodnje surovina v nadaljnjih lastnih ali drugih proizvodnih procesih (Juvančič in sod., 2021).

V nadaljevanju se bomo za prikaz možnosti uporabe neužitnih delov hrane osredotočili na predelavo sadja in zelenjave, ki proizvaja izredno raznolike proizvodne ostanke. Neužitni ostanki svežega sadja in zelenjave nastajajo pri pobiranju pridelka, pripravi za prodajo in predelavi ter konzerviranju živil. Količina neužitnih ostankov je odvisna od vrste in sorte sadja in zelenjave (preglednica 3), sezone, tehnologije pridelave in predelave.

Preglednica 3: Deleži neužitnih delov svežega sadja in zelenjave v EU (povzeto po De Laurentiis in sod., 2018)

Sadje	Neužitni del (%)	Zelenjava	Neužitni del (%)
Borovnice	0	Artičoke	57-66
Breskve in nektarine	7-11	Buče	16-23
Brusnice	0-2	Cvetača in brokoli	42-46
Češnjke	14-17	Česen	21-25
Fige	25-25	Čebula, suha	7-17
Ribez	0-3	Čebula, šalotka, sveža	4-31
Grenivka	30-32	Čili in paprika	15-18
Grozdje	2-6	Gobe in tartufi	4-17
Hruške	10-16	Grah	63-69
Jabolka	9-15	Jajčevci	4-19
Jagode	2-6	Korenje in repa	17-23
Kaki	3-16	Krompir	15-17
Kivi	13-26	Kumare	3-23
Kosmulje	2-9	Lubenice	43-54
Kutine	21-31	Melone	40-53
Limone in limete	31-37	Mlada koruza	41-44
Maline	0	Paradižnik	0-1
Mandarine	17-23	Por	17-23

se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 3

Sadje	Neužitni del (%)	Zelenjava	Neužitni del (%)
Mareljice	6-8	Sladki krompir	16-28
Pomaranče	20-29	Solata in radič	5-12
Slive	6-10	Spinača	17-30
Višnje	14-15	Stročji fižol	0-9
		Šparglji	43-47
		Zelje in druge križnice	16-22

Neužitni deli so zunanji deli rastlin, ki imajo zaščitno vlogo in so zato bogati s strukturnimi biopolimeri, kakor tudi s številnimi bioaktivnimi molekulami. Ostanke proizvodnje in predelave sadja in zelenjave so zato dober vir širokega nabora polifenolnih snovi z antioksidativnim delovanjem (preglednica 4).

Preglednica 4: Primeri antioksidantov v različnih ostankih sadja in zelenjave (povzeto po Chandrasekaran, 2012; Podgornik in sod., 2019)

Vir ostanka	Spojina	Vsebnost (mg/g)
Luskolisti rdeče čebule	galna kislina	0,08
	ferulna kislina	0,02
	protokatehajska kislina	0,05
	kvercetin	3,9-50
	kamferol	0,23
Plod granatnega jabolka	elagična kislina	136
Olupek jabolka	derivati kvercetina	28
	kvercetin	0,28
	floridzin	1,83
	floretin	0,01
	klorogenska kislina	4,09
	kavna kislina	0,04
	ferulna kislina	0,02
	izoferulna kislina	0,03
	cianidin-3-galaktozid	1,8
	(+)-katehin	0,36
	(-)-epikatehin	4,63
Olupek citrusa	hesperidin	0,1-47,7
	naringin	0,21-29,8
	neohesperidin	0,02-0,34
	diosmin	0,13-0,40
	luteolin	0,20
	sinensetin	0,01-0,42
	rutin	0,09-0,29
	kvercetin	0,14-0,78
	kamferol	0,13-0,38
	kavna kislina	0,003-0,08
	klorogenska kislina	0,15-0,34
	ferulna kislina	0,03-0,15
	sinapinska kislina	0,01-0,18
	p-kumarna kislina	0,04-0,35
	lutein	0,01-0,04
zeaksantin	0,01-0,04	
β-kriptoksantin	0,04	
β-karoten	0,07	
Grozdne peške	procianidini	23
Grozdne tropine	procianidini	3,7
Poganjki vinske trte	<i>trans</i> -resveratrol	3,45
	<i>trans</i> -viniferin	1,3

se nadaljuje

Nadaljevanje preglednice 4

Vir ostanka	Spojina	Vsebnost (mg/g)
Oljčne tropine	hidroksitirozol glikozid	0,4-0,8
	hidroksitirozol	2,6-5,7
	tirozol glukozid	0,4-0,8
	tirozol	0,6-0,8
	verbaskozid	1,3-2,4
	luteolin-7-O-glukozid	0,2-0,3
	luteolin	0,5-0,8
	apigenin	0,09-0,11

2.1 PRIDOBIVANJE ANTIOKSIDANTOV

Agroživilski rastlinski ostanki so, zaradi visoke vsebnosti antioksidantov in lignoceluloze, primerni za kaskadno pridobivanje funkcionalnih sestavin s preoblikovanjem preostale biomase v nove materiale. Na osnovi dolgoletnega preučevanja rastlinskih virov antioksidantov prikazujemo tri izbrane tokove rastlinskih ostankov iz lokalnih virov pridelave in predelave čebule, oljk in garantnih jabolk, ki se razlikujejo glede na vsebnost in vrsto polifenolov (Cifá in sod., 2018; Osojnik Črnivec in sod., 2021b; Osojnik Črnivec in sod., 2021c; Sežun in sod., 2021).

V obsežni študiji potenciala novih načinov uporabe proizvodnih ostankov čebule v živilih smo ugotovili, da med ločevanjem neužitnih delov čebule (t.j. osušeni čebulni vrat, čebulni krožec in korenine, suhi zunanji luskolisti) od užitnega dela čebule (omeseneli luskolisti) odstranimo kar 15-25 % suhe snovi pridelka. To pomeni, da lahko z uporabo teh ostankov znatno izboljšamo učinkovitost pridelave. Užitnim delom in čebulnim ostankom smo določili antioksidativno učinkovitost ter vsebnost kvercetina, ki je eden izmed poglavitnih polifenolov čebule. Ostanke rdeče in rumene čebule ter šalotke so bili bolj bogati s kvercetinom ter so imeli višjo antioksidativno učinkovitost v primerjavi z užitnimi deli čebule (preglednica 5). V beli čebuli nismo zaznali kvercetina. Podatki prav tako kažejo, da je v etanolnih ekstraktih kvercetin glavna antioksidativna komponenta, ki sodeluje pri reakciji z reagentom DPPH^{*}. Etanolni ekstrakti so bili tudi najprimernejši za pridobivanje kvercetina, saj zagotavljajo 200–400 mg kvercetina na kg pobranega suhega pridelka.

Preglednica 5: Vsebnost kvercetina in antioksidativna učinkovitost etanolnih ekstraktov užitnih in neužitnih delov čebule ter vsebnost bioaktivnih spojin v luskolistih rumene čebule (Osojnik Črnivec in sod., 2021b)

Vir	Užitni del		Ostanek		Luskolisti rumene čebule	Vsebnost (g/ SS)
	Kvercetin (mg/g SS)	Antioksidativna učinkovitost (mg TE/g SS)	Kvercetin (mg/g SS)	Antioksidativna učinkovitost (mg TE/g SS)		
Rdeča čebula	0,12 ±0,001	4,30 ±0,08	15,27 ±0,03	37,38 ±0,56	Klorofil a	97,59 ±0,69
Rumena čebula	0,08 ±0,001	n.d.	7,63 ±0,03	24,57 ±0,39	Klorofil b	65,07 ±1,09
Bela čebula	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	Karotenoidi	17,82 ±0,27
Rdeča šalotka	0,09 ±0,001	n.d.	11,47 ±0,04	28,47 ±0,72	Antociani	3,80 ±0,06
					Skupni fenoli	55,18 ±0,96
					Flavonoidi	26,63 ±0,09
					Kvercetin	10,03 ±0,29

Navedena so povprečja ±SD; TE – ekvivalent troloksa (DPPH^{*}); SS – suha snov; n.d. – pod mejo detekcije.

Pri preučevanju bioaktivnih spojin v različnih delih plodu garantnih jabolčk iz SZ Istre smo določili visoko vsebnost bioaktivnih spojin in visoko antioksidativno učinkovitost etanolnih ekstraktov olupka in mezokarpa, v primerjavi z znatno nižjimi vrednostmi v soku in semenih granatnega jabolčka (preglednica 6). Etanolna (70 % [v/v]) ekstrakcija se je tako izkazala za primeren in relativno enostaven način pridobivanja bioaktivnih spojin iz proizvodnih ostankov soka granatnega jabolčka. Olupek granatnega jabolčka ima prav tako bogato vsebnost antocianov (preglednica 6).

Preglednica 6: Skupna vsebnost fenolov in antioksidativna učinkovitost etanolnih ekstraktov užitnih in neužitnih delov granatnega jabolčka ter profil antocianov v vodnem ekstraktu olupka granatnega jabolčka

Frakcija granatnega jabolčka	Skupni fenoli (mg GAE/g SS)	Flavonoidi (mg CE/g SS)	Antioksidativna učinkovitost (mg TE/g SS)	Olupek granatnega jabolčka	Vsebnost (µg/ SS)
Olupek	30,5 ±0,6	4,25 ±0,05	17,0 ±6,0	Antociani	2177,5 ±0,3
Mezokarp	26,3 ±0,0	2,50 ±0,04	5,50 ±0,20	Cy-3-O-glukozid	1029,0 ±0,3
Sok	1,12 ±0,04	0,100 ±0,006	2,75 ±0,03	Pel-3-O-Gly	490,27 ±0,03
Semena	1,48 ±0,02	0,220 ±0,020	4,90 ±0,20	Cy-3,5-O-diGly	378,3 ±0,1
				Pel-3,5-O-diGly	270,88 ±0,02

Navedena so povprečja ±SD; GAE – ekvivalent galne kisline; CE – ekvivalent katehina, TE – ekvivalent troloksa (TEAC); SS – suha snov ekstrakta; Cy – cianidin; Pel – pelargonidin; Gly – glukozid.

Pridobivanje bioaktivnih spojin iz proizvodnih ostankov mora temeljiti na učinkovitih in donosnih postopkih ekstrakcije. Pomembnost izbire pogojev ekstrakcije in sestave topila smo preučili v študiji optimizacije ekstrakcije oleuropeina iz oljčnih listov iz obrezovanja oljčnikov (Cifá in sod., 2018). Konvencionalno ekstrakcijo z maceracijo smo pri tem primerjali z ekstrakcijo, podprto z ultrazvokom (USAE). S sistematičnim spreminjanjem pogojev smo preučili vpliv vrste delovnih parametrov (vrsta/ sestava topila, razmerje med topilom in oljčnimi listi, čas in temperatura ekstrakcije). Pri optimiziranih pogojih (70 % etanol [v/v]; razmerje med listi in topilom, 1:5 [w/v]; 2 uri; 25 °C; preglednica 7) je izkoristek ekstrakcije oleuropeina ~30 % večji v primerjavi s konvencionalnim postopkom. Pri višji temperaturi (70 °C) smo še nekoliko povečali donos ekstrakcije (preglednica 7), vendar ne dovolj, da bi to upravičilo povečan vnos energije. Prav tako pri najbolj ekstremnih pogojih ekstrakcije s podaljševanjem časa do 6 ur nismo povečali koncentracije oleuropeina v končnem ekstraktu.

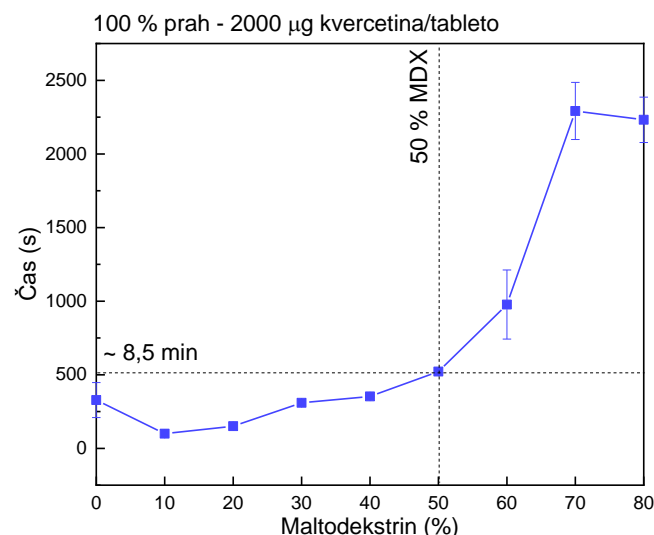
Preglednica 7: Izbira pogojev ultrazvočne ekstrakcije oleuropeina iz oljčnih listov (Cifá in sod., 2018)

Topilo (% etanola)	Razmerje vzorec : topilo (g/mL)	Čas (min)	Temperatura (°C)	Oleuropein (mg/g SS)
30	0,2	120	25	3,1 ±0,1
50	0,2	120	25	10,8 ±0,6
70	0,2	120	25	38,1 ±1,8
70	0,2	5	25	37,6 ±0,6
70	0,2	30	25	36,1 ±1,0
70	0,2	60	25	35,6 ±1,1
70	0,2	360	25	36,7 ±1,6
70	0,33	120	25	36,8 ±2,1
70	0,2	120	25	38,1 ±1,8
70	0,14	120	25	38,8 ±1,5
70	0,1	120	25	31,6 ±0,6
70	0,2	120	10	38,3 ±0,8
70	0,2	120	70	39,2 ±0,9

SS – suha snov oljčnih listov

2.2 FUNKCIONALNI DODATKI

Antioksidativno delovanje fenolnih spojin je pomembno za preprečevanje oksidacijskih procesov v živilih, precej fenolnih spojin pa je sposobno tudi zavirati rast kvarljivcev v hrani, zato je protimikrobna učinkovitost in poznavanje mehanizmov njihovega delovanja pomembna za podaljšanje obstojnosti živil. Uporabnost tovrstnih sestavin lahko ponazorimo z nadaljnjimi uporabnimi oblikami zunanjih suhih luskolistov rumene čebule, kot so tabletiranje (slika 5) in pa uporaba za podaljšanje roka uporabnosti živil (Osojnik Črnivec in sod., 2021b).



Slika 5: Vpliv dodatka maltodekstrina (MDX) k prahu suhih luskolistov rumene čebule na čas dezintegracije tablet. Prikazana so povprečja ±SD

S tehnološkega vidika tabletiranje ponuja učinkovit način shranjevanja in uporabe prašnatih rastlinskih materialov. Zmlete luskoliste smo direktno tabletirali brez ali z dodatkom polnila (maltodekstrina), s čimer smo pripravili obstojne oblike luskolistov čebule, ki jih lahko uporabimo za dopolnjevanje lastne prehrane, bodisi kot neposredni dodatek pri kuhi (kjer je potrebna hitra razpustitev tablete) ali za zaužitje v obliki tablete (kjer se mora tableta raztapljati

postopoma). Čisti prah suhih čebulnih luskolistov je bilo torej mogoče tabletirati brez dodatkov (na primer dodatkov za strukturno stabilnost ali izmet tablete iz preše), z dodatkom maltodekstrina pa smo lahko dobro uravnali čas raztapljanja (slika 5).

Druga oblika je bila uporaba prahu ali ekstrakta čebulnih luskolistov kot dodatka za podaljšanje roka uporabnosti živil, kar smo prikazali na primeru dodajanja v ekstra deviško oljčno olje. Dodatek prahu in ekstraktov luskolistov čebule v olje smo uravnali na 2,5 ali 4,3 ekvivalentov galne kisline /L olja. Senzorična analiza je pokazala, da so dodatki vplivali na pojav nežnega rdečega odtenka. To z vidika potrošnika sicer ni odločilno, saj je za ekstra deviška oljčna olja že v osnovi značilna dokaj široka paleta barv. Dodatki niso imeli negativnega vpliva na vonj, v okusu pa je bilo zaznati pikantnost, vendar je bil še vedno ocenjen kot prijeten.

S testom oksidacijske stabilnosti smo oljem z različno sestavo določili razliko v času indukcije med kontrolnim vzorcem (ekstra deviško oljčno olje brez dodatkov) in olji z različnimi dodatki (preglednica 8). Največji učinek na oksidacijsko stabilnost smo dosegli z dodajanjem etanolnega ekstrakta, medtem ko neposredni dodatek prahu čebulnih listov v olje ni imel vpliva na stabilnost. Pri naših pogojih merjenja lahko razliko ene ure v indukcijskem času pripišemo 90-dnevemu podaljšanemu roku uporabnosti. Glede na spremljane parametre, bi lahko z različnimi pripravki čebulnih luskolistov olju podaljšali rok uporabnosti za približno 1-5 mesecev. Glede na to, da je ekstra deviško oljčno olje uporabno najmanj 12-18 mesecev, to pomeni do 30 % podaljšanje roka uporabnosti.

Preglednica 8: Vpliv dodatka prahu in ekstraktov čebulnih luskolistov na indukcijski čas ekstra deviškega oljčnega olja. Analiza je bila izvedena pri 120 °C in prepihanju olja z zrakom s hitrostjo 20 L/h

Pripravek	Priprava	Dodatek skupnih fenolov	Čas indukcije (h)	
			Skupni	Razlika
Kontrolni vzorec (brez)	-	-	12,44±0,11 ^a	-
Prah čebulnih luskolistov	-	2,5	12,38±0,11 ^a	-0,06
	-	4,3	12,39±0,09 ^a	-0,05
Vodni ekstrakt luskolistov	stresanje	2,5	12,43±0,05 ^a	-0,01
	soniciranje	2,5	14,05±0,01 ^b	+1,61
Etanolni ekstrakt luskolistov	stresanje	2,5	13,15±0,15 ^c	+0,71
	soniciranje	2,5	15,75±0,13 ^d	+3,31

Prikazana so povprečja ±SD. Nadpisane črke (a-d) označujejo statistične razlike med skupinami (P<0,05)

Uporaba čebulnih luskolistov v obliki tablet in dodatkov za podaljšanje obstojnosti olja prikazujeta, kako je mogoče doslej neizkoriščene tokove iz proizvodnje živil, ki jih imamo za neužitne, uporabiti v živilih, s čimer preprečimo tudi nadaljnje količine odpadne hrane.

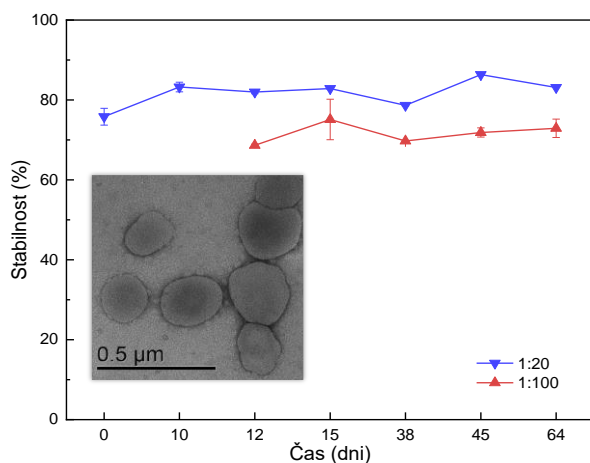
2.3 ZAŠČITA FUNKCIONALNIH SESTAVIN

Bioaktivne spojine, ki jih preučujemo, so pogosto, zaradi tehnologije procesiranja, podvržene razgradnji ali so slabo topne. Za ohranjanje njihove prehranske vrednosti in biološke razpoložljivosti jih je potrebno zaščititi z ustreznim matriksom (s kapsuliranjem), ali pa zagotoviti njihovo učinkovito vključevanje v živilo. Za vključevanje slabo topnih komponent

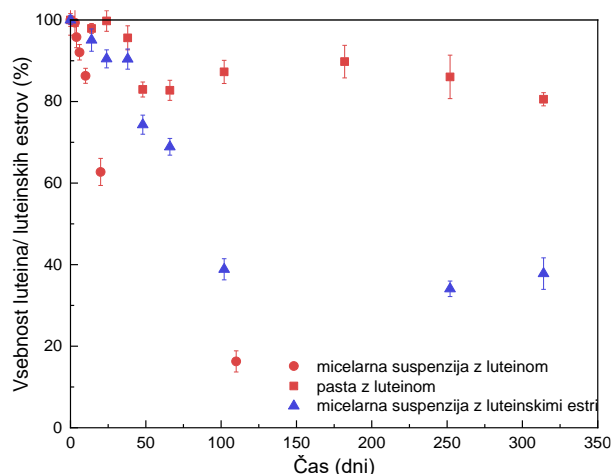
pogosto uporabljamo liposomalne pripravke ali pa micelarne suspenzije, ki so stabilne v vodnem okolju in lahko v svojo strukturo vgradijo hidrofobne komponente.

Tako smo na primer pri kapsulaciji kvercetina iz čebulnih luskolistov v proliposome (Poklar Ulrih in sod., 2019) dosegli večji delež vgrajevanja pri višji koncentraciji kvercetina in dolgotrajno stabilnost kvercetina med skladiščenjem v kapsuliranih formulacijah (slika 6).

V drugi raziskavi smo z vgrajevanjem ekstraktov luteina in luteinskih estrov v različne nosilce (paste, micelarne suspenzije in goste emulzije) preprečili dolgotrajno razgradnjo vsebujočih komponent (Gombač in sod., 2021). Lutein in luteinski estri so nestabilne spojine, ki se razgradijo že v nekaj dneh med shranjevanjem v temi pri sobni temperaturi. V naši študiji smo prav tako potrdili, da so te spojine nestabilne tudi pri bolj ugodnih pogojih shranjevanja, saj se je lutein popolnoma razgradil med 80-dnevnim shranjevanjem v temi pri 4 °C, medtem ko se je vsebnost luteinskih estrov v tem času zmanjšala za četrtno. V kapsuliranih pripravkih pa smo po enem letu shranjevanja pri 25 °C izmerili okrog 40 % luteina in 80 % luteinskih estrov (slika 7), kar kaže na izredno zaščitno vlogo kapsulacijskih nosilcev. Poleg prikazane zaščitne vloge smo v kapsuliranih pripravkih določili 100-krat večjo koncentracijo luteinskih estrov v vodi.



Slika 6: Stabilnost kvercetina iz ekstrakta luskolistov čebule med skladiščenjem pri 4 °C. Prikazana so povprečja ±SD. Vključeni TEM mikrografski posnetek prikazuje pripravljene proliposome (Poklar Ulrih in sod., 2019)



Slika 7: Dolgoročna stabilnost micelarnih suspenzij z luteinom in luteinskimi estri in paste z luteinom. Prikazana so povprečja ±SD (Gombač in sod., 2021)

2.4 IZRABA STRUKTURNIH SESTAVIN

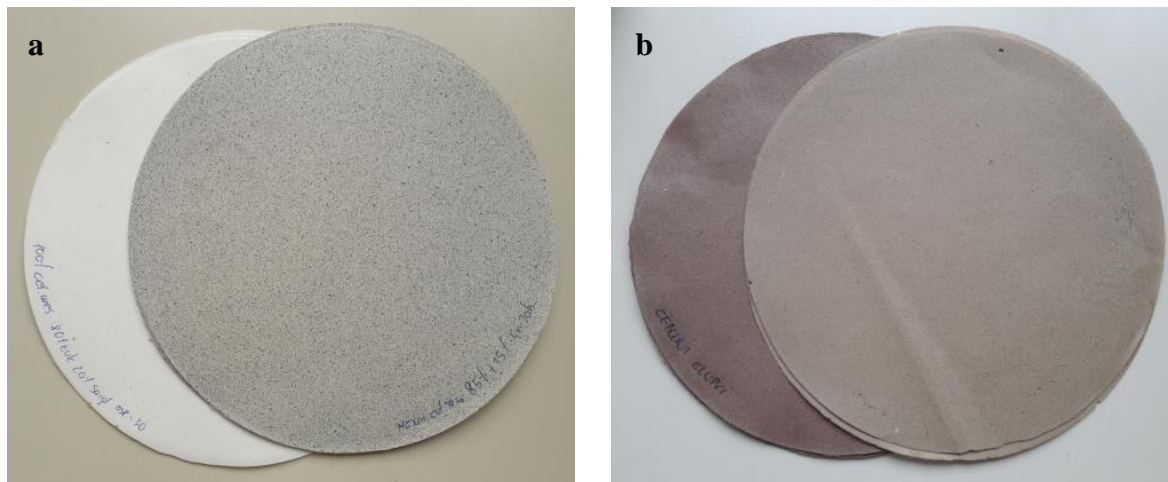
Agroindustrijski rastlinski odpadki so, zaradi visoke vsebnosti lignoceluloze in velikih količin fenolnih spojin, primerni za kaskadno valorizacijo v embalažnih materialih. Valorizacija in pretvorba obnovljivih kmetijskih odpadkov v biorazgradljive kompozite se je izkazala za pomemben preboj na področju embalaže (Bhardway in sod., 2020). Rastlinski ostanki ekstrakcije bioaktivnih spojin vsebujejo številne preostale strukturne biopolimere, ki so dragocena surovina v proizvodnji papirja.

V tem delu prispevka želimo prikazati nadaljnje možnosti uporabe vlaknin iz rastlinskih ostankov, bogatih z bioaktivnimi snovmi in lignocelulozo (suhi čebulni luskolisti, olupki granatnega jabolka, oljčni listi in vejice) (Osojnik Črnivec in sod., 2021c). Kemijska sestava zadevnih vzorcev agroživilskih ostankov je zelo raznolika. Čebulni olupki vsebujejo visok delež celuloze (36 %) in hemiceluloze (33 %) ter nizek delež lignina (3,5 %), kar jih uvršča med zanimive alternativne surovine za pridobivanje celuloznih vlaken, po možnosti celo brez predhodnega procesa delignifikacije. Oljčni listi in vejice kot tudi olupki granatnega jabolka pa po drugi strani vsebujejo največ ekstraktivov (recipročno 47 in 68 %) ter manjše deleže strukturnih biopolimer (recipročno 51 in 23 % celuloz in hemiceluloz ter 20 in 12 % lignina).

Za vse tri vrste agroživilskih ostankov smo nadalje v laboratoriju (z oblikovalnikom Rapid Köthen) izdelali preskusni papir (preglednica 9, slika 8).

Preglednica 9: Fizikalno-mehanske lastnosti laboratorijskih vzorcev papirja, izdelanega iz vzorcev agroživilskih ostankov ter komercialnih celuloznih vlaken (KCV)

Parameter	Čebulni olupki 100 %	Oljčni listi, vejice 100 %	KCV + olupki granatnega jabolka 85 + 15 %	KCV 100 %
Gramatura (g/m ²)	67,9	37,4	63,6	65,0
Debelina (μm)	115	144	161	116
Specifični volumen (cm ³ /g)	1,69	3,85	2,53	1,78
Utržni indeks (Nm/g)	39,3	9,9	41,4	53,3
Utržna dolžina (km)	4,010	1,009	4,222	5,334
Hrapavost Bendtsen (ml/min)	518	1991	1677	342
Poroznost Bendtsen (ml/min)	2,75	/	3791	1844
Raztržni indeks (mN·m ² /g)	2,09	2,80	7,35	7,85
Razpočni indeks (kN·m ² /g)	1,75	1,02	2,65	3,48
ISO belina (%)	14,5	18,4	41,4	77,0



Slika 8: Videz laboratorijskih vzorcev papirja iz (a, levo) komercialnih celuloznih vlaken; (a, desno) mešanice komercialnih celuloznih vlaken z dodatkom olupkov granatnega jabolka; (b, levo) suhih čebulnih luskolistov in (b, desno) oljčnih listov in vejic (Osojnik Črnivec in sod., 2021c)

Ker so olupki granatnega jabolka vsebovali delce brez vezivnih sposobnosti, smo 15 % vzorca primešali v mešanico komercialne beljene celuloze (sestavljene iz 80 % evkaliptusa in 20 % iglavcev, mletih na stopnjo mletja 30 °SR). Dodatek olupkov granatnega jabolka poslabša mehanske lastnosti papirja in zmanjša belino lista ter poveča debelino, hrapavost, poroznost in opaciteto lista.

Papir iz oljčnih listov je imel pri klasičnem postopku delignifikacije majhno gramaturo in relativno veliko debelino ter specifični volumen. Pri mehanski obremenitvi je papir iz oljčnih ostankov izražal najslabše mehanske lastnosti. Papir je hrapav in zelo porozen, ima visoko opaciteto in je prav tako izrazito obarvan.

Iz delignificiranih suhih čebulnih luskolistov smo brez težav izdelali laboratorijske liste ustrezne gramature z dobro mehansko jakostjo. Zaradi kratkih vlaken, pa sta raztržni in razpočni indeks nizka, v primerjavi s papirjem iz komercialnih celuloznih vlaken. Med vsemi izdelanimi listi papirja so bili vzorci iz čebule najbolj obarvani in imeli najvišjo opaciteto.

Naši preliminarni rezultati kažejo potencial za uporabo rastlinskih agroživilskih ostankov na področju trajnostne embalaže in papirne galanterije, zlasti za uporabo v gostinstvu in turizmu. Z uporabo rastlinskih ostankov so nastale tudi zanimive in privlačne barve in teksture, kar je še posebej koristno v proizvodnji specialnih papirjev.

3 ZAKLJUČEK

Odpadna hrana sestoji iz svojega užitnega in neužitnega dela. Pri užitnem delu odpadne hrane se osredotočamo na ukrepe, ki omogočijo kopičenje hrane in pravočasno porabo oziroma preraždeljevanje presežkov hrane, da ti ne pristanejo med odpadki.

Tudi neužitni del hrane, na primer proizvodni ostanki, ki nastajajo pri ločevanju neužitnega in užitnega dela pri predprocesiranju, je v določeni meri mogoče izkoristiti v živilski dejavnosti in na ta način pridobiti koristne snovi iz lastnih neizkoriščenih proizvodnih tokov ter tako preprečiti še dodatne količine odpadne hrane.

V prispevku na osnovi lastnih raziskav prikazujemo znatni potencial proizvodnih ostankov pridelave in predelave rastlin, zlasti za (i) pridobivanje in zaščito bioaktivnih spojin, (ii) uporabo doslej neužitnih tokov ali njihovih pripravkov kot sestavin v živilih, (iii) izrabo preostalih strukturnih biopolimerov. Verjamemo, da prikazani primeri lahko služijo kot navdih za načrtovanje novih procesnih rešitev, nove zorne kote o presežni in odpadni hrani ter kot motivacija za krojenje novih vertikalnih in horizontalnih povezovanj v živilskopredelovalni industriji.

Prispevek je bil oblikovan na osnovi aktivnostih, financiranih v okviru raziskovalnega programa »Biokemijska in biofizikalno-kemijska karakterizacija naravnih snovi« (ARRS, P4-0121) in projektov »Samosestavljeni in napredni biopolimerni ovoji za mikrokapsulacijo probiotikov in starterskih kultur« (J4-2545), »Hrana ni odpadek« (ARRS/MKGP, V4-2011) ter »Bridge2Bio« (ARRS/MKGP, V4-1824).

4 VIRI

- Bhardwaj, A., Alam, T., Sharma, V., Alam, M. S., Hamid, H., Deshwal, G. K. 2020. Lignocellulosic Agricultural Biomass as a Biodegradable and Eco-friendly Alternative for Polymer-Based Food Packaging. *Journal of Packaging Technology and Research* 2020 4(2): 205-216
- Cifá, D., Skrt, M., Pittia, P., Di Mattia, C., Poklar Ulrih, N. 2018. Enhanced yield of oleuropein from olive leaves using ultrasound-assisted extraction. *Food Science & Nutrition*, 6(4): 1128-1137
- Chandrasekaran, M. 2012. *Valorization of Food Processing By-Products*. Boca Raton. CRC Press: 836 str.
- De Laurentiis, V., Corrado, S. Sala, S. (2018). Quantifying household waste of fresh fruit and vegetables in the EU. *Waste Management*, 77: 238-251
- EC. 2010. Preparatory study on food waste Across EU27, Technical Report 054. Brussels. European Commission: 213 str.
- EC. 2022. EU Platform on Food Losses and Food Waste. Brussels. European Commission. https://ec.europa.eu/food/safety/food-waste/eu-actions-against-food-waste/eu-platform-food-losses-and-food-waste_en (junij 2022)
- EU PFLFW. 2019. Recommendations for Action in Food Waste Prevention. EU Platform on Food Losses and Food Waste: 30 str.
- Forbes, H., Quested, T., O'Connor, C. 2021. UNEP Food Waste Index Report 2021. Nairobi. United Nations Environment Programme: 100 str.
- Gombač, Z., Osojnik Črnivec, I. G., Skrt, M., Istenič, K., Knez Knafelj, A., Pravst, I., Poklar Ulrih, N. 2021. Stabilisation of Lutein and Lutein Esters with Polyoxyethylene Sorbitan Monooleate, Medium-Chain Triglyceride Oil and Lecithin. *Foods*, 10: 1030500
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., Meybeck A. 2010. Global food losses and food waste: Extent, causes and prevention. Rome. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 37 str.
- Juvančič, L., Mešl, M., Križnik, N. B., Lovec, M., Osojnik Črnivec, I. G., Arnič, D., ... Novak, A. 2021. Premostitev vrzeli v biogospodarstvu od gozdne in kmetijske biomase do inovativnih tehnoloških rešitev. Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani: 104 str.
- Kalin, K., Hotić, M., Petric, P. 2021. Metodološko pojasnilo odpadna hrana. Ljubljana. Statistični urad Republike Slovenije: 9 str.
- Osojnik Črnivec, I. G., Korošec, M., Maček, K., Rac, I., Juvančič, L., Poklar Ulrih, N. 2021a. Analiza stanja in vzrokov nastajanja odpadne hrane v Sloveniji z vlogami ključnih akterjev v Sloveniji v shemi poročanja distribucije presežkov hrane. Ljubljana. Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani: 110 str.

- Osojnik Črnivec, I. G., Skrt, M., Šeremet, D., Sterniša, M., Farčnik, D., Štrumbelj, E., ... Poklar Ulrih, N. 2021b. Waste streams in onion production: Bioactive compounds, quercetin and use of antimicrobial and antioxidative properties. *Waste Management*, 126: 476-486
- Osojnik Črnivec, I. G., Sežun, M., Skrt, M., Kapun, T., Poklar Ulrih, N. 2021c. Crop residues as fibrous and functional compounds for paper production. V: Karlovitis, I. (ur.). *Proceedings of the 2nd International Conference on Circular Packaging*. Slovenj Gradec and online: 119-127
- Podgornik, M., Bučar-Miklavčič, M., Levart, A., Salobir, J., Rezar, V., Poklar Ulrih, N., ... Butinar, B. 2019. Možnosti uporabe ostankov proizvodnje v oljkarstvu. *Koper. Znanstveno-raziskovalno središče Koper*: 46 str.
- Poklar Ulrih, N., Skrt, M., Osojnik Črnivec, I. G., Šeremet, D., Komes, D. 2019. Proliposomal encapsulation of quercetin extracts from onion peel. V: *Book of abstracts of the 8th International Symposium on Delivery of Functionality in Complex Food Systems*: 82
- Russ W. 2008. Waste and By-products in Food Processing. V: L. Gašperlin, B. Žlender. *Stranski proizvodi in odpadki v živilstvu – uporabnost in ekologija*. 25. Bitenčevi živilski dnevi 2008, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 11-18
- Sanchez Lopez, J., Patinha Caldeira, C., De Laurentiis, V., Sala, S., Avraamides, M. 2020. Brief on food waste in the European Union: 12 str.
- Sežun, M., Kapun, T., Osojnik Črnivec, I. G., Skrt, M., Poklar Ulrih, N. 2021. Izraba agroživilskih ostankov kot surovine za izdelavo trajnostne papirne galanterije. *Papir*, 49(26): 37-40
- Žitnik, M., Vidic, T. 2016. *Hrana med odpadki*. Ljubljana. Statistični urad Republike Slovenije: 24 str.

FOOD PACKAGING FROM BIOBASED POLYMER MATERIALS

Urška VRABIČ-BRODNJAK¹

Abstract: The demand for more sustainable packaging materials is increasing. As a result, the multidisciplinary nature of this issue often leads to close collaboration between designers and food packaging manufacturers to create more sustainable food packaging systems and a circular economy. To improve the use of sustainable materials and reduce pollution, bio-based materials are being promoted for use in this field. Over the past decade, the packaging and food industries have made joint efforts to reduce the amount of food packaging materials and partially replace them with bio-based materials. The applications of bio-based materials for food packaging are highlighted in this article. The focus is on the categories of related bio-based materials, their properties, advantages and disadvantages for food packaging, and future perspectives. The overview has shown that as the amount of biodegradable packaging and biopolymers increases, a comparable increase in their use can be expected in markets where plastic packaging is normally used. The sum of the climate and environmental impacts of packaging should be considered along with the food it protects. The combined system should be evaluated throughout its life cycle and optimized through the design, production, and end-of-life of the packaging material to improve its sustainability. Future research on bio-based materials for food packaging must continue to improve the performance of these materials as globalization and consumption lead to greater demands for food preservation, transportation, and storage.

Key words: sustainability, packaging systems, environment, food protection, packaging materials.

EMBALAŽA ZA ŽIVILA IZ OBNOVLJIVIH VIROV

Povzetek: Zahteve po trajnostni embalaži naraščajo, zato je multidisciplinarno povezovanje med strokovnjaki s področja živilstva, prehrane, materialov in embalažerstva nujno za doseganje varnosti hrane, trajnostnih ciljev in krožnega gospodarstva. Za vključevanje trajnostnih embalažnih materialov na področje pakiranja živil in hkratnega zmanjšanega vpliva na okolje, je vključevanje bio-osnovanih materialov nujno. Namreč, v zadnjem desetletju se je v živilski industriji delna količina klasičnih embalažnih materialov iz naftnih derivatov zmanjšala zaradi uporabe bio-osnovanih materialov. V prispevku so predstavljeni bio-osnovani embalažni materiali, njihove lastnosti, aplikacije, uporaba, prednosti in slabosti ter prihodnost omenjenih materialov v živilski industriji. Pregled trenutnega stanja bio-osnovanih, materialov za pakiranje živil je pokazala, da njihova proizvodnja narašča in da se v prihodnjih letih pričakuje uporaba na področjih, kjer še vedno prevladuje klasična, plastična embalaža. Kljub temu, pa bo potrebno upoštevati vplive na okolje in končno zaščito živil. Celoten proces embalažnega materiala je treba ocenjevati skozi življenjski cikel, ga optimizirati z začetno zasnovano, proizvodnjo in s koncem življenjske dobe, da se doseže optimalni trajnostni učinek. Prihodnje raziskave bio-osnovanih, embalažnih materialov za hrano, morajo še naprej stremeti k izboljšavam učinkovitosti, saj globalizacija in potrošnja vodita v vse večje zahteve po konzerviranju in zaščiti hrane med transportom ter skladiščenjem.

Ključne besede: trajnost, embalažni sistemi, okolje, zaščita hrane, embalažni materiali.

¹ dr.Urška Vrabič Brodnjak, University of Ljubljana, Faculty of Natural Sciences and Engineering, Aškerčeva 12, Ljubljana, e-mail: uraska.vrabic@ntf.uni-lj.si

1 INTRODUCTION

Packaging plays a crucial role in the food sector where safety, shelf life, protection from microbes, physical, chemical and environmental hazards during storage and transportation of the food are of the prime importance. Due to environmental concerns and climate changes petroleum-based packaging materials have resulted in the emergence of production of innovative packaging solutions using biopolymer-based materials (Tahimeher et al., 2021). So far, petroleum-based plastics such as polyethylene terephthalate, high- and low-density polyethylene, polyvinyl chloride, polypropylene and polystyrene have been widely used in the packaging industry due to their numerous advantages such as low cost and shelf life, light weight, excellent chemical and water resistance and suitable mechanical properties (Moeini et al., 2021). According to a European Commission report, only about 30% of 29,1 million tons of plastics waste is collected for the recycling (PwC report, 2021). As announced in April 2022, the EU Commission has finalised its scoping assessment to identify the priority list of waste streams for the development of further EU-wide end-of-waste criteria, as announced in the Circular Economy Action plan (EU Commission report, 2022). One of the top priorities are plastics, at which certain materials should be recycled/recovered from the plastic waste and these are polyethylene terephthalate; low- and high-density polyethylene; mixed plastics waste; polystyrene and expanded polystyrene and polypropylene plastic. On the other hand, there are bioplastics, produced from renewable resources and are being recognized as a solution to environmental concerns regarding waste. Reduced carbon dioxide production in bioplastics synthesis as well as the biodegradability, compostability of bioplastics are major advantages of their utilization (Liu et al., 2021). However, their relatively high price compared to conventional polymers, low mechanical properties, and high gas permeability hinder their widespread application for food packaging (Tahimeher et al., 2021). Currently, bioplastics still represent less than one percent of the more than 367 million tons of plastic produced annually (EU bioplastics report, 2021). However, in contrast to a slight decline in global plastics production, the market for bioplastics has grown steadily. This development is driven by increasing demand combined with the emergence of more sophisticated applications and products. Biodegradability is a property often sought in food packaging for perishable goods. Today, packaging materials and processes are extremely sophisticated and can be easily adapted to meet specific application and preservation requirements. When it comes to protecting food and extending shelf life, the performance of bioplastic packaging is comparable to, and sometimes better than, conventional packaging. By further improving barrier properties such as antimicrobial coating and other aspects, the bioplastics industry will soon be able to preserve food better than current packaging.

2 BIOPOLYMERS

The area under cultivation for the renewable raw materials needed to produce bioplastics is estimated to be about 0.70 million hectares in 2021, meaning 0.01 percent of the world's 5.0 billion hectares of agricultural land. Combined with the projected increase in bioplastics production in 2026, the land use share is still expected to be less than 0.06 percent. In relation to the available agricultural land, this share is minimal and therefore there is no competition between renewable raw materials for food and feed and the production of bioplastics (EU

bioplastics report, 2021).

Biopolymers can generally be classified based on their source:

- polymers taken/extracted directly from biomass, such as polysaccharides (starch, galactomannans, and cellulose) and proteins (gluten and casein).
- those that are the product of chemical synthesis from renewable, biologically derived monomers, such as polylactic acid (PLA), a thermoplastic aliphatic polyester derived from lactic acid monomers. The monomer is produced by fermentation of carbohydrate feedstock.
- the polymers developed by microorganisms such as polysaccharides (pullulan and gellan gum) and polyhydroxyalkanoates (PHA) (Pinto et al., 2021).

2.1 BIOPOLYMERS SUITABLE FOR FOOD PACKAGING

Biopolymer-based (proteins, aliphatic polyesters and polysaccharides) or the combinations have the ability to replace current synthetic-based plastics. Bioplastics account less than 1% of the plastics available on the market. The natural biopolymers find useful applications in food packaging, due to their advantages such as availability of renewable resources, biodegradability and biocompatibility and these properties promote ecological safety (Adeyeye et al., 2019). Flexible packaging solutions such as films and trays are particularly suitable for fresh produce such as fruits and vegetables, as they allow for a longer shelf life. The requirements for food packaging are as varied and numerous as there are different types of food. Table 1 shows biodegradable polymers used in food packaging and their applications.

Table 1: Biobased polymers used in food packaging (Porta et al., 2022; Adeyeye et al., 2019)

Group of polymers	Type of polymers	Food packaging products
Polysaccharides	Alginate, Chitin, Chitosan, Cellulose, Curdlan, Gellan, Pectin, Pullulan, Starch, Xantan	Mono or multilayer packaging films (usually in composition with other biobased polymers), trays, bottles, take-a-way dishes etc.
Proteins	Collagen, Gelatin, Whey protein, Soy protein, Zein	Edible films, multilayer packaging films, plates, trays.
Aliphatic Polyesters	Polylactic acid (PLA), Polyhydroxybutyrate (PHB)	Bags, bottles, plates, films.

The most widely studied biopolymers are polysaccharides such as starch, cellulose, chitosan, gelatin, etc. Cellulose and its derivatives are amongst the most abundant and widely used polymers in the packaging industry. There are many natural sources for cellulose, and they can also be obtained from bio-wastes and agricultural wastes. Thus, it is available in large quantity and is cost effective, compared to other biobased materials. However, despite these advantages, there are still some shortcomings that prevent wider commercialization of biopolymers in food packaging. These drawbacks are mainly due to material performance and price compared to their conventional counterparts, which remains a major challenge for bio-based polymers. To use biopolymers for packaging purposes, we need to overcome their brittleness, low heat distortion temperature, and high gas and vapor permeability. Table 2 presents the advantages and disadvantages of biobased food packaging materials (Porta et al., 2022, Lackner, 2015).

Table 2: General advantages and disadvantages of biobased food packaging materials

Advantages	Disadvantages
No oil drilling, coal mining or fracking are needed to make plant-based bioplastics.	Costly.
Plant raw materials are renewable and sustainable unlike petroleum which is a limited and finite resource.	Use of land, fertilizers, and pesticides for crops, potential food competition
The carbon footprint of manufacturing bioplastics is 75% lower than that of PET and PS alternatives	Narrow processing window (lower melting temperature)
Are non-toxic and won't leach chemicals into food or soil.	Brittleness
There is a variety of zero waste end of life options for bioplastics.	Thermal degradation

2.2 FUTURE PERSPECTIVE

As the amount of biodegradable packaging and biopolymers increases, there is expected to be a comparable increase in their use within markets that typically utilize plastic packaging. Future research on bio-based materials for food packaging must continue to improve the performance of these materials as globalization leads to greater demands for food preservation and transportation. When it comes to the actual application of these bio-based materials, several factors need to be considered. Suitable bio-based materials should be selected, and the properties must be further developed with physical or chemical processes according to the requirements of the storage conditions of each food for its packaging. There are still some obstacles that impede these biobased materials from commercialization (Wang et al., 2021):

- How to reduce the economic and energy costs of producing and processing these biobased materials, including extracting biopolymers, isolating biobased nanomaterials and natural fibers, and preparing biobased materials for food packaging.
- How to learn more about the biodegradation and sustainability of these materials to minimize their environmental impact after use.
- Active and intelligent packaging, as well as food packaging that uses nanotechnology, must be considered. Migration of substances into food must be quantitatively evaluated and should meet the requirements of the respective food safety regulations.

3 CONCLUSION

Since the main purpose of the packaging material is to protect the food it surrounds, bio-based solutions must be at least as good as conventional plastics. This leads to more complex biomaterials that contain active substances, biocomposites and nanosized particles. Such developments make biomaterials more suitable for combination with food processing technologies and better protect food with improved technical properties, but also increase complexity and cost and make them more durable and less biodegradable. They still need to be collected in waste streams and separated from conventional materials for controlled composting or recycling. Conventional plastics have a century's head start, but biomaterials are rapidly closing the gap, and development is moving us closer to a fully bio-based food packaging future.

4 REFERENCES

- Adeyeye, O. A., Sadiku, E. R., Babu Reddy, A., Ndamase, A. S., Makgatho, G., Sellamuthu, P. S., ... & Jamiru, T. 2019. The use of biopolymers in food packaging. In *Green Biopolymers and their Nanocomposites* (pp. 137-158). Springer, Singapore.
- EU bioplastics report 2021: <https://www.european-bioplastics.org/market/> (April 2022)
- EU Environment. The Commission starts to develop end-of-waste criteria for plastic waste: https://ec.europa.eu/environment/news/commission-starts-develop-end-waste-criteria-plastic-waste-2022-04-05_sl (April 2022)
- Lackner, M. 2015. Bioplastics-Biobased plastics as renewable and/or biodegradable alternatives to petroplastics. *Kirk-Othmer Encycl Chem Technol*: 1–41.
- Liu, Y., Ahmed, S., Sameen, D. E., Wang, Y., Lu, R., Dai, J., ... & Qin, W. 2021. A review of cellulose and its derivatives in biopolymer-based for food packaging application. *Trends in Food Science & Technology*, 112: 532-546.
- Moeini, A., Germann, N., Malinconico, M., & Santagata, G. 2021. Formulation of secondary compounds as additives of biopolymer-based food packaging: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 114: 342-354.
- Pinto, L., Bonifacio, M. A., De Giglio, E., Santovito, E., Cometa, S., Bevilacqua, A., & Baruzzi, F. 2021. Biopolymer hybrid materials: Development, characterization, and food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 28: 100676.
- Porta, R., Sabbah, M., & Di Pierro, P. (2022). Bio-Based Materials for Packaging. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(7), 3611.
- PwC Netherlands. Reports; Green Deal Monitor #5 - The EU's plastic waste challenge: <https://www.pwc.nl/en/topics/sustainability/green-deal-monitor/green-deal-monitor-5.html> (April 2022)
- Taherimehr, M., YousefniaPasha, H., Tabatabaekolour, R., & Pesaranhajiabbas, E. 2021. Trends and challenges of biopolymer-based nanocomposites in food packaging. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(6): 5321-5344.
- Wang, J., Euring, M., Ostendorf, K., & Zhang, K. 2021. Biobased materials for food packaging. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 7: 1-13.

KALJENJE: STARODAVNA METODA S SVETLO PRIHODNOSTJO V BIOLOŠKI TRANSFORMACIJI HRANIL

Andrej ŽIVKOVIĆ¹, Marjeta MENCIN², Petra TERPINC³ in Tomaž POŽRL⁴

Povzetek: Že od prazgodovine so semena pomemben del humane prehrane. Odlikuje jih velika energijska gostota in enostavno skladiščenje. Naraščajoče zanimanje za naravno transformacijo osnovnih surovin je obudilo uporabo nekaterih tradicionalnih tehnoloških načinov predelave. Med potrošniki se namreč uveljavljajo čim manj predelana živila, ki so proizvedena z minimalno vsebnostjo aditivov. Kaljenje žit je tradicionalna metoda, ki se že stoletja uporablja pri pripravi osnovnih surovin za proizvodnjo žitnih alkoholnih pijač. Zaradi dognanj o prehranski vrednosti kaljenih semen, se je zanimanje za njihovo vključevanje v živila izjemno povečalo. Poleg pozitivnega vpliva na zdravje in počutje posameznika, so funkcionalna živila zanimiva tudi s senzoričnega in gastronomskega vidika. Kaljenje spodbudi aktivacijo širokega spektra hidrolitičnih encimov, sintezo novih in aktivacijo tistih, ki so v nekaljenem semenu v neaktivnem stanju. Posledično pride do biološke transformacije makrohranil, kar poveča količino presnovnih produktov, istočasno pa sproži sintezo sekundarnih metabolitov. Pomemben vidik je tudi povečana prebavljivost osnovnih surovin in dostopnost posameznih hranil ter zmanjšana vsebnost antinutritivnih komponent. Med sekundarne metabolite štejemo različne skupine molekul, katerih nabor je s prehranskega stališča izrednega pomena. V nadaljevanju prispevka predstavljamo tehnologijo priprave kaljenih semen, s posebnim poudarkom na zagotavljanju varnosti njihovega uživanja, najpogosteje uporabljene skupine rastlin za proizvodnjo kalčkov in nekaj primerov aplikacije kaljenih semen v živilih. Zaradi mnogih pozitivnih lastnosti predstavlja kaljenje semen (kot samostojni postopek ali v kombinacijami z drugimi načini biotransformacije) enega bolj aktualnih področij raziskav.

Ključne besede: kaljenje, semena, sekundarni metaboliti, biotransformacije, dostopnost

GERMINATION: AN ANCIENT METHOD WITH A BRIGHT FUTURE IN BIOLOGICAL TRANSFORMATION OF NUTRIENTS

Abstract: Since prehistoric times, seeds have been an important part of the human diet. They are characterized by high energy density and easy storage. The growing interest in natural transforming the basic materials has awakened the use of some traditional technological processing methods. Foods produced with minimum additives and with less intensive processing are gaining ground among consumers. Moreover, functional foods possess a positive effect on health and well-being, and they are also interesting from a sensory and gastronomic point of view. Germination of cereals is a traditional process that has been used for centuries in the preparation of basic raw materials for the production of cereal alcoholic beverages. Due to the findings on the positive effects of germination of various seeds on their nutritional value, the interest in such products has increased enormously. Germination stimulates the activation of a variety of hydrolytic enzymes, the synthesis of new enzymes, and the activation of enzymes that are in an inactive state in seeds. As a result, a biological transformation of macronutrients takes place, increasing the amount of primary metabolites and simultaneously triggering the synthesis of secondary metabolites. An important aspect is also improved digestability of basic raw materials, the availability of individual nutrients and reduction of antinutritive components. Secondary metabolites include various groups of molecules, the amount of which is extremely important from a nutritional point of view.

¹ univ. dipl. inž. živ. tehnol., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: andrej.zivkovic@bf.uni-lj.si

² mag. inž. živ., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: marjeta.mencin@bf.uni-lj.si

³ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: petra.terpinc@bf.uni-lj.si

⁴ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tomaz.pozrl@bf.uni-lj.si

Following this, we present the technology of preparation of germinated seeds, with special emphasis on ensuring the safety of their consumption, the most commonly used groups of plants for sprout production and some examples of the application of germinated seeds in foods. Due to its many beneficial properties, seed germination (as a standard alone procedure or in combination with other methods of biotransformation) is one of the more current areas of research.

Key words: germination, seeds, secondary metabolites, biotransformations, accessibility.

1 UVOD

V zadnjem desetletju se je pri potrošnikih povečalo ozaveščanje o uživanju svežih in nepredelanih živil. Pojavljajo se zahteve po novih živilskih izdelkih, ki imajo pozitiven vpliv na zdravje in boljše počutje, istočasno pa izpolnjujejo gastronomske potrebe. Rastlinska semena so zaradi visoke energijske gostote in enostavnega skladiščenja že od prazgodovine pomemben del človeške prehrane. Poleg osnovnih hranil kot so ogljikovi hidrati, beljakovine in maščobe, užitna semena vsebujejo različne bioaktivne spojine z dokazanim pozitivnim vplivom na človekovo zdravje (Gan in sod., 2017). Kaljenje semen se že vrsto let uporablja kot zelo uporabna in poceni metoda za povečanje prehranske vrednosti surovih semen. V svetovnem merilu se poraba kaljenih semen neprestano povečuje. Pri potrošnikih velja povečano zanimanje za naravno, »zdravo« in poceni hrano, kalčki pa spadajo v to kategorijo zaradi dobrega razmerja med makrohranili in povečano vsebnostjo mikrohranil, vitaminov in mineralov (Morabito, 2014). Nedavne študije nakazujejo, da se med kaljenjem poveča vsebnost sekundarnih metabolitov in s tem izboljša prehranska vrednost semen. Med kaljenjem se v zrnu dogajajo obsežne reakcije, ki vključujejo razgradnjo celičnih sten, endosperma, razpad beljakovinskega matriksa, nastanek hidrolitičnih encimov ter razgradnjo rezervnih snovi. Novonastali encimi katalizirajo celo vrsto metabolnih procesov, med katerimi razgrajujejo makrohranila (škrob, beljakovine in maščobe) do svojih osnovnih sestavnih elementov (enostavni sladkorji, aminokisliline in maščobne kisline). S prehranskega vidika lahko kaljenje obravnavamo kot neko vrsto začetno fazo prebave, ki pomaga razgraditi hranila z veliko molsko maso na njihove sestavne dele. Po drugi strani, čeprav so makromolekule delno razgrajene, kalčke uživamo v začetni fazi rasti, ko je njihova hranilna vrednost še zelo visoka. Zato predstavlja kaljenje semen uporabno in poceni metodo za razvoj funkcionalnih živil (Hübner in Arendt, 2013).

2 METABOLNI PROCESI MED KALJENJEM

Kalčki so mlade rastline, ki so ob ugodnih pogojih skalile iz vitalnih semen. Proces kaljenja se začne takrat, ko je seme v okolju s takšno koncentracijo vlage, da se lahko začne proces migracije vode iz okolja v notranjost semena. Hitrost vpijanja vode je odvisna od količine dostopne vode in od same strukture in velikosti semena. Ko seme doseže zadostno vsebnost vode, preide v fazo intenzivnih metabolnih sprememb, ki dosežejo svoj maksimum ob doseženi fotosintezni aktivnosti rastline. Za te procese in rast kalčka so potrebne velike količine energije, ki se v semenu nahajajo v obliki različnih rezervnih snovi. V začetni fazi kaljenja se v semenu aktivirajo endogeni encimi, med katerimi so najpomembnejši citolitični encimi, amilaze, proteaze in lipaze (Nelson in sod., 2013). Istočasno med kaljenjem nastopi sinteza sekundarnih metabolitov, ki imajo pomembno funkcijo pri razvoju nove rastline.

2.1 OGLJIKOVI HIDRATI

Škrob predstavlja osnovno rezervno snov v večini rastlinskih semen. Že takoj po bioaktivaciji semena je opaziti povečano vsebnost prostih sladkorjev in dekstrinov ter zmanjšanje vsebnosti škroba, kar je posledica sinteze in aktivacije različnih amilaz (Ghavidel in Prakash, 2007).

Škrob je v semenih lociran v posebnih celičnih organelih (amiloplastih) in se razgrajuje v več korakih z delovanjem različnih encimov. Na molekulo škroba v začetku procesa deluje encim α -amilaza, ki omogoča nastanek topnih oligosaharidov, v nadaljevanju β -amilaza, ki cepi oligosaharide na maltozo, ki jo naprej α -glukozidaza cepi do glukoze. Prosta glukoza se nato porablja za zagotavljanje potrebne energije v procesu kaljenja, kot substrat za sintezo novih celičnih struktur ali kot prekursor v sintezi nekaterih bioaktivnih spojin (askorbinska kislina) (Ghavidel in Prakash, 2007).

2.2 LIPIDI

Triacilgliceroli so poleg škroba najpomembnejši vir ogljika in energije v semenih. Vsebnost maščob v semenih je zelo različna. Pri nekaterih oljnicah lahko doseže celo 60 % skupne mase semena, pri žitih pa se lipidi nahajajo večinoma samo v kalčku in skupno predstavljajo le nekaj odstotkov. Triacilgliceroli so zgrajeni iz treh maščobnih kislin, ki so z estrskimi vezmi vezane na glicerol in so molekule z izjemno visoko energijsko gostoto. Pri vseh semenih je značilno, da se vsebnost triacilglicerolov med kaljenjem zmanjšuje, povečuje pa se vsebnost prostih maščobnih kislin, glikolipidov in fosfolipidov. Izkoriščanje lipidnih zalog v semenu zahteva zelo kompleksne metabolne procese. Že med namakanjem se v semenu aktivirajo različni encimi, ki sodelujejo v razgradnji rezervnih snovi, med njimi so tudi različne lipaze. Maščobno kislinska sestava se med kaljenjem prav tako spreminja. Zabeleženo je, da se med kaljenjem zmanjšuje vsebnost nasičenih maščobnih kislin, posledično se povečuje vsebnost enkrat nenasičenih in večkrat nenasičenih maščobnih kislin (Wanasundara in sod., 1999).

2.3 BELJAKOVINE

V večini semen beljakovine niso primarni vir energije pri razvoju rastline. Rastline akumulirajo beljakovine med razvojem semena in večino teh rezervnih beljakovin predstavljajo globulini pri dikotiledonskih rastlinah ali prolamini pri žitih, manjši del pa predstavljajo fiziološko pomembne beljakovine, ki opravljajo različne funkcije med razvojem rastline (Müntz in sod., 2001). Med kaljenjem se rezervne beljakovine razgrajujejo do oligopeptidov in prostih aminokislin. Wanasundara in sod. (1999) so raziskovali spremembo dušikovih spojin v semenih lana med kaljenjem. V osmih dneh kaljenja se vsebnost dušikovih spojin ni bistveno spremenila, čeprav se je suha snov v kalčku zmanjšala za 35 %. Opaziti je bilo spremembo razmerja med beljakovinskim in nebeljakovinskim dušikom. V surovem semenu je bilo 9 % nebeljakovinskega dušika, med kaljenjem se je ta vsebnost povečala na 33,5 %. Prav tako se je povečala vsebnost prostih aminokislin. Podobne rezultate so zabeležili tudi pri leči (Rožan in sod., 2001).

2.4 SEKUNDARNI METABOLITI

S kaljenjem se prav tako začne sinteza sekundarnih metabolitov; njihova funkcija je zaščita mlade rastline med procesom kaljenja in v začetni fazi rasti, ko je ta najbolj ranljiva (Gan in sod., 2017). Med sekundarne metabolite štejemo širok nabor različnih skupin molekul, ki niso del primarnega metabolizma, vendar na različne načine pomagajo pri prilagoditvi rastline na okolje in s tem omogočajo njeno rast, razmnoževanje in preživetje v različnih pogojih.

Pomembne skupine sekundarnih metabolitov v kaljenih semenih so: fenolne spojine, vitamini, glukozinolati, neproteinogene aminokisliline, alkaloidi, cianogeni glikozidi, fitinska kislina, saponini in nekatere beljakovine (encimski inhibitorji, lektini) (Marton in sod., 2010). S prehranskega stališča je nabor in vsebnost sekundarnih metabolitov izrednega pomena. Prav nabor sekundarnih metabolitov določa ali je rastlina ali del rastline primeren za uživanje ali ne (Marton in sod., 2010; Singh in Sharma, 2017).

2.4.1 Fenolne spojine

Fenolne spojine so rastlinski sekundarni metaboliti, ki ščitijo rastlino pred škodljivimi vplivi okolja kot so UV žarki, bolezni, oksidativni stres in škodljivci (Harborne in Williams, 2000). Poznanih je veliko spojin, ki jih štejemo med fenolne spojine: benzokinoni, fenolne kisline, naftokinoni, ksantoni, stilbeni, flavonoidi, lignani, lignini, kumarini in kondenzirani tanini. Vsem je skupno, da imajo vsaj en benzenski obroč na katerem je ena ali več hidroksilnih skupin. V semenih in kalčkih so najpogosteje določene fenolne spojine fenolne kisline in flavonoidi. V primerjavi s celotno rastlino, je vsebnost fenolnih spojin po navadi večja v semenih, med kaljenjem pa se njihova vsebnost še povečuje. Prav tako se spreminja razmerje med fenolnimi spojinami, ki se v topni obliki nahajajo v vakuoli in tistimi, ki so v netopni obliki del celične stene. Povečanje koncentracije prostih fenolnih spojin je posledica transformacije in sprostitve vezanih fenolov, kot tudi sinteze »de novo« (Mencin in sod., 2020; Tang in sod., 2014; Živković in sod., 2021).

2.4.2 Vitamini

Vitamini so organske spojine, ki so široko razširjene v rastlinskem svetu in igrajo pomembno vlogo v človeški prehrani. Najpogosteje jih delimo glede topnosti na vodotopne (vitamin C in vitamini skupine B) in topne v maščobah (A, D, E in K). Kaljenje in prvi dnevi razvoja rastline, pred pričetkom fotosintezne aktivnosti, so najbolj kritično obdobje v življenjskem ciklu rastline. Takrat se rastlina prehranjuje heterotrofno in je popolnoma odvisna od zaloga hranil in od procesov β -oksidacije maščobnih kislin in glikolize. Ta procesa sta izjemno aktivna med kaljenjem in pri tem nastaja veliko oksidacijskih produktov in reaktivnih kisikovih zvrsti (Sattler in sod., 2013).

Nedavne študije so pokazale, da lahko kaljenje pozitivno vpliva na vsebnost nekaterih vitaminov. Akumulacija vitaminov v semenih med kaljenjem je najpogosteje posledica »de novo« sinteze, v semenih so namreč koncentracije večine vitaminov zelo nizke ali celo pod mejo detekcije (Gan in sod., 2017).

Številne raziskave potrjujejo porast vitamina C med kaljenjem, kot primer vzemimo ajdo (3 kratno povečanje) (Lin in sod., 2008), mungo fižol (13 do 24-kratno povečanje po petih dneh) (Gan in sod., 2016), lan (22-kratno povečanje po osmih dneh) (Wang in sod., 2015). Slednje je v skladu tudi z visoko aktivnostjo encimov, ki sodelujejo pri sintezi vitamina C (Wheeler in sod., 1998).

Vpliv kaljenja na vsebnost tokoferolov zavisi od vrste semena. Pri nekaterih vrstah je zabeleženo nekajkratno povečanje vsebnosti tokoferolov, pri nekaterih pa se koncentracija med

kaljenjem celo zmanjša. Pri večini semen je kot glavni izomer zastopan γ -tokoferol. Več raziskav je opozorilo, da se med kaljenjem spreminjajo razmerja med izomeri in da se γ -tokoferol transformira v α -tokoferol. Ta ima bistveno močnejši antioksidativni potencial *in vivo*, poleg tega predstavlja najbolj pomembno obliko vitamina E (Gan in sod., 2017).

2.4.3 γ -aminobutanojska kislina

γ -aminobutanojska kislina (GABA, ang: γ -aminobutyric acid) je neproteinogena aminokislina, ki je prisotna v rastlinskem in živalskem svetu. Pri sesalcih deluje kot pomemben inhibitorski živčni prenašalec, regulira delovanje kardiovaskularnega sistema in uravnava sproščanje inzulina v pankreasu. Kaljenje lahko vpliva na povečanje vsebnosti GABA v mnogih užitnih semenih (Gan in sod., 2017). V rastlinah se GABA sintetizira iz L-glutaminske kisline s pomočjo encima glutamat dekarboksilaze (GAD) (Shelp in sod., 1999). Aktivnost encima GAD se značilno poveča v začetku procesa kaljenja in posledično se med kaljenjem značilno povečuje tudi vsebnost GABA (Gan in sod., 2017).

2.4.4 Glukozinolati

Glukozinolati so skupina sekundarnih metabolitov, ki so značilni za družino križnic (*Brassicaceae*). Kemijsko gledano so anioni, ki jih uvrščamo med tioglikozide. Do zdaj je bilo v naravi identificiranih in iz rastlinskih tkiv izoliranih več kot 130 različnih glukozinolatov z zelo različno kemijsko strukturo (Halkier, 2016). Vsi imajo skupno osnovno strukturo, ki vsebuje β -tioglukozidno skupino, žveplov oksid in različne stranske verige. Med mnogimi različnimi rastlinskimi vrstami, katerih semena se uporabljajo za proizvodnjo kalčkov, križnice zavzemajo zelo pomembno mesto prav zaradi velike vsebnosti glukozinolatov, ki kalčkom dajejo značilno aromo. Čeprav vsebnost glukozinolatov med kaljenjem semena upada, v primerjavi z vsebnostjo v nekaljenem semenu, je ta še vedno veliko večja kot pri odrasli rastlini (Cartea in Velasco, 2008).

2.5 ANTINUTRIENTI

Čeprav je med sekundarnimi metaboliti veliko takšnih, ki so izjemno pomembni v človeški prehrani, pa ima veliko spojin tudi antinutritivno delovanje ali so celo strupene za človeški organizem. Antinutrienti so snovi, ki negativno vplivajo na presnovo in absorpcijo hranil. Kvantitativno in kvalitativno gledano, vsebujejo rastlinska semena največje količine antinutrientov izmed vseh živil (fitinska kislina, encimski inhibitorji, lektini, ipd.). Razlog temu je zaščita semenskega materiala pred zaužitjem ali presnovo (v primeru zaužitja) rastlinojedih živali. Kaljenje je med drugim učinkovita metoda za zmanjšanje nekaterih antinutritivnih spojin v semenih (Azeke in sod., 2011).

2.5.1 Fitinska kislina

Fitinska kislina je glavni vir fosforja v rastlinskih semenih. Akumulacija se pospešuje z zorenjem semena; v stročnicah, žitih, oreščkih in oljnicah je od 60 do 90 % fosforja vezanega v obliki fitata. V večih raziskavah so določali vpliv kaljenja na aktivnost fitaz in vsebnost fitinske kisline med kaljenjem (Liang in sod., 2008; Gupta in sod., 2015; Kumar in Anand,

2021). Encimska aktivnost fitaz v suhem semenu je zanemarljiva, vendar se takoj po bioaktivaciji, encimska aktivnost poveča in doseže maksimalno vrednost, odvisno od vrste semena, 4 do 7 dni po začetku kaljenja. Po tem začne encimska aktivnost počasi upadati. Povečana encimska aktivnost fitaz vpliva na zelo hitro razgradnjo fitinske kisline v semenih in posledično na povečanje vsebnosti prostega fosforja že v prvih 24 urah kaljenja (Azeke in sod., 2011).

2.5.2 Lektini

Lektine definiramo kot beljakovine neimunskega porekla z molsko maso med 60 in 100 kDa z afiniteto do ogljikovih hidratov ter s sposobnostjo aglutinacije celic in/ali obarjanja polisaharidov. Zaradi visoke afinitete do ogljikovih hidratov, imajo pogosto nase vezane molekule sladkorjev in jih štejemo med glikoproteine. Veliko lektinov ima škodljivo ali celo strupeno delovanje na človeka in živali. V prebavnem traktu se lahko vežejo na epitelne celice ter povzročajo vnetja, motnje prebave ter nepravilen razvoj mikrovilov (Vasconcelos in Oliveira, 2004). Lektini se predvsem nahajajo v skladiščnih tkivih, to je semenih in gomoljih. Med razvojem semen se vsebnost lektinov povečuje in v nekaterih primerih lahko predstavlja do 10 % skupnih beljakovin, čeprav so večinoma v koncentracijah med 0,1 %-1 % (Matucci in sod., 2004).

Med kaljenjem, ko se začne intenzivna aktivacija različnih proteaz, ki razgrajujejo rezervne beljakovine so med drugim tarča tudi lektini (Sharma in Sahni, 2021).

2.5.3 Inhibitorji proteaz

Inhibitorji proteaz so skupina beljakovin, ki imajo velik vpliv na dostopnost, prebavljivost in prehransko vrednost beljakovin v hrani. Med kaljenjem je razgradnja rezervnih beljakovin nujna zaradi velike potrebe po peptidih in aminokislinah v zgodnji fazi razvoja rastline. Prav to je razlog, da se vzporedno s povečanjem encimske aktivnosti, aktivnost različnih encimskih inhibitorjev, med njimi tudi proteaznih, intenzivno zmanjšuje med kaljenjem (Vagadia in sod., 2017).

2.5.4 Inhibitorji amilaz

Inhibitorji amilaz so beljakovine, ki inhibirajo delovanje pankreasnih amilaz, bakterijskih amilaz ali amilaz insektov. So različne strukture in velikosti (12,5 kDa, 24 kDa in 60 kDa). Delujejo tako, da tvorijo komplekse z α -amilazo in jo inaktivirajo ter na ta način zmanjšajo prebavljivost škroba. Rastlinski inhibitorji amilaz kažejo zelo dobro učinkovitost pri inhibiranju α -amilaz insektov, kar kaže na pomembno zaščitno vlogo (Wisessing in Choowongkamon, 2012).

Med kaljenjem se aktivirajo encimi, ki zmanjšajo aktivnost inhibitorjev amilaz. V nasprotnem primeru bi prisotnost encimskih inhibitorjev negativno vplivala na presnovo rezervnih snovi (škroba) med procesom kaljenja (Fardet, 2010; Hemalatha in sod., 2016).

3 NAJPOGOSTEJE UPORABLJENA SEMENA ZA KALJENJE

3.1 ŽITA

Žita so najpogosteje uporabljena rastlinska semena, ki jih predelujemo v »kalčke«. Človek že stoletja izkorišča metabolne spremembe med kaljenjem žitnih semen, tako za proizvodnjo slada kot drugih surovin za proizvodnjo različnih fermentiranih in nefermentiranih pijač. S stališča tehnologije alkoholnih pijač je glavni namen kaljenja oz. slajenja žit, aktivacija in sinteza encimov, ki bodo razgradili celične strukture in rezervne snovi v zrnu med procesom drozganja. Spremembe, ki se dogajajo med kaljenjem žitnega zrna so razpad celičnih sten v endospermu ter razgradnja in utekočinjenje škroba in beljakovin (Singh in Sharma, 2017).

Poleg endosperma, ki predstavlja zalogo hranil, pomemben del žitnega zrna predstavlja kalček. Žitni kalček ali embrio ima majhno vsebnost škroba, vendar je bogat s proteini (30 – 40 %), maščobami (12 – 20 %), minerali (5-10 %) in sladkorji (12 – 17 %). Med kaljenjem se kalček podaljšuje in v njem nastajajo in se sproščajo rastni hormoni – giberelini ter kompleksne mešanice hidrolitičnih encimov, ki sodelujejo pri različnih metabolnih procesih med razvojem nove rastline (Nayak in sod., 2015; Gan in sod, 2017).

3.2 PSEVDOŽITA

Med psevdožita štejemo vse ne-travne rastline, katerih semena z veliko vsebnostjo škroba uporabljamo na enak način kot klasična žita. Najbolj znana psevdožita so kvinoja, ajda in amarant. Zgradba semena psevdožit se zelo razlikuje od klasičnih žit. Pri kvinoji in amarantu je kalček ovalne oblike, obkroža endosperm po celotnem robu semena in je v primerjavi z endospermom razmeroma velik. Zaradi visokega deleža kalčka v semenu, imajo psevdožita zelo visoko prehransko vrednost v primerjavi s klasičnimi žiti. Razen škroba, ki je glavni vir hranil, psevdožita predstavljajo pomemben vir kakovostnih beljakovin, prehranske vlaknine in lipidov s prevlado nenasičenih maščobnih kislin. Prav tako vsebujejo velike koncentracije pomembnih mikrohranil, kot so vitamini, minerali in različne bioaktivne spojine. Poleg vsega naštetega, psevdožita ne vsebujejo glutena in so primerna alternativa za klasična žita v dieti bolnikov s celiakijo (Alvarez-Jubete in sod., 2010).

3.3 STROČNICE

Stročnice so rastline iz družine metuljnic, ki so poleg žit najpogosteje uporabljena semena v humani prehrani. Zaradi ugodne sestave hranil in velike vsebnosti beljakovin so stročnice zelo pomembna skupina živil. Beljakovinska sestava stročnic dopolnjuje beljakovinsko sestavo žit in v kombinaciji lahko zadostijo potrebe po beljakovinah v prehrani človeka, še posebej v državah v razvoju s kroničnim pomanjkanjem beljakovin živalskega izvora. Več študij je dokazalo pozitiven vpliv, ki ga imajo stročnice v prehrani diabetikov, oseb s čezmerno telesno maso, srčnih bolnikov, itn. (Cid-Gallegos in sod., 2020; Nöthlings in sod., 2008). Po drugi strani je uporaba stročnic v prehrani omejena s prisotnostjo različnih antinutrientov kot so inhibitorji proteaz, lecitin, fitinska kislina, saponini ipd. Kaljenje stročnic je dokazano zelo učinkovita metoda za zmanjšanje vsebnosti antinutrientov in povečanje vsebnosti bioaktivnih spojin (Aguilera in sod., 2014).

3.4 KRIŽNICE

Križnice ali kapusnice so velika skupina rastlin in med njimi je veliko vrst, ki se jih goji za proizvodnjo hrane. Prehransko pomembni so listi (zelje, ohrovt), cvetovi (cvetača, brokoli), korenine (različne vrste repe) in semena (gorčica, oljna ogrščica, riček). Za vse križnice je značilno, da poleg običajnih bioaktivnih spojin, kot so polifenoli, vitamini, flavonoidi, vsebujejo še velike koncentracije glukozinolatov z antikancerogenim delovanjem. V rastlinah glukozinolati delujejo kot repelent proti insektom in rastlinojedim živalim, saj se sproščajo ob poškodbah tkiva (Martínez-Villaluenga in sod., 2008).

4 TEHNOLOGIJA PRIDELAVE

Tehnologija pridelave kalčkov se razlikuje v odvisnosti od rastlinske vrste iz katere pripravljamo kalčke in od namena uporabe končnega izdelka. Pri vseh tehnologijah se uporablja nekaj osnovnih procesov kot so: razkuževanje semen, namakanje z namenom vpijanja zadostne količine vode ter inkubacija in kaljenje semen ob predpisanih pogojih. Izbrani pogoji kaljenja (čas, temperatura, relativna vlažnost, osvetlitev) so lahko zelo različni (Xu in sod., 2009; Chavarín-Martínez in sod., 2019; Paucar-Menacho in sod., 2017; Kim in sod., 2018; Xiang in sod., 2017). Za uspešno izveden proces kaljenja je potrebno posvetiti pozornost tudi predpripravi in skladiščenju semen. Semena je treba pred predelavo skladiščiti v čistem in suhem prostoru brez glodavcev in insektov. Če se skladišči dalj časa, je potrebno zagotoviti pogoje z nizko zračno vlago in ustrezno temperaturo (Yang in sod., 2001).

4.1 NAMAKANJE IN RAZKUŽEVANJE SEMEN

Da bi seme začelo kaliti, mora vsebovati zadostno količino vode. To dosežemo z namakanjem v vodi toliko časa, dokler vsebnost vode v semenu ne doseže zelene vrednosti. Iz našega raziskovalnega dela smo ugotovili, da je pri namakanju potrebno zagotoviti optimalne pogoje, ki so različni v odvisnosti od vrste semena in namena uporabe, vendar je na splošno potrebno zagotoviti temperaturo med 15 °C in 25 °C in zadostno količino kisika (Mencin in sod., 2020; Živković in sod., 2021). Čas namakanja semen je lahko zelo različen, nekatera semena s tanko in prepustno ovojnico zelo hitro vpijejo vodo in dosežejo optimalno vsebnost vode že v 2 – 3 h, določena semena pa za namakanje rabijo več kot 24 ur. Hitrost vpijanja vode je odvisna od večih faktorjev, najpomembnejši so velikost in oblika semena (razmerje med površino in maso), debelina in prepustnost ovojnice za vodo ter anatomija semena (Xu in sod., 2009).

V vseh živilih, bodisi rastlinskega ali animalnega izvora, ki jih uživamo v svežem stanju in brez predhodne toplotne obdelave, je velik problem prisotnost patogenih mikroorganizmov. Kalčki so še posebno rizični zaradi specifičnega načina pridelave, ki je optimalen za rast in razmnoževanje mnogih vrst mikroorganizmov. Zaradi ohranitve hranil se ponavadi uživajo v sveži obliki in zaradi tega je mikrobiološka neoporečnost izrednega pomena.

Mikrobiološko breme surovih semen je lahko zelo različno, vendar je navadno med 3 in 6 log CFU/g. Med kaljenjem se to število mikroorganizmov poveča za 2 do 3 log CFU/g. Treba je omeniti, da samo povečano število mikroorganizmov v kalčkih ne predstavlja tveganja za varnost živila, temveč prisotnost patogenih mikroorganizmov in njihovih toksičnih produktov

(Yang in sod., 2013).

V namen zmanjšanja števila mikroorganizmov se uporabljajo različne fizikalne in kemijske metode. Najpogosteje se za razkuževanje uporabljajo kemična sredstva, kot so na primer natrijev hipoklorit (NaOCl), kalcijev hipoklorit ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$), vodikov peroksid (H_2O_2) ali 70 % etanol, ki se jih dodaja med samim postopkom namakanja. Na industrijski ravni se v ta namen uporabljajo različno veliki cilindrokonični tanki, ki omogočajo enostavno polnjenje in praznjenje. Kot fizikalne metode za sterilizacijo semen se uporablja tretiranje semen z visokimi tlaki in kratkotrajna obdelava s povišano temperaturo (Yang in sod., 2013; Fink, 2020; Fransisca in sod., 2011).

Za pridelavo mikrobiološko neoporečnih kalčkov in preprečevanje je potrebno tekom celotnega proizvodnega procesa pozorno spremljati vse kritične procese in redno vzorčiti in spremljati prisotnost mikroorganizmov. Vsekakor pa obdelava semen bodisi s kemičnimi ali fizikalnimi postopki vpliva na kaljivost. Trenutno še ni poznana metoda, ki bi odstranila vse patogene mikroorganizme iz vhodne surovine in hkrati ohranila zadostno kaljivost semen, zato je potrebno med proizvodnjo zmanjšati tveganje za naknadno kontaminacijo in narediti vse za dosego varnega izdelka (Sirohi in sod., 2021).

Za preprečevanje okužb pri kalčkih je pomembno upoštevati nekaj osnovnih pravil:

- semena za kaljenje je treba pridelovati z upoštevanjem dobre kmetijske prakse,
- s semeni je potrebno rokovati in jih skladiščiti na takšen način, da je možnost kontaminacije čim manjša,
- pred kaljenjem je treba opraviti kakovostno razkuževanje semen,
- med kaljenjem je treba spremljati mikrobiološko sliko in prisotnost patogenih mikroorganizmov (Machado-Moreira in sod., 2019; Miyahira in Antunes, 2021).

4.2 KALJENJE

Po doseženi zadostni vsebnosti vode je potrebno semena prestaviti v posebne komore ali inkubatorje, ki zagotavljajo primerne pogoje za nadaljevanje kaljenja. Za kaljenje se uporabljajo komore različnih oblik in velikosti. Pomembno je, da omogočajo enostavno odvajanje odvečne vode, dobro aeracijo, da omogočajo enostavno čiščenje in da so narejene iz takšnih materialov, ki so odporni na korozijo. Velikost komore je odvisna od kapacitet proizvodnega obrata, je pa potrebno pri konstruiranju upoštevati dejstvo, da se med kaljenjem volumen kalčkov lahko poveča tudi 6-krat v primerjavi s suhim semenom (Liu in sod., 2022).

Osnovni pogoji, ki jih je potrebno zagotoviti, so temperatura, vlaga in zračenje. Kaljenje, razen nekaterih izjem, po navadi poteka v temi pri temperaturi 15 – 25 °C. Vodo je potrebno dodajati vsaj enkrat v 24 urah in to na takšen način, da je zagotovljeno ustrezno odcejanje odvečne vode. V nasprotnem primeru bi se semena ki so v celoti potopljena v vodi, zadušila in ne bi kalila. Z namakanjem in izpiranjem semen med kaljenjem prav tako izpiramo metabolite, ki nastajajo med kaljenjem, zmanjšujemo število mikroorganizmov ter z odstranjevanjem topnih hranil preprečujemo njihovo rast (Xu in sod., 2009; Liu in sod., 2022).

5 MOŽNOSTI UPORABE KALJENIH SEMEN V ŽIVILSKIH IZDELKIH

Obogatitev živil s koristnimi sestavinami se pogosto uporablja za povečanje prehranske in celokupne kakovosti hrane. Da bi dosegli prehranske in zdravstvene koristi za potrošnike, morajo biti vplivi na zdravje znanstveno utemeljeni.

Razen v klasični surovi obliki, kalčke lahko uporabljamo na različne načine. Kaljena žita se poleg tradicionalne uporabe v proizvodnji alkoholnih pijač lahko dodaja v obliki polnozrnate moke v pekovske izdelke kot dodatek za izboljšanje lastnosti moke ali pa kot funkcionalni dodatek za izboljšanje prehranske vrednosti (Angelino in sod., 2017). Nekateri metaboliti, ki nastajajo predvsem med procesom kaljenja oljnic (proste maščobne kisline, mono- in digliceridi, fosfolipidi), so obetavna zamenjava za emulgatorje in se lahko uporabijo za izboljšanje reoloških lastnosti živil, obenem pa izpolnjujejo zahteve za t.i. »clean label« kategorijo dodatkov (Jain in Badve, 2022). Nadalje je bilo ugotovljeno (Atudorei in Codinã, 2020), da bi se sestavine z veliko vsebnostjo polifenolov lahko uporabljalo tudi kot naravna barvila, konzervanse in antioksidante in bi tako bile dobra alternativa za nadomestitev sintetičnih aditivov.

Izdelki iz žit, ki v razvitih državah predstavljajo več kot 50 % celotnega energijskega vnosa, zaradi svoje razširjenosti veljajo za najprimernejša živila za obogatitev s koristnimi sestavinami (Akhtar in sod., 2011). Večina teh izdelkov je narejenih iz rafinirane pšenične moke, ki je revna z bioaktivnimi spojinami. Eden od načinov za povečanje zdravju koristnih spojin v pekovskih izdelkih temelji na obogatitvi moke s funkcionalnimi sestavinami. Trend prihodnosti je tako obogatitev kruha z moko iz kaljenih žit in psevdožit (Dziki in sod., 2014). Kruh z veliko vsebnostjo antioksidantov bi bil zagotovo dobro sprejet pri potrošnikih, saj bi pomagal ohranjati in izboljševati zdravje ter ščititi pred številnimi boleznimi na naraven način.

Gawlik-Dziki in sod. (2017) so pri pripravi kruha nadomestili 5, 10, 15 in 20 % pšenične bele moke z moko iz kaljenih pšeničnih semen. Dodatek kaljene moke je pšenični kruh znatno obogatil s fenolnimi kislinami, zlasti z vanilno, siringično, *p*-kumarno, *trans*-ferulno in sinapinsko kislino. Prav tako je imela zamenjava pšenične s kaljeno moko do 10 % dober vpliv na senzorično kakovost kruha (Gawlik-Dziki in sod., 2017). Levent in sod. (2015) so poročali, da je dodatek 10 % kaljene čičerikine moke izboljšal lastnosti kruha, verjetno zaradi povečanja hidrolitične encimske aktivnosti in topnih sestavin. Dodatek večje količine (20 %) kaljene čičerikine moke je vplival na zmanjšanje volumna kruha ter na njegovo barvo. Povečana encimska aktivnost in posledično povečana vsebnost prostih sladkorjev in aminokislin po mnenju avtorjev omenjene raziskave vpliva na razvoj intenzivnejše barve med procesom toplotne obdelave in razvoj okusa pečenih izdelkov.

Zaporedna uporaba kaljenja in fermentacije lahko biološko razpoložljivost vezanih fenolnih spojin še dodatno izboljša. Narejenih je bilo tudi nekaj študij na področju kombiniranja fermentacije in kaljenja različnih žit. Kaljenje prispeva k večji količini fermentacijskih virov (sladkor/dušik), hkrati pa kaljenje in fermentacija pripomoreta k večji koncentraciji in aktivnosti citolitičnih encimov. Mehanizem, s katerim povečamo biološko razpoložljivost in dostopnost nevezanih fenolnih spojin s pomočjo fermentacije, vključuje tako encime iz žitnih

zrn kot mikroorganizmov. Literaturni viri kažejo na sinergizem pri sočasni uporabi različnih biotehnoloških procesov. Katina in sod. (2007) so poročali, da je fermentacija kaljenih rženih semen z uporabo kvasovke (*Saccharomyces cerevisiae*) znatno povečala vsebnost skupnih fenolnih kislin in sicer za kar 110 % (zgolj s kaljenjem je bilo povečanje 87 % v primerjavi z nekaljenimi zrnji). Fermentacija je bistveno pripomogla k povečanju vsebnosti prostih fenolnih kislin, zabeležili pa so tudi povečanje vsebnosti zaestrenih, glikoziliranih in vezanih fenolnih kislin. Konopka in sod. (2014) so ugotovili, da je fermentacija s kvasovkami 10-krat povečala vsebnost proste ferulne kisline, uporaba kislega testa pa 11-krat pri pšenici in rži. Opozorimo še na izsledke nedavne raziskave, ki so jo izvedli Montemurro in sod. (2019), ta je pokazala, da fermentacija kaljenih zrn pšenice, ječmena in kvinoje s kislim testom ne vpliva zgolj na povečanje vsebnosti fenolnih spojin, ampak tudi na povečanje vsebnosti peptidov, prostih aminokislin, γ -aminomaslene kisline ter zmanjša koncentracijo fitinske kisline, kondenziranih taninov, rafinoze in inhibitorjev tripsina. Še več, s tako pripravljenimi zrnji so obogatili kruhe iz pšenične moke in uspeli razviti senzorično sprejemljive izdelke z veliko prebavljivostjo proteinov in majhno dostopnostjo škroba.

6 ZAKLJUČEK

Na splošno, je kaljenje zelo enostaven, poceni in okolju prijazen način pridelave kakovostne hrane in izboljšanja že obstoječe surovine v kratkem času. Žal se trenutno na industrijskem nivoju prideluje le nekaj vrst kalčkov (soja, mungo fižol, arašidi in nekatere križnice), zato je za namen pridelave kalčkov smiselno povečati število rastlinskih vrst in izkoristiti prednosti, ki jih ponuja kaljenje ter vpeljati tehnologijo kaljenja kot pomembno vejo živilsko-predelovalne industrije.

7 VIRI

- Aguilera Y., Liébana R. Herrera, T. Rebollo-Hernanz M., Sanchez-Puelles C., Benítez V., Martín-Cabrejas M. A. 2014. Effect of illumination on the content of melatonin, phenolic compounds, and antioxidant activity during germination of lentils (*Lens culinaris* L.) and kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(44), 10736–10743. <https://doi.org/10.1021/jf503613w>
- Akhtar S., Anjum F. M., Anjum M. A. 2011. Micronutrient fortification of wheat flour: Recent development and strategies. *Food Research International*, 44(3), 652–659. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.033>
- Alvarez-Jubete L., Arendt E. K., Gallagher E. 2010. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 21(2), 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>
- Angelino D., Cossu M., Marti A., Zanoletti M., Chiavaroli L., Brighenti F., Rio D. D., Martini D. 2017. Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: A review. *Food & Function*, 8(7), 2368–2393. <https://doi.org/10.1039/C7FO00574A>
- Atudorei D., Codină G. G. 2020. Perspectives on the use of germinated legumes in the bread making process, A Review. *Applied Sciences*, 10(18), 6244. <https://doi.org/10.3390/app10186244>
- Azeke M. A., Egielewa S. J., Eigbogbo M. U., Ihimire, I. G. 2011. Effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of rice (*Oryza sativa*), maize (*Zea mays*), millet (*Panicum miliaceum*), sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Food Science and Technology*, 48(6), 724–729. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0186-y>
- Cartea M. E., Velasco P. 2008. Glucosinolates in brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 213–229. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9072-2>

- Chavarín-Martínez C. D., Gutiérrez-Dorado R., Perales-Sánchez J. X. K., Cuevas-Rodríguez E. O., Milán-Carrillo J., Reyes-Moreno C. 2019. Germination in optimal conditions as effective strategy to improve nutritional and nutraceutical value of underutilized mexican blue maize seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(2), 192–199. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00717-x>
- Cid-Gallegos M. S., Sánchez-Chino X. M., Juárez Chairez M. F., Álvarez González I., Madrigal-Bujaidar E., Jiménez-Martínez C. 2020. Anticarcinogenic activity of phenolic compounds from sprouted legumes. *Food Reviews International*, 1–16. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1840581>
- Dziki D., Różyło R., Gawlik-Dziki U., Świeca M. 2014. Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 40(1), 48–61. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.07.010>
- Fardet A. 2010. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: What is beyond fibre? *Nutrition Research Reviews*, 23(1), 65–134. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000041>
- Fink B. 2020. Vpliv različnih obdelav pira (*Triticum spelta*) pred kaljenjem na zmanjšanje populacije plesni: magistrsko delo. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo.
- Fransisca L., Zhou B., Park H., Feng, H. 2011. The Effect of Calcinated Calcium and Chlorine Treatments on *Escherichia coli* O157:H7 87-23 Population Reduction in Radish Sprouts. *Journal of Food Science*, 76(6). <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2011.02270.X>
- Gan R.-Y., Wang M.-F., Lui W.-Y., Wu K., Corke H. 2016. Dynamic changes in phytochemical composition and antioxidant capacity in green and black mung bean (*Vigna radiata*) sprouts. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(9), 2090–2098. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13185>
- Gan R. Y., Lui W. Y., Wu K., Chan C. L., Dai S. H., Sui Z. Q., Corke H. 2017. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science and Technology*, 59, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.010>
- Gawlik-Dziki U., Dziki D., Pietrzak W., Nowak R. 2017. Phenolic acids prolife and antioxidant properties of bread enriched with sprouted wheat flour. *Journal of Food Biochemistry*, 41(4), e12386. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12386>
- Ghavidel R. A., Prakash J. 2007. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, *in vitro* iron and calcium bioavailability and *in vitro* starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT - Food Science and Technology*, 40(7), 1292–1299. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.08.002>
- Gunenc A., HadiNezhad M., Tamburic-Ilincic L., Mayer P. M., Hosseinian, F. 2013. Effects of region and cultivar on alkylresorcinols content and composition in wheat bran and their antioxidant activity. *Journal of Cereal Science*, 57(3), 405–410. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.01.003>
- Gupta R. K., Gangoliya S. S., Singh N. K. 2015. Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 676–684. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0978-y>
- Halkier B. A., Gershenzon, J. 2006. Biology and Biochemistry of Glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 303–333. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228>
- Harborne J. B., Williams C. A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00235-1)
- Hemalatha P., Bomzan D. P., Sathyendra Rao B. V., Sreerama Y. N. 2016. Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities. *Food Chemistry*, 199, 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.025>
- Hübner F., Arendt E. K. 2013. Germination of cereal grains as a way to improve the nutritional value: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(8), 853–861. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.562060>
- Jain B. M., Badve M. P. 2022. A novel process for synthesis of soybean protein hydrolysates and study of its effectiveness as a biostimulant and emulsifier. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 174, 108880. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.108880>
- Katina K., Liukkonen K.H., Kaukovirta-Norja A., Adlercreutz H., Heinonen S.M., Lampi A.M., Pihlava J.M., Poutanen K. 2007. Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye.

- Journal of Cereal Science, 46(3), 348–355. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.07.006>
- Kim M. J., Kwak H. S., Kim S. S. 2018. Effects of germination on protein, γ -aminobutyric acid, phenolic acids, and antioxidant capacity in wheat. *Molecules*, 23(9), 2244. <https://doi.org/10.3390/molecules23092244>
- Konopka I., Tańska M., Faron A., Czaplicki S. 2014. Release of free ferulic acid and changes in antioxidant properties during the wheat and rye bread making process. *Food Science and Biotechnology*, 23(3), 831–840. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0112-6>
- Kumar S., Anand R. 2021. Effect of germination and temperature on phytic acid content of cereals. *International Journal of Research in Agricultural Sciences*, 8(1), 2348–3997, <https://www.semanticscholar.org/paper/Effect-of-Germination-and-Temperature-on-Phytic-of-Kumar-Anand/5405465fd5ff1d094dc2a161b2fa1f27eff98b29>.
- Levent H., Bilgiçli N., Ertaş N. 2015. The assessment of leavened and unleavened flat breads properties enriched with wheat germ. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 7(3), 321–326. <https://doi.org/10.3920/QAS2013.0341>
- Liang J., Han B. Z., Nout M. J. R., Hamer R. J. 2008. Effects of soaking, germination and fermentation on phytic acid, total and in vitro soluble zinc in brown rice. *Food Chemistry*, 110(4), 821–828. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.064>
- Lin I., Peng C., Yang Y., Peng R. 2008. Optimization of bioactive compounds in buckwheat sprouts and their effect on blood cholesterol in hamsters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4), 1216–1223. <https://doi.org/10.1021/jf072886x>
- Liu S., Wang W., Lu H., Shu Q., Zhang Y., Chen Q. 2022. New perspectives on physiological, biochemical and bioactive components during germination of edible seeds: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 123, 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.029>
- Machado-Moreira B., Richards K., Brennan F., Abram F., Burgess C. M. 2019. Microbial contamination of fresh produce: what, where, and how?. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(6), 1727–1750. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12487>
- Martínez-Villaluenga C., Frías J., Gulewicz P., Gulewicz K., Vidal-Valverde C. 2008. Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts. *Food and Chemical Toxicology*, 46(5), 1635–1644. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.01.004>
- Marton M., Mandoki Z., Caspo J., Caspo-Kiss Z. 2010. The role of sprouts in human nutrition. A review. *Alimentaria*, Hungarian University of Transylvania, 3, 81–117. <http://www.acta.sapientia.ro/acta-alim/C3/alim3-5.pdf>
- Matucci A., Veneri G., Dalla Pellegrina C., Zoccatelli G., Vincenzi S., Chignola R., Peruffo A. D. B., Rizzi C. 2004. Temperature-dependent decay of wheat germ agglutinin activity and its implications for food processing and analysis. *Food Control*, 15(5), 391–395. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00104-X](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00104-X)
- Mencin M., Abramovič H., Jamnik P., Mikulič Petkovšek M., Veberič R., Terpinč P. 2020. Abiotic stress combinations improve the phenolics profiles and activities of extractable and bound antioxidants from germinated spelt (*Triticum spelta* L.) seeds. *Food Chemistry* (p. 128704). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128704>
- Miyahira R. F., Antunes A. E. C. 2021. Bacteriological safety of sprouts: A brief review. *International Journal of Food Microbiology*, 352, 109266. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109266>
- Montemurro M., Pontonio E., Gobetti M., Rizzello C. G. 2019. Investigation of the nutritional, functional and technological effects of the sourdough fermentation of sprouted flours. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.005>
- Morabito S. 2014. Developments in improving the safety of sprouts. *Advances in Microbial Food Safety*. (Vol. 2). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781782421153.3.351>
- Müntz K., Belozersky M. A., Dunaevsky Y. E., Schlereth A., Tiedemann J. 2001. Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. *Journal of Experimental Botany*, 52(362), 1741–1752. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.362.1741>
- Nayak B., Liu R. H., Tang J. 2015. Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 887–918.

- <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142>
- Nelson K., Stojanovska L., Vasiljevic T., Mathai M. 2013. Germinated grains: a superior whole grain functional food? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91(6), 429–441. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0351>
- Nöthlings U., Schulze M. B., Weikert C., Boeing H., van der Schouw Y. T., Bamia C., Benetou V., Lagiou P., Krogh V., Beulens J. W. J., Peeters P. H. M., Halkjær J., Tjønneland A., Tumino R., Panico S., Masala G., Clavel-Chapelon F., de Lauzon B., Boutron-Ruault M.-C., ... Trichopoulos A. 2008. Intake of vegetables, legumes, and fruit, and risk for all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in a european diabetic population. *The Journal of Nutrition*, 138(4), 775–781. <https://doi.org/10.1093/jn/138.4.775>
- Paucar-Menacho L. M., Martínez-Villaluenga C., Dueñas M., Frias J., Peñas E. 2017. Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.064>
- Randhir R., Lin Y. T., Shetty K. 2004. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13(3), 295–307. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00197-3)
- Rozan P., Kuo Y. H., Lambein F. 2001. Amino acids in seeds and seedlings of the genus *Lens*. *Phytochemistry*, 58(2), 281–289. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00200-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00200-X)
- Sattler S. E., Gilliland L. U., Magallanes-Lundback M., Pollard M., Dellapenna D. 2013. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination. *Dean dellapenna reviewed work (s)*: published by: American society of plant biologists (ASPB). Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/3872227> . access . 16(June), 1419–1432. <https://doi.org/10.1105/tpc.021360>.)
- Singh A., Sharma S. 2017. Bioactive components and functional properties of biologically activated cereal grains: A bibliographic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(14), 3051–3071. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1085828>
- Sharma S., Sahni P. 2021. Dynamics of germination behaviour, protein secondary structure, technofunctional properties, antinutrients, antioxidant capacity and mineral elements in germinated Dhaincha. *Food Technology and Biotechnology*, 59(2), 238–250. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.02.21.6922>
- Shelp B. J., Bown A. W., McLean M. D. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. *Trends in Plant Science*, 4(11), 446–452. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01486-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01486-7)
- Sirohi R., Tarafdar A., Kumar Gaur V., Singh S., Sindhu R., Rajasekharan R., Madhavan A., Binod P., Kumar S., Pandey A. 2021. Technologies for disinfection of food grains: Advances and way forward. *Food Research International*, 145, 110396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110396>
- Tang D., Dong Y., Guo N., Li L., Ren H. 2014. Metabolomic analysis of the polyphenols in germinating mung beans (*Vigna radiata*) seeds and sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(8), 1639–1647. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6471>
- Vagadia B. H., Vanga S. K., Raghavan V. 2017. Inactivation methods of soybean trypsin inhibitor – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 64, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.003>
- Vasconcelos I. M., Oliveira J. T. A. 2004. Antinutritional properties of plant lectins. *Toxicon*, 44(4), 385–403. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.05.005>
- Wanasundara P. K. J. P. D., Wanasundara U. N., Shahidi F. 1999. Changes in flax (*Linum usitatissimum* L.) seed lipids during germination. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(1), 41–48. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0045-z>
- Wang H., Qiu C., Abbasi A. M., Chen G., You L., Li T., Fu X., Wang Y., Guo X., Liu R. H. 2015. Effect of germination on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 50(12), 2545–2553. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12922>
- Wheeler G. L., Jones M., Smirnoff N. 1998. Vitamin C in higher plants. *Nature*, 393(May), 365–369. <https://doi.org/10.1038/30728>
- Wisessing A., Choowongkamon K. 2012. Amylase inhibitors in plants: structures, functions and applications.

- Functional Plant Science and Biotechnology, 6(1), 31-41. [http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/2012/FPSB_6\(SI1\)/FPSB_6\(SI1\)31-41o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/2012/FPSB_6(SI1)/FPSB_6(SI1)31-41o.pdf)
- Xiang N., Guo X., Liu F., Li Q., Hu J., Brennan C. S. 2017. Effect of light- and dark-germination on the phenolic biosynthesis, phytochemical profiles, and antioxidant activities in sweet corn (*Zea mays* L.) sprouts. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1246. <https://doi.org/10.3390/ijms18061246>
- Xu J. G., Tian C. R., Hu Q. P., Luo J. Y., Wang X. D., Tian X. D. 2009. Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant activity in oats (*Avena nuda* L.) during steeping and germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10392-10398. <https://doi.org/10.1021/jf902778j>
- Yang F., Basu T. K., Ooraikul B. 2001. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52(4), 319-330. <https://doi.org/10.1080/09637480120057567>
- Yang Y., Meier F., Ann Lo J., Yuan W., Lee Pei Sze V., Chung H. J., Yuk, H. G. 2013. Overview of recent events in the microbiological safety of sprouts and new intervention technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 265-280. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12010>
- Živković A., Polak T., Cigić B., Požrl T. 2021. Germinated buckwheat: effects of dehulling on phenolics profile and antioxidant activity of buckwheat seeds. *Foods* 2021, Vol. 10, Page 740, 10(4), 740. <https://doi.org/10.3390/FOODS10040740>

STRUCTURED LIPIDS AS HEALTHY FOODS FOR THE FUTURE

Suzana FERREIRA-DIAS¹

Abstract: During the last decades, the Food Industry has been searching for natural and healthier fats to respond to consumer's demands. In this context, structured lipids (SLs) are examples of functional fats with important medical and functional properties. SLs are usually triacylglycerols (TAGs) that have been either (i) modified by the incorporation of new fatty acids (FAs), (ii) restructured to change the regio-distribution of FAs or (iii) synthesized to yield novel TAGs. Low-calorie dietetic fats, human milk fat substitutes, cocoa butter equivalents, or interesterified fat blends rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids (omega-3 PUFA) or other FA with specific properties, esterified at position sn-2 of TAG, are examples of important SLs¹. This presentation will focus on the synthesis of dietetic SLs. They consist of low-calorie TAGs (5 kcal g⁻¹) of the type MLM, since they contain medium chain fatty acids (M) at positions sn-1 and 3 and a long chain FA (L) at position sn-2. These novel lipids are important for obesity reduction and also for medical purposes (e.g. for persons with pancreatic insufficiency and other absorption problems). MLM SLs are not possible to obtain by chemical processes but can be synthesized using sn-1,3 regioselective lipases as biocatalysts. These lipases can only act at the external positions of TAG, preserving the original sn-2-position of FA in TAG, which is beneficial for FA absorption during digestion. Currently these SLs have been synthesized either by (i) acidolysis of oils and medium-chain fatty acids or (ii) interesterification with medium-chain FA ethyl esters or medium-chain TAGs. The development of sustainable enzymatic processes for SL production means the search for low-cost raw-materials (e.g. crude oils from agro-industrial residues such as olive pomace and grapeseed), low-cost biocatalyst presenting both high activity and operational stability, and the use of solvent-free reaction media, due to environmental, economic and safety concerns. Promising results, similar or even superior to those obtained with expensive commercial immobilized lipases and using refined oils, have been obtained by our group, showing the feasibility of the implementation of a sustainable process to produce healthy structured lipids for the Food Industry.

Key words: structured lipids, acidolysis, interesterification, biocatalyst

STRUKTURIRANI LIPIDI KOT ZDRAVA HRANA PRIHODNOSTI

Povzetek: V zadnjih desetletjih živilska industrija išče naravne in bolj zdrave maščobe, da bi odgovorila na zahteve potrošnikov. V tem kontekstu predstavljajo strukturirani lipidi (SL) funkcionalne maščobe s pomembnimi funkcionalnimi lastnostmi. SL so običajno triacilgliceroli (TAG), ki so bili bodisi (i) modificirani z vključitvijo novih maščobnih kislin (MK), (ii) prestrukturirani, da se spremeni regio-distribucija MK, ali (iii) sintetizirani, da dobimo nove TAG. Nizko - kalorične dietetične maščobe, nadomestki maščob človeškega mleka, ekvivalenti kakavovega masla ali mešanice intereseterificiranih maščob, bogate z omega-3 polinenasičenimi maščobnimi kislinami (omega-3 PUFA) ali drugimi MK s specifičnimi lastnostmi, zaestrenimi na glicerolu na položaju sn-2 TAG, so primeri pomembnih SL¹. Ta predstavitev se osredotoča na sintezo dietetičnih SL. Sestavljeni so iz nizkokaloričnih TAG (5 kcal g⁻¹) tipa MLM, saj vsebujejo srednjeveržne maščobne kisline (M) na položajih sn-1 in 3 ter dolgoveržne MK (L) na položaju sn-2. Ti novi lipidi so pomembni za zmanjšanje debelosti in tudi za medicinske namene (npr. za osebe z insuficienco trebušne slinavke in drugimi težavami z absorpcijo). MLM SL ni mogoče pridobiti s kemičnimi procesi, vendar jih je mogoče sintetizirati z uporabo sn-1,3 regioselektivnih lipaz kot biokatalizatorjev. Te lipaze lahko delujejo samo na zunanjih položajih TAG, pri čemer ohranjajo prvotni položaj sn-2 MK v TAG, kar je koristno za absorpcijo MK med prebavo. Trenutno so bili ti SL sintetizirani bodisi z (i) acidolizo olj in srednjeveržnih maščobnih kislin ali (ii) z intereterifikacijo s srednjeveržnimi etilnimi estri

¹ prof. dr., Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, LEAF — Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food— Research Center, Associated Laboratory TERRA, Lisbon, Portugal, e-mail: suzanafdias@isa.ulisboa.pt

MK ali srednjeveržnimi TAG. Razvoj trajnostnih encimskih procesov za proizvodnjo SL pomeni uporabo cenениh surovin (npr. surova olja iz agroindustrijskih ostankov, kot so oljčne tropine in grozdne peške), in poceni biokatalizatorjev, ki imajo visoko aktivnost in stabilnost delovanja, ter uporaba reakcijskih medijev brez topil zaradi okoljskih, ekonomskih in varnostnih pomislekov. Naša skupina je dosegla obetavne rezultate, podobne ali celo boljše od tistih, ki jih dobimo z dragimi komercialnimi imobiliziranimi lipazami in rafiniranimi olji, kar predstavlja trajnostni postopek za proizvodnjo zdravih strukturiranih lipidov za živilsko industrijo.

Ključne besede: strukturirani lipidi, acidoliza, interesterifikacija, biokatalizatorji

VIRI IN VPLIV BIOGENIH AMINOV NA ZDRAVJE

Blaž CIGIČ¹

Povzetek: Biogeni amini so strukturno heterogena skupina spojin, ki imajo fiziološke funkcije v vseh živih bitjih. Poleg endogene biosinteze jih vnašamo tudi s hrano. Ker se absorbirajo iz prebavil v kri in nekateri tudi prehajajo krvno-možgansko pregrado, je potrebno poznati vsebnost v živilih in učinke zaužitih biogenih aminov. Fermentirana živila so dober vir biogenih aminov, ki nastajajo z dekarboksilacijo aminokislin. Predvsem tiramin in histamin imata lahko v večjih zaužitih količinah negativne učinke, ki jih lahko potencirajo nekateri ostali biogeni amini. V splošnem pa velja, da uživanje fermentiranih živil lahko predstavlja večje zdravstveno tveganje le za posameznike, ki se zdravijo z inhibitorji monoamin oksidaz. Za agmatin, spermidin in spermin pa v nasprotju z ostalimi biogenimi amini velja, da je povečan prehranski vnos zaželen, saj lahko s prehrano nadomestimo zmanjšano endogeno biosintezo. Povečan prehranski vnos spermidina je povezan z daljšo življenjsko dobo, kar so potrdile raziskave na modelnih organizmih in populacijski študije. Stročnice, križnice, gobe ter kalčki so dober prehranski vir spermidina, medtem ko je spermin prevladujoč poliamin v živilih živalskega izvora.

Ključne besede: fermentacija, tiramin, histamin, autofagija, spermidin

SOURCES AND IMPACT OF BIOGENIC AMINES ON HEALTH

Abstract: Biogenic amines are a structurally heterogeneous group of compounds that have physiological functions in all living organisms. In addition to endogenous biosynthesis, they are also obtained through the diet. Since they are absorbed into the blood from the gastrointestinal tract and some also cross the blood-brain barrier, it is necessary to know the content in the diet and the effects of the biogenic amines ingested. Fermented foods are a good source of biogenic amines, which are formed by decarboxylation of amino acids. Tyramine and histamine, in particular, can have negative effects in large amounts, which can be exacerbated by some other biogenic amines. In general, however, consumption of fermented foods may pose a major health risk only to individuals treated with monoamine oxidase inhibitors. For agmatine, spermidine, and spermine, unlike other biogenic amines, increased dietary intake is considered desirable because decreased endogenous biosynthesis can be replaced by diet. Increased dietary intake of spermidine is associated with longer life expectancy, as confirmed by studies in model organisms and population studies. Legumes, cruciferous vegetables, mushrooms, and sprouts are a good dietary source of spermidine, while spermidine is predominant polyamine in foods of animal origin.

Key words: fermentation, tyramine, histamine, autophagy, spermidine

¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: blaz.cigic@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Biogeni amini so molekule z eno ali več amino skupinami. Večina biogenih aminov nastane v encimsko kataliziranih reakcijah dekarboksilacije določenih aminokislin. Ker biogeni amini ne vsebujejo karboksilnih skupin, se pri fiziološkem pH-ju nahajajo v protonirani obliki, kar v veliki meri vpliva na njihove fizikalne in kemijske ter posledično biokemijske lastnosti. V skladu s strukturnimi značilnostmi biogene amine pogostokrat razvrščajo v tri skupine: alifatski amini (putrescin, kadaverin, spermin, spermidin, agmatin), aromatski amini (tiramin in feniletilamin) ter heterociklične aromatski amini (histamin in triptamin). Uporablja se tudi delitev glede na število aminoskupin v molekuli pri čemer ločimo monoamine (tiramin, feniletilamin ter pogojno tudi histamin in triptamin), diamine (putrescin in kadaverin) ter poliamine (spermin, spermidin in agmatin). Večino teh spojin sintetizirajo tako rastline, živali kot mikroorganizmi. V širšem smislu med biogene amine uvrščamo tudi nekatere hormone in živčne prenašalce (serotonin, adrenalin, noradrenalin, dopamin, melatonin), ki pa niso obravnavani v pričujočem poglavju.

Zaradi velike razširjenosti biogenih aminov v živih bitjih jih ljudje vsakodnevno vnašamo s hrano oziroma nastajajo v prebavnem traktu. Biogeni amini, ki jih vnašamo s hrano, imajo posledično velik fiziološki vpliv. Kljub dokaj uveljavljenemu prepričanju, da je povečan prehranski vnos večine biogenih aminov nezaželen, velja poudariti, da imajo nekateri, predvsem tisti iz skupine alifatskih poliaminov lahko ugoden vpliv na zdravje. To velja predvsem za spermidin, kjer se z leti raven endogene biosinteze zmanjša in lahko povečan prehranski vnos pomembno prispeva k ohranitvi zdravja (Zou in sod., 2022).

2 KEMIJSKE IN FIZIKALNE LASTNOSTI BIOGENIH AMINOV

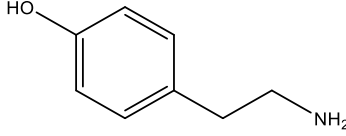
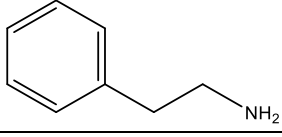
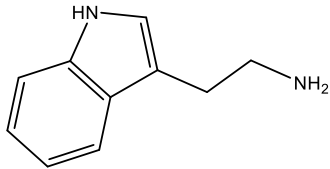
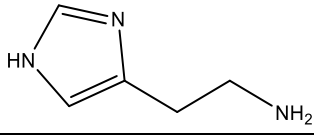
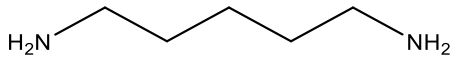
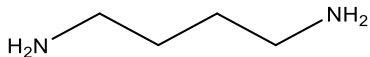
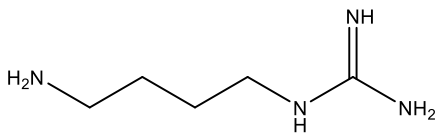
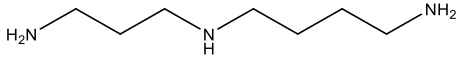
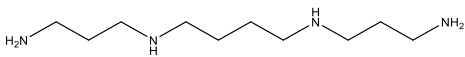
2.1 STRUKTURA IN ANALITIKA BIOGENIH AMINOV

V preglednici 1 so predstavljeni nekateri biogeni amini, ki jih pogostokrat najdemo v različnih živilih. Z izjemo tiramina, ki nastane z dekarboksilacijo aminokislina tirozin, so biogeni amini sestavljeni samo iz vodikovih, ogljikovih in dušikovih atomov. Tiramin, feniletilamin, triptamin in histamin so aromatske spojine, kjer je je na obroč vezana etilna skupina na koncu katere se nahaja primarna aminoskupina s pK_a vrednostmi med 9,6 in 10,2. Posledično imajo molekule pri fiziološkem pH naboj +1, kar pomeni, da se pri omenjenih pogojih ti biogeni amini lahko z elektrostatskimi interakcijami vežejo na različne negativno nabite celične strukture (Wojcik in sod., 2021). Opazna je velika razlika v temperaturi tališča, ki je pogojena z možnostjo vzpostavljanja medmolekulskih interakcij. Feniletilamin, ki ima najmanjši potencial za tvorbo vodikovih vezi, ima tališče pri $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ in je pri sobni temperaturi v tekočem agregatnem stanju.

Diamini in poliamini so alifatske spojine ki vsebujejo samo primarno amino skupini (putrescin, kadaverin) ali pa še dodatno sekundarno aminoskupino (agmatin, spermidin, spermin). Tako primarne kot sekundarne aminoskupine imajo pK_a vrednosti višje od 7, kar pomeni, da so molekule pri fiziološkem pH-ju večkrat nabite. Največji naboj ima spermin (+4). Z izjemo agmatina, ki ima tališče nad $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, so tališča ostalih poliaminov med $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ in $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Biogeni

amini z relativno nizkimi temperaturami tališča so hlapni in pomembno prispevajo k aromi živil v katerih so prisotni (Baldovini in Chaintreau, 2020).

Preglednica 1: Struktura, molska masa, tališče in kislinsko bazične lastnosti biogenih aminov

Biogeni amin	Molska masa (g/mol)	Tališče (°C)	pK _a	Naboj pri fiziološkem pH
Tiramin 	137,2	164,5	9,6	+1
Feniletilamin 	121,2	- 60	10,0	+1
Triptamin 	160,2	118	10,2	+1
Histamin 	111,2	83	9,8 6,0	+1
Kadaverin 	102,2	11,8	10,3 9,1	+2
Putrescin 	88,2	27,5	10,8 9,4	+2
Agmatin 	130,2	102	13,7 10,0	+2
Spermidin 	145,3	24	10,8 9,9 8,4	+3
Spermin 	202,3	29	10,9 10,1 8,4 7,9	+4

Za identifikacijo in kvantifikacijo biogenih aminov je v uporabi mnogo različnih analitskih metod. V največji meri se uporablja tekočinska kromatografija, kjer pa je tako za namen separacije kot lažje zaznave na detektorjih potrebna predhodna derivatizacija z danzil kloridom, benzoil kloridom in o-ftalaldehidom. Nastali produkti dobro absorbirajo v UV delu spektra in fluorescirajo kar zniža mejo detekcije in izboljša selektivnost (Onal in sod., 2013). Poleg

spektrofotometričnih in fluorescenčnih detektorjev se vse več uporablja tudi masno spektrometrijo.

V zadnjem času se razvija tudi področje uporabe različnih biosenzorjev za namen detekcije biogenih aminov (Verma in sod., 2020). Uporaba biosenzorjev predstavlja hitro in finančno manj zahtevno alternativo klasičnim analitskim metodam. Večina biosenzorjev temelji na uporabi različnih amino oksidaz, ki pa imajo v splošnem relativno slabo izraženo substratno specifičnost, kar pomeni, da rezultat meritve predstavlja vsoto vsebnosti različnih biogenih aminov. V reakciji, ki jo katalizirajo amino oksidaze, se sproščata tako amonijak kot vodikov peroksid. Kvantifikacija največkrat temelji na količini sproščenega H_2O_2 , ki ga zaznamo z elektrokemijskimi senzorji.

2.2 ANTIOKSIDATIVNE LASTNOSTI

Poleg kislinsko bazičnih lastnosti imajo biogeni amini tudi antioksidativne lastnosti. Spermin pri fizioloških koncentracijah učinkovito zavira oksidacijo DNA (Ha in sod., 1998). Možni mehanizmi so vezani na stabilizacijo DNA na katero se elektrostatsko veže, kelacijo redoks aktivnih kovinskih ionov ali direktno vstopanje v radikalske reakcije. Glede na to, da so v modelnih sistemih identificirali produkte, kjer je bila primarna aminoskupina spermina oksidirana v aldehydno, je najbolj verjeten slednji mehanizem. Poliamini so učinkoviti antioksidanti tudi v živilskih sistemih, saj upočasnijo oksidacijo rastlinskih olj (Toro-Funes in sod., 2013). Primerjava učinkovitosti v zaviranju oksidacije lanenega olja (Šarič, 2019), analizirana z rancimatom razkrije, da so spermin in spermidin ter tudi tiramin precej bolj učinkoviti od antioksidanta BHT. Indukcijski čas v kontrolnem olju je bil 4 ure, v primeru dodatka (1 mmol/kg) pa za BHT 5 ur, tiramin 5,6 ur, spermidin 8 ur in spermin 10,4 ure. Dodatek spermina in spermidina v laneno olje tudi močno upočasnijo tvorbo lipidnih peroksidov. V lanenem olju z dodanim sperminom (1 mmol/kg) se po petih dneh inkubacije olja na 60 °C tvori le 5 mmol/kg peroksidov, kar je 70x manj kot v kontroli (samo laneno olje). Izrazit je tudi učinek povezan s stabilizacijo tokoferolov, kjer je v primeru dodanega spermidina po petih dneh inkubacije preostalo 80% tokoferolov, medtem ko se je v kontrolnem vzorcu vsebnost zmanjšala na manj kot 5% začetne vrednosti (Gutirea, 2018). Dodatki poliaminov v olja nedvomno kažejo velik potencial v kontekstu ohranjanja vsebnosti mikrohranil in esencialnih maščobnih kislin ter preprečevanja tvorbe prehransko nezaželenih produktov oksidacije lipidov. Nedvomno pa so na tem področju potrebne nadaljnje raziskave, saj so lahko aminoaldehidi, ki nastanejo iz poliaminov, toksični (Agostinelli in sod., 2004).

3 MONOAMINI IN DIAMINI

3.1 ENDOGENA BIOSINTEZA IN FIZIOLOŠKA FUNKCIJA MONOAMINOV IN DIAMINOV

Vsi monoamini in diamini se tvorijo v reakcijah dekarboksilacije iz ustreznih prekurzorskih aminokislin tirozin, triptofan, fenilalanin, histidin, lizin (kadaverin) in ornitin (putrescin). Z izjemo kadaverina ljudje sintetiziramo vse biogene amine navedene v preglednici 1, saj imajo pomembne biološke funkcije ali pa so prekurzorji nekaterih ostalih biološko pomembnih

molekul. Da imajo endogeni biogeni amini pomembno vlogo v metabolizmu, je razkrilo odkritje tako imenovanih "Trace amine-associated receptors" na katere se lahko vežejo biogeni amini. Receptorji se izražajo praktično v vseh organskih sistemih predvsem pa v centralnem živčnem sistemu, celicah imunskega sistema in epitelnih celicah prebavil. Vezava biogenih aminov na receptorje vpliva na delovanje levkocitov, izražanje prebavnih hormonov in inzulina ter na proces pomnjenja in na razpoloženje. Receptorji za biogene amine s katerimi zaznavamo predvsem putrescin in kadaverin se nahajajo tudi v celicah sluznice nosu (Freyberg in Saavedra, 2020).

V humanem genomu so kodirani tudi štiri različni receptorji na katere se specifično veže histamin. V odvisnosti od posameznega tipa receptorja lahko vezava histamina rezultira v spremembi sproščanja neurotransmiterjev v centralnem živčnem sistemu, pospešitvi srčnega utripa in peristaltike, izločanju želodčne kisline in spremembi cirkadianega cikla. Histamin ima pomembno vlogo tudi v delovanju imunskega sistema. Histamin je shranjen v sekretornih granulah mastocitov, ki se nahajajo v sluznicah in podkožnem tkivu. Pri poškodbah ali vezavi antigenov pride do dezintegracije granul in sproščanja histamina, ki se veže na receptorje, kar vpliva na razširitev žil (padec tlaka) in povečano izločanje vode iz kapilar na mestih, kjer se izloča histamin, kar prispeva k pojavu otekline in rdečice (Thangam in sod., 2018).

3.2 MIKROBNA BIOSINTEZA MONOAMINOV IN DIAMINOV V ŽIVILIH

Prehranski vnos monoaminov in diaminov je v veliki meri pogojen z vrsto hrane, ki jo zaužijemo. Živila rastlinskega in živalskega izvora lahko vsebujejo manjše količine določenih biogenih aminov. Tako je npr. za agrume značilna relativno velika vsebnost putrescina, za kalčke stročnic pa kadaverina. Tudi drugače vsebujejo različna živila manjše količine ostalih biogenih aminov. Največji vpliv na vsebnost monoaminov in diaminov aminov v živilih pa ima nedvomno mikrobná fermentacija (Doeun in sod., 2017). Tako so v prehranskem smislu najbolj bogat vir biogenih aminov različna fermentirana živila kot so siri, fermentirana zelenjava in ribe, salame ter alkoholne pijače kot sta pivo in vino. Zaradi velike vsebnosti proteinskih substratov so izjemno dober vir tudi fermentirani izdelki iz soje in stročnic, ki imajo pomembno vlogo v kulinariki, značilni za jugovzhodno Azijo.

Mnogo različnih dejavnikov vpliva na akumulacijo biogenih aminov v fermentiranih živilih. Zelo pomembna je predhodna mikrobná kontaminacija živila, temperatura in čas fermentacije. Pomembna je tudi dostopnost substrata (aminokislina), na potek fermentacije pa imajo velik vpliv tudi dejavniki kot so prisotnost soli ali pH medija. Encime z dekarboksilazno aktivnostjo izražajo mnoge bakterije iz rodov laktobacilov, pseudomonads, enterobakterij ter enterokokov, kakor tudi nekatere kvasovke (Gardini in sod., 2006), ki producirajo histamin in tiramin.

Encimska aktivnost dekarboksilaz predstavlja določeno obrambo mikroorganizmov pred acidifikacijo citoplazme. Po dekarboksilaciji aminokislina, ki je v obliki iona dvojčka, preostane protonirana oblika biogenega amina (Barbieri in sod., 2019), ki ga celica izloči. Na ta način posredno izloči tudi proton, kar prispeva k zvišanju znotrajceličnega pH, kar predstavlja zaščitni mehanizem. Nižanje zunajceličnega pH prispeva k proton motorni sili in generirana energija, ki se skriva v razliki med zunajceličnim in znotrajceličnim pH, omogoča

sintezo ATP, aktivni transport skozi celično membrano, ali premikanje bičkov.

V splošnem velja, da nižje temperature shranjevanja živil rezultirajo v manjši akumulaciji biogenih aminov (Santos, 1996). Za Mezofilne bakterije je optimalna temperatura za sintezo biogenih aminov med 20 °C in 30 °C . Pri temperaturah hladilnika je biosinteza biogenih aminov v splošnem upočasnjena, vendar lahko pride do akumulacije tudi pri teh pogojih, če so prisotne psihrotropne bakterije (EFSA, 2011). Analiza različnih fermentiranih in ne fermentiranih živil je pokazala, da se pri nekaterih v roku do konca uporabe tudi pri ustrezni temperaturi shranjevanja močno poveča vsebnost biogenih aminov (Dabade in sod., 2021).

Optimalen pH za encimsko aktivnost dekarboksilaz je med pH 4 in pH 5,5, ki pa je manj ustrezen za rast mnogih mikroorganizmov. Za sintezo tiramina v siru naj bi bil optimalen pH 5, medtem ko do največje akumulacije histamina v mesu tune pride pri pH 4. Na akumulacijo biogenih aminov v živilih ima velik vpliv tudi prisotnost nekaterih spojin. Tako povečana vsebnost NaCl rezultira v zaviranju rasti mikroorganizmov in posledično sintezi biogenih aminov. Velika vsebnost lipidov v živilih je pogostokrat povezana z manjšo vodno , kar inhibira rast mikroorganizmov (Santos, 1996). Prisotnost glukoze ima dvojen učinek na vsebnost biogenih aminov. Vsebnosti v območju od 0,5-2% naj bi bile idealne za rast mikroorganizmov s sposobnostjo dekarboksilacije aminokislin. Pri višjih deležih dostopne glukoze, lahko pride do hitre acidifikacije živila, in slabše rasti mikroorganizmov ter posledično manjše akumulacije biogenih aminov (Suzzi in Gardini., 2003). Tudi prisotnost kisika ima lahko zaviralni učinek na akumulacijo biogenih aminov (Halasz in sod., 1994), nenazadnje je kisik potreben za pretvorbo biogenih aminov v ustrezne aldehide in aminoaldehide, ki jih katalizirajo amin oksidaze.

V svežih živilih, kjer fermentacija ni zaželeno, je potrebno omejiti kontaminacijo in zavirati rast in razmnoževanje mikroorganizmov. Važno je predvsem dobro čiščenje in razkuževanje kontaktnih površin živila, kjer je mogoče tudi uporabiti ustrezno termično obdelavo živila. V primerih, ko pa to zaradi narave živila (npr. sveže meso in ribe) ni mogoče, se raziskuje uporaba tehnik kot so gama-žarki in povečan tlak. Kot že omenjeno, je v fermentiranih živilih težko zagotoviti majhne vsebnosti biogenih aminov, saj tako acidifikacija kot proteoliza ustvarjata ugodne razmere za rast mikroorganizmov z izraženo dekarboksilazno aktivnostjo (EFSA, 2011).

Ustrezni higienski standardi in uporaba selekcioniranih starterskih kultur ter dodatki spojin, ki vplivajo na potek fermentacije, so poleg temperature in časa fermentacije ključni za zagotavljanje primerne vsebnosti BA v končnih produktih. Predhodna kontaminacija živila je med dejavniki, ki najbolj vplivajo na akumulacijo biogenih aminov. Pri spontani fermentaciji čičerikine moke različnih proizvajalcev je npr. profil nastalih biogenih aminov odvisen od proizvajalca moke. Pri določenih mokah tako pride do akumulacije prehransko nezaželenih biogenih aminov kot sta tiramin in kadaverin (Polak in sod., 2021). Vsebnost posameznih biogenih aminov v kislih testih pripravljenih iz čičerikinih mok se je razlikovala tudi za več kot stokrat. Tudi inokulacija s startersko kulturo, ni rezultirala v občutnem zmanjšanju vsebnosti nezaželenih biogenih aminov v kislih testih. Velike količine biogenih aminov se lahko akumulirajo tudi v sirih, katerih predelava temelji na spontani fermentaciji. Vsebnosti tiramina, histamina in kadaverina lahko dosegajo tudi vrednosti 1,5 g/kg sira (Mayer in

Fiechter, 2018). Med slovenskimi siri izstopa bohinjski posebnež Mohant. V teh sirih lahko vsebnosti putrescina, kadaverina in tiramina presežejo tudi 5g/kg sira. Opaziti je velike razlike med posameznimi proizvajalci in letnimi časi kar kaže na velik pomen avtohtone mikrobiote. Vsebnost biogenih aminov se povečuje tudi pri shranjevanju sirov pri 4 °C kar bi lahko pripisali psihotropnim bakterijam (neobjavljeni rezultati).

Do mikrobne fermentacije pa ne prihaja le v živilih, ampak ta poteka tudi v naših prebavilih (Sudo, 2019). Bakterije izolirane iz prebavil lahko tako sintetizirajo biogene amine kot katalizirajo njihovo modifikacijo v druge molekule (Tofalo in sod., 2019). Pri tem nastajajo različni hormoni, hidroksilirani analogi tiramina in triptamina kot so dopamin, serotonin in noradrenalin, kakor tudi histamin in ostali biogeni amini. Nastali biogeni amini se vežejo na receptorje, ki jih izražajo celice sluznice in pomembno prispevajo k peristaltiki in delovanju imunskega sistema. Vse več pa je tudi ugotovitev, ki kažejo na to, da tako s prehrano vneseni biogeni amini, kakor tudi tisti, ki nastanejo v prebavilih vplivajo na centralni živčni sistem, saj regulirajo kognitivne sposobnosti in razpoloženje. Biogeni amini in sorodne molekule so pomemben del tako imenovane »možgansko-črevesne osi«. Sestava hrane vpliva na količino nastalih biogenih aminov, zmanjšanje vsebnosti proteinov v živilu rezultira v manjši količini v prebavilih sintetiziranih putrescina, kadaverina in histamina (Fan in sod., 2017).

3.3 PREHRANSKI VNOS IN VPLIV ZAUŽITIH MONOAMINOV IN DIAMINOV NA ZDRAVJE

Biogeni amini imajo pomembno funkcijo v organizmu, saj so kot je predhodno omenjeno v humanem genomu kodirani različni receptorji za biogene amine in strukturno sorodne molekule. Povečan prehranski vnos monoaminov in diaminov lahko vodi do nezaželenih fizioloških učinkov. V splošnem velja, da je v prehranskem smislu najbolj problematičen povečan vnos histamina in tiramina, tako zaradi fizioloških učinkov kot tudi zaradi relativno velike akumulacije v določenih živilih (Wojcik in sod., 2021).

Živila s povečano vsebnostjo histamina so predvsem fermentirana (ali pokvarjena) živila, ki vsebujejo ribe iz družine skuš. Zaužitje večjih količin histamina se lahko kaže v obliki mravljinčenja, izpuščajev, glavobola in znižanega krvnega tlaka, ki je posledica razširitve žil. Pri hujših zastrupitvah lahko pride tudi bruhanja, notranjih krvavitev in težav z dihanjem. Kljub občasnim izbruhom pa so tovrstne zastrupitve le redkokdaj usodne (Feng in sod., 2016). Delež v zastrupitvah hrano na področju ZDA, ki je povezan z velikim vnosom histamina, naj bi bil v letih 1998-2008 2,5 %. Med vsemi biogenimi aminami so zakonodajalci postavili meje edino za histamin. Tako je v skladu z direktivami Evropske komisije vsebnost histamina v neprocesiranih ribah lahko <100 mg/kg in v soljenih ribah <200 mg/kg, medtem ko v ribjih omakah vsebnost ne sme presegati 400 mg/kg. V ZDA je zakonodaja še strožja saj tam vsebnost histamina v ribah in izdelkih iz rib ne sme presegati 50 mg/kg. Na nivoju EU vsebnost histamina v drugih živilih ni regulirana, imajo pa nekatere države strožjo zakonodajo, npr. na Slovaškem je največja dovoljena vsebnost histamina v pivu 20 mg/kg.

Zaužitje večjih količin tiramina rezultira v drugačnih fizioloških učinkih kot pri histaminu. Vezava tiramina sproži izločanje noradrenalina v citosolu živčnih celic kar privede do krčenja

žil, povišanja tlaka in srčnega utripa ter sproščanja glukoze v krvi. Pojavijo se lahko tudi glavobol in prebavne težave (Wojcik in sod., 2021). Podoben učinek kot tiramin imata tudi triptamin in feniletilamin, katerih vsebnost v živilih pa je v splošnem manjša. Za triptamin in feniletilamin pa velja, da imata bolj izražene psihoaktivne učinke. Tako triptamin (Vitale in sod., 2011) kot feniletilamin (Obata in sod., 2022) lahko prehajata možgansko krvožilno bariero, vendar se z encimi hitro modificirata in izločita iz krvnega obtoka. V analizi podani s strani Evropske agencije za varnost hrane so ugotovili (EFSA, 2011), da tudi vnos 600 mg tiramina v okviru obroka ne predstavlja zdravstvenega tveganja. Posledično za vsebnost tiramina v živilih v splošnem ni formalnih omejitev. Izjemo pa spet predstavlja Slovaška, kjer je najvišja vsebnost tiramina v siri omejena na <200 mg/kg.

Velika vsebnost biogenih aminov v vzorcih pa lahko predstavlja potencialno nevarnost predvsem takrat, ko živilo vsebuje tudi dosti nitritov. Pri termični obdelavi takšnih živil lahko nastanejo nitrozamini, ki imajo lahko kancerogen učinek in prispevajo k večji pojavnosti raka na debelem črevesju (Wojcik in sod., 2021).

Negativni učinek histamina in tiramina je lahko potenciran tudi zaradi počasnejše razgradnje z amino oksidazami. K temu lahko prispeva velika vsebnost putrescina in kadaverina, ki nimata močno izraženih fizioloških učinkov, a predstavljata substrat za amino oksidaze, ki posledično razgradijo manj ostalih biogenih aminov. Še večji učinek imajo lahko nekateri inhibitorji monoaminoksidaz, ki se uporabljajo za zdravljenje nekaterih oblik depresije. Že pred leti so ugotovili, da lahko pri posameznikih, ki uživajo tovrstna zdravila (Berlin in sod., 1989), že samo 35 mg zaužitega tiramina v povprečju rezultira v povišanju tlaka za 30 mm Hg. Pri posamezniki, ki tovrstnih zdravil niso jemali, so v okviru iste študije ugotovili, da je bil enak učinek dosežen pri 1220 mg zaužitega tiramina.

4 POLIAMINI

4.1 BIOSINTEZA IN FIZIOLOŠKA VLOGA POLIAMINOV

Izhodna spojina pri biosintezi poliaminov agmatin, spermidin in spermin je aminokislina arginin. Le ta se lahko v encimsko katalizirani reakciji dekarboksilira do agmatina. Arginin pa lahko vstopa tudi v encimsko katalizirano reakcijo v okviru ciklusa sečnine kjer se z encimom arginazo pretvori v ornitin. Tako iz ornitina kot agmatina lahko nastane putrescin. Reakcijo nastanka iz ornitina katalizira encim ornitin dekarboksilaza, medtem ko se pri nastanku putrescina v reakciji katalizirani z agmatinazo odcepi sečnina (Handa in sod., 2018).

Putrescin, ki nastane v teh reakcijah, pa je prekurzor v sintezi spermidina in spermina, kjer se ob nastanku teh dveh molekul v encimsko kataliziranih reakcijah na putrescin kovalentno vežeta ena (spermidin) ali dve (spermin) aminopropilne skupini. Molekula, ki je donor aminopropilne skupine v teh reakcijah, je dekarboksilirana S-adenozilmetionin. Molekula S-adenozilmetionina se tvori v reakciji med aminokislino metioninom in molekulo ATP. Nastali S-adenozilmetionin se v encimsko katalizirani reakciji nato dekarboksilira v obliko, ki je donor aminopropilne skupine v reakciji s putrescinom. Nastanek spermidina in vezavo amino propilne skupine na primarno amino skupino putrescina katalizira encim spermidin sintaza. Na preostalo primarno

amino skupino putrescina vezanega v spermidin, se v reakciji katalizirani s spermin sintazo veže še ena aminopropilna skupina iz dekarboksiliranega S-adenozilmetionina (Bae in sod., 2018). Možen je tudi nastanek izomera spermina, ki ga imenujemo termospermin. V tem primeru se aminopropilna skupina veže na primarno aminoskupino spermidina, ki ne izhaja iz putrescina. Reakcijo, katalizira encim termospermin sintaza in je značilna za rastline. Nastali termospermin ima pomembno vlogo v pravilnem delovanju ksilema (prevajanje vode in anorganskih snovi od korenin do listov) pri rastlinah (Takano in sod., 2012).

Poliamini imajo raznovrstne funkcije v delovanju organizma. Vključeni so regulacijo celične delitve, celične smrti in uravnavanje celičnega cikla. Poliamini se kot pozitivno nabite molekule vežejo na nukleinske kisline, negativno nabite strukture proteinov in fosfolipidov, delujejo pa tudi kot znotrajcelični antioksidanti. V splošnem velja, da so poliamini vključeni v procese povezane z učenjem in spominom, delovanjem imunskega sistema, s funkcionalnostjo sluznice prebavil in s plodnostjo. Spremembe v metabolizmu in znotrajcelični vsebnosti poliaminov so povezane z različnimi nevrodegenerativnimi boleznimi, vnetnimi procesi in kancerogenezo (Casero in sod., 2018). Nizka znotrajcelična koncentracija poliaminov vodi do zaustavitve rasti celic.

Poliamini, predvsem spermidin, imajo pomembno vlogo v procesu avtofagije, ki predstavlja proces regulirane razgradnje nefunkcionalnih celičnih komponent v lizosomih. Motnje v procesu avtofagije so povezane z nevrodegenerativnimi boleznimi, ki so posredno povezane s procesom staranja. Predvsem za spermidin so v okviru različnih raziskav pokazali, da inducira proces avtofagije (Madeo in sod., 2018). Modifikacije proteinov, ki so posledica oksidativnih procesov in staranja, rezultirajo v izgubi njihove funkcionalnosti. Razgradnja tovrstnih celičnih struktur v lizosomih je izjemno pomembna za normalno delovanje celice. Večje število študij na različnih organizmih je pokazalo, da se znotrajcelična koncentracija in koncentracija spermina in spermidina v plazmi zmanjšuje s staranjem (Handa in sod., 2018). Povedna je tudi ugotovitev, da imajo najnižjo vsebnost spermidina posamezniki med 60-80 letom, sledijo posamezniki stari pod 50 let, največjo vsebnostjo pa so v okviru študije določili pri posameznikih starih nad 90 let (Pucciarelli in sod., 2012). Tovrstne rezultate so interpretirali v kontekstu, da višje vsebnosti spermidina prispevajo k dolgoživosti. Obširna populacijska raziskava je pokazala, da so posamezniki, ki so v zgornji tretjini po količini zaužitega spermidina z vsakodneвно prehrano, živijo v povprečju 5,7 let dlje kot tisti, ki so v spodnji tretjini po količini zaužitega spermidina (Kiechl in sod., 2018).

4.2 PREHRANSKI VIRI POLIAMINOV

S sperminom in spermidinom bogati prehranski viri niso nujno povezani s fermentacijo. V splošnem velja, da se vsebnost teh poliaminov ne poveča z mlečnokislinsko fermentacijo. (Munoz-Esparza in sod., 2019). Tako je v sirih vsebnost spermidina relativno nizka in se ne poveča med zorenjem. Izjemo predstavljajo nekatere vrstah sira pripravljene z modro plesnijo iz skupine gliv (Nishimura in sod., 2006). Tudi kvasna biomasa je bogat vir spermina in spermidina. Z metodami genetskega inženirstva so uspeli še dodatno povečati akumulacijo spermidina in spermina v kvasni biomasi in v gojišču (Qin in sod., 2021).

V splošnem velja, da so s spermidinom bolj bogata živila rastlinskega izvora, medtem ko večjo vsebnost spermina najdemo v živilih živalskega izvora. Razlika je tako v absolutni vsebnosti kot tudi v razmerju med obema aminoma (Ali in sod., 2011). Kot prehransko najpomembnejše vire spermidina lahko omenimo sojo in druge stročnice, križnice, polnoznata žita, nekatere vrste sadja kot so hruške, mango, banana in gobe ter kalčke, medtem ko je posebej visoka vsebnost spermina v jetrih, mesu in ribah. Pri termični obdelavi živil lahko prihaja do zmanjševanja vsebnosti poliaminov v živilih, saj se ti kot polarne molekule izločajo v vodo pri kuhanju. Izgube so precej manjše v primeru obdelave z mikrovalovi (Munoz-Esparza in sod., 2021). Pri intenzivni termični obdelavi kot je npr. praženje kave se vsebnost spermina in spermidina zelo zmanjša (Amorin in sod., 1977). Živila v splošnem vsebujejo manj agmatina v primerjavi s sperminom in spermidinom. Med dobre prehranske vire agmatina lahko uvrščamo nekatera fermentirana živila, predvsem sojina pasto, ter kalčke in mikrozelenjavo. Kalčki in predvsem mikrozelenjava metuljnic kot so leča, grško seno in detelja ter redkvic iz družine križnic so odličen vir poliaminov agmatin in spermidin. V mikrozelenjavi leče se vsebnost spermidina poveča na več kot 500 mg/kg, medtem ko se največ agmatina (več kot 5 g/kg) akumulira v mikrozelenjavi detelje. V kalčkih stročnic, predvsem grškega sena, je velika vsebnost prehransko nezaželenega kadaverina (več kot 3 g/kg) vendar se ta zaradi amino oksidaz, ki so prisotne v teh kalčkih po homogenizacija tkiva, popolnoma razgradi. Še več, kalčke grškega sena lahko uporabimo kot vir amino oksidaz, ki učinkovito zmanjšajo vsebnost putrescina, kadaverina in histamina, ki se tvorijo s fermentacijo v kislem testu (Cigić in sod., 2020).

4.3 VPLIV ZAUŽITIH POLIAMINOV NA ZDRAVJE

Študije na miših in vinskih mušicah so pokazale, da povečan prehranski vnos spermidina v povprečju rezultira v 15%-40% daljši življenjski dobi. Podobne učinke je pri miših imelo tudi vključevanje v vodo za pitje (Eisenberg in sod., 2009). Pri modelnih organizmih so ugotovili tudi manjšo stopnjo oksidativnih poškodb tkiva. Spermidin je vključen tudi v procese, ki rezultirajo v zmanjševanju vnetnih procesov. Povečan prehranski vnos spermidina rezultira v manjšem izražanju dejavnika tumorske nekroze α , ki stimulira delovanje imunskega sistema. Pri povečanem prehranskem vnosu spermidina so ugotovili tudi manjšo tvorbo reaktivnih kisikovih zvrsti in počasnejšo migracijo celic imunskega sistema, ki so vključene v vnetne procese. Vključevanje spermina v hrano za pujske je zmanjšalo sistemski vnetni odziv (Cao in sod., 2017).

Zaradi velikega vpliva poliaminov na rast in razvoj celice se kaže, da imajo poliamini pomembno vlogo tudi v procesu kancerogeneze (Sari in sod., 2021). Raziskave na tem področju so dale mešane rezultate. Poskusi na modelnih živalih so pokazali, da se je pojavnost nekaterih vrst raka pri povečanem prehranskem vnosu spermidina zmanjšala. V okviru obširne študije pri ženskah v menopavzi so ugotovili, da povečan prehranski vnos poliaminov rezultira v manjši pojavnosti raka na debelem črevesu (Vargas in sod., 2015). Povečan prehranski vnos poliaminov torej zmanjša incidenco nekaterih vrst raka, a ima negativni učinek, ko že pride do kopičenja mutacij, ki rezultirajo v nastanku rakavih celic. Takrat lahko poliamini pospešijo rast tumorjev. Na modelnih živalih so ugotovili, da zmanjšan prehranski vnos poliaminov rezultira v manjši velikosti tumorjev in manjši stopnji metastaziranja. Različne raziskave so tudi

pokazale, da je vsebnost poliaminov v večini rakastih celic povečana. Posamezniki z večjo vsebnostjo poliaminov imajo v splošnem tudi manjšo stopnjo preživetja (Sari in sod., 2021). Posledično so v fazi kliničnih raziskav tudi določena zdravila, predvsem inhibitorji ornitin dekarboksilaze, ki je ključen encim v biosintezi puterscina. Testirajo se tudi inhibitorji S-adenosilmetionin dekarboksilaze, encima, ki je ključen za sintezo spermina in spermidina (Lewis in sod., 2020). Kot pristop pri zdravljenju raka so razvili tudi strukturne analoge poliaminov, ki zmanjšajo sintezo za celico značilnih poliaminov in hkrati inducirajo procese njihove razgradnje (Sari in sod., 2021). Iz zgoraj navedenega torej izhaja, da poliamini pomembno prispevajo k varovalni prehrani zdravega posameznika, medtem ko je pri že razvitem raku potrebno prehranski vnos poliaminov čimbolj omejiti. Na določen način velja za prehranski vnos poliaminov pri posameznikih, ki so zboleli za rakom, podobno kot za folno kislino, ki je pomembna pri sintezi nukleotidov in je smiselno prehranski vnos folatov omejiti (Kim, 2018).

Poliamini imajo tudi velik vpliv na delovanje živčnega sistema. Povečan prehranski vnos spermidina, ki se absorbira v prebavilih in prehaja krvno-možgansko pregrado, izboljša kognitivne funkcije (Schroeder in sod., 2021). V okviru študij na modelnih organizmih (miši, muhe) so ugotavljali, da naj bi bil mehanizem povezan z izboljšano mitohondrijsko funkcijo, ki je najverjetneje posledica učinkovitejše avtofagije. Tovrstne raziskave so potrdile ugotovitve v okviru populacijskih študij pri ljudeh, kjer je povečan prehranski vnos spermidina ugodno vplival na ohranjanje spomine pri starostnikih s prvimi znaki demence. Vključevanje spermidina v obliki prehranskega dopolnila iz rastlinskega vira (1,2 mg/dan) v prehrano (60-80 letniki) je upočasnilo slabšanje spominskih funkcij pri starostnikih (Wirth in sod., 2018). Povečan prehranski vnos tudi ne predstavlja zdravstvenega tveganja (Schwarz in sod., 2018).

Poleg spermidina so tudi za agmatin ugotovili pomembne nevrološke funkcije. Povečan vnos agmatina izboljša regeneracijo po možganskih poškodbah, regulacijo bolečine ter omili simptome depresije in shizofernije (Laube in Bernstein, 2017). Ker je endogena biosinteza agmatina omejena, ima pomembno vlogo prehranski vnos agmatina. Ugotovljeno je bilo, da do 1,5 g amatina na dan ne predstavlja tveganja za zdravje (Gilad in Gilad, 2014). Agmatin se v prebavilih absorbira in tudi prehaja krvno-možgansko pregrado in tako učinkuje v centralnem živčnem sistemu. Ne samo pri intravenoznem vnosu, ampak tudi pri prehranskem vnosu so tako pri godalcih kot pri ljudeh ugotovili ublažitev depresije in to v količinah, ki za organizem ne predstavljajo tveganja. Pri posameznikih z bolečinami v vratni hrbtenici je povečan prehranski vnos rezultiral v ublažitvi bolečin (Keynan in sod., 2010).

V skladu z mnogimi pozitivnimi učinki, ki so jih v okviru znanstvenih raziskav potrdili za spemidin in agmatin se pojavljajo na trgu prehranska dopolnila z veliko vsebnostjo teh spojin. Dopolnila s spermidinom se prodajajo predvsem v obliki želatinskih kapsul v katerih so izvlečki soje ali pšeničnih kalčkov, vsebnost spermidina v posamezni kapsuli pa je največkrat okoli 1 mg. Precej večje, v območju od 500 mg do 1000 g, so vsebnosti agmatina v posameznih kapsulah, v katerih se največkrat nahaja sulfatna sol tega poliamina.

5 ZAKLJUČEK

Tudi bioaktivne snovi, ki niso esencialne, imajo pomemben vpliv na senzorične lastnosti, prehransko vrednost živil in fiziološke procese po zaužitju. V to skupino uvrščamo tudi biogene amine, ki se v okviru različnih metabolnih poti sintetizirajo v našem organizmu in imajo pomembno vlogo živčnih prenašalcev, hormonov, antioksidantov ali molekul vključenih v imunski odziv. Biogeni amini, ki jih vsakodnevno vnašamo s hrano, so bili do nedavnega izpostavljeni predvsem v negativni luči. To nedvomno velja za molekule, ki jih tvorijo bakterije z dekarboksilacijo aminokislin. Predvsem histamin in tiramin, ki se akumulirata v nekaterih fermentiranih živilih, lahko v določenih primerih vodita do psevdoalergijskih reakcij ali povišanega krvnega tlaka. Z ustreznimi higienskimi standardi, izborom starterskih kultur ter pogojev fermentacije je potrebno zagotoviti, da ne pride do prevelike akumulacije prehransko nezaželenih biogenih aminov.

Po drugi strani pa vse več raziskav navaja, da je prehranski vnos poliaminov kot sta agmatin in spermidin zaželen. Agmatin ima antidepresivni in analgetični učinek v količinah, ki niso škodljive zdravju. Povečan prehranski vnos spermidina pa podaljšuje življenjsko dobo pri različnih modelnih organizmih, zaradi vloge v procesu avtofagije. Tudi ljudje, ki uživajo hrano bogato s spermidinom, v povprečju živijo dlje. Vrednotenje vsebnosti in načinov s katerimi je možno povečevati vsebnost prehransko zaželenih biogenih aminov v živilih bo v prihodnosti predstavljalo velik izziv, saj se v družbi vse bolj povečuje delež starostnikov pri katerih je potrebno s prehrano kompenzirati zmanjšano stopnjo endogene biosinteze.

6 VIRI

- Ali M. A., Poortvliet E., Stromberg R., Yngve A. 2011. Polyamines in foods: development of a food database. *Food & Nutrition Research*, 55, 5572
- Amorim H. V., Basso L. C., Crocomo O. J., Teixeira A. A. 1977. Polyamines in green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25, 4: 957-958
- Bae D. H., Lane D. J. R., Jansson P. J., Richardson D. R. 2018. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, 1862, 9: 2053-2068
- Baldovini N., Chaintreau A. 2020. Identification of key odorants in complex mixtures occurring in nature. *Natural Product Reports*, 37, 12: 1589-1626
- Barbieri F., Montanari C., Gardini F., Tabanelli G. 2019. Biogenic Amine Production by Lactic Acid Bacteria: A Review. *Foods*, 8, 1: 17
- Berlin I., Zimmer R., Cournot A., Payan C., Pendarriosse A. M. in sod. 1989. Determination and comparison of the pressor effect of tyramine during long-term moclobemide and tranlycypromine treatment in healthy volunteers. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 46, 3: 344-351
- Cao W., Wu X. J., Jia G., Zhao H., Chen X. L. in sod. 2017. New insights into the role of dietary spermine on inflammation, immune function and related-signalling molecules in the thymus and spleen of piglets. *Archives of Animal Nutrition*, 71, 3: 175-191
- Casero R. A., Stewart T. M., Pegg A. E. 2018. Polyamine metabolism and cancer: treatments, challenges and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, 18, 11: 681-695
- Cigic I. K., Rupnik S., Rijavec T., Ulrih N. P., Cigic B. 2020. Accumulation of Agmatine, Spermidine, and Spermine in Sprouts and Microgreens of Alfalfa, Fenugreek, Lentil, and Daikon Radish. *Foods*, 9, 5: 547
- Dabade D. S., Jacxsens L., Micolte L., Abatih E., Devlieghere F. in sod. 2021. Survey of multiple biogenic amines and correlation to microbiological quality and free amino acids in foods. *Food Control*, 120: 107497

- Doeun D., Davaatseren M., Chung M. S. 2017. Biogenic amines in foods. *Food Science and Biotechnology*, 26, 6: 1463-1474
- EFSA 2011. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented food. *EFSA Journal*, 9, 10:2393 doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2393: 93 str.
- Eisenberg T., Knauer H., Schauer A., Buttner S., Ruckstuhl C. in sod. 2009. Induction of autophagy by spermidine promotes longevity. *Nature Cell Biology*, 11, 11: 1305-U102
- Fan P. X., Liu P., Song P. X., Chen X. Y., Ma X. 2017. Moderate dietary protein restriction alters the composition of gut microbiota and improves ileal barrier function in adult pig model. *Scientific Reports*, 7, 1: 1-12
- Feng C., Teuber S., Gershwin M. E. 2016. Histamine (Scombroid) Fish Poisoning: a Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 50, 1: 64-69
- Freyberg Z., Saavedra J. M. 2020. Trace Amines and Trace Amine-Associated Receptors: A New Frontier in Cell Signaling. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 40, 2: 189-190
- Gardini F., Tofalo R., Belletti N., Iucci L., Suzzi G. in sod. 2006. Characterization of yeasts involved in the ripening of Pecorino Crotonese cheese. *Food Microbiology*, 23, 7: 641-648
- Gilad G. M., Gilad V. H. 2014. Long-Term (5 Years), High Daily Dosage of Dietary Agmatine-Evidence of Safety: A Case Report. *Journal of Medicinal Food*, 17, 11: 1256-1259
- Gutirea D. 2018. Vpliv sintetičnih in biogenih aminov na oksidacijo rastlinskih olj. Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 54
- Ha H. C., Sirisoma N. S., Kuppusamy P., Zweier J. L., Woster P. M. in sod. 1998. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 19: 11140-11145
- Halasz A., Barath A., Simonsarkadi L., Holzapfel W. 1994. BIOGENIC-AMINES AND THEIR PRODUCTION BY MICROORGANISMS IN FOOD. *Trends in Food Science & Technology*, 5, 2: 42-49
- Handa A. K., Fatima T., Mattoo A. K. 2018. Polyamines: Bio-Molecules with Diverse Functions in Plant and Human Health and Disease. *Frontiers in Chemistry*, 6: 10
- Keynan O., Mirovsky Y., Dekel S., Gilad V. H., Gilad G. M. 2010. Safety and Efficacy of Dietary Agmatine Sulfate in Lumbar Disc-associated Radiculopathy. An Open-label, Dose-escalating Study Followed by a Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *Pain Medicine*, 11, 3: 356-368
- Kiechl S., Pechlaner R., Willeit P., Notdurfter M., Paulweber B. in sod. 2018. Higher spermidine intake is linked to lower mortality: a prospective population-based study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 108, 2: 371-380
- Kim Y. I. 2018. Folate and cancer: a tale of Dr. Jekyll and Mr. Hyde? *American Journal of Clinical Nutrition*, 107, 2: 139-142
- Laube G., Bernstein H. G. 2017. Agmatine: multifunctional arginine metabolite and magic bullet in clinical neuroscience? *Biochemical Journal*, 474, 2619-2640
- Lewis E. C., Kravka J. M., Ferguson W., Eslin D., Brown V. I. in sod. 2020. A subset analysis of a phase II trial evaluating the use of DFMO as maintenance therapy for high-risk neuroblastoma. *International Journal of Cancer*, 147, 11: 3152-3159
- Madeo F., Eisenberg T., Pietrocola F., Kroemer G. 2018. Spermidine in health and disease. *Science*, 359, 6374: 1-11
- Mayer H. K., Fiechter G. 2018. UHPLC analysis of biogenic amines in different cheese varieties. *Food Control*, 93, 9-16
- Munoz-Esparza N. C., Costa-Catala J., Comas-Baste O., Toro-Funes N., Latorre-Moratalla M. L. in sod. 2021. Occurrence of Polyamines in Foods and the Influence of Cooking Processes. *Foods*, 10, 8: 1752
- Munoz-Esparza N. C., Latorre-Moratalla M. L., Comas-Baste O., Toro-Funes N., Veciana-Nogues M. T. in sod. 2019. Polyamines in Food. *Frontiers in Nutrition*, 6: 108
- Nishimura K., Shiina R., Kashiwagi K., Igarashi K. 2006. Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink. *Journal of Biochemistry*, 139, 1: 81-90

- Obata Y., Kubota-Sakashita M., Kasahara T., Mizuno M., Nemoto T. in sod. 2022. Phenethylamine is a substrate of monoamine oxidase B in the paraventricular thalamic nucleus. *Scientific Reports*, 12, 1: 1-11
- Onal A., Tekkeli S. E. K., Onal C. 2013. A review of the liquid chromatographic methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chemistry*, 138, 1: 509-515
- Polak T., Mejas R., Jamnik P., Cigic I. K., Ulrich N. P. in sod. 2021. Accumulation and Transformation of Biogenic Amines and Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) in Chickpea Sourdough. *Foods*, 10, 11: 2840
- Pucciarelli S., Moreschini B., Micozzi D., De Fronzo G. S., Carpi F. M. in sod. 2012. Spermidine and Spermine Are Enriched in Whole Blood of Nona/Centenarians. *Rejuvenation Research*, 15, 6: 590-595
- Qin J. F., Krivoruchko A., Ji B. Y., Chen Y., Kristensen M. in sod. 2021. Engineering yeast metabolism for the discovery and production of polyamines and polyamine analogues. *Nature Catalysis*, 4, 6: 498-509
- Santos M. H. S. 1996. Biogenic amines: Their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 2-3: 213-231
- Sari I. N., Setiawan T., Kim K. S., Wijaya Y. T., Cho K. W. in sod. 2021. Metabolism and function of polyamines in cancer progression. *Cancer Letters*, 519, 91-104
- Schroeder S., Hofer S. J., Zimmermann A., Pechlaner R., Dammbroeck C. in sod. 2021. Dietary spermidine improves cognitive function. *Cell Reports*, 35, 2: 108985
- Schwarz C., Stekovic S., Wirth M., Benson G., Royer P. in sod. 2018. Safety and tolerability of spermidine supplementation in mice and older adults with subjective cognitive decline. *Aging-U.S.*, 10, 1: 19-33
- Sudo N. 2019. Biogenic Amines: Signals Between Commensal Microbiota and Gut Physiology. *Frontiers in Endocrinology*, 10: 504
- Suzzi G., Gardini F. 2003. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 1: 41-54
- Šarič N. 2019. Vpliv izbranih biogenih aminov na oksidacijo rastlinskih olj, določeno z rancimatom. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 24
- Takano A., Kakehi J. I., Takahashi T. 2012. Thermospermine is Not a Minor Polyamine in the Plant Kingdom. *Plant and Cell Physiology*, 53, 4: 606-616
- Thangam E. B., Jemima E. A., Singh H., Baig M. S., Khan M. in sod. 2018. The Role of Histamine and Histamine Receptors in Mast Cell-Mediated Allergy and Inflammation: The Hunt for New Therapeutic Targets. *Frontiers in Immunology*, 9: 1873
- Tofalo R., Cocchi S., Suzzi G. 2019. Polyamines and Gut Microbiota. *Frontiers in Nutrition*, 6: 16
- Toro-Funes N., Bosch-Fuste J., Veciana-Nogues M. T., Izquierdo-Pulido M., Vidal-Carou M. C. 2013. In vitro antioxidant activity of dietary polyamines. *Food Research International*, 51, 1: 141-147
- Vargas A. J., Ashbeck E. L., Wertheim B. C., Wallace R. B., Neuhaus M. L. in sod. 2015. Dietary polyamine intake and colorectal cancer risk in postmenopausal women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 102, 2: 411-419
- Verma N., Hooda V., Gahlaut A., Gothwal A. 2020. Enzymatic biosensors for the quantification of biogenic amines: a literature update. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40, 1: 1-14
- Vitale A. A., Pomilio A. B., Canellas C. O., Vitale M. G., Putz E. M. in sod. 2011. In Vivo Long-Term Kinetics of Radiolabeled N,N-Dimethyltryptamine and Tryptamine. *Journal of Nuclear Medicine*, 52, 6: 970-977
- Wirth M., Benson G., Schwarz C., Kobe T., Grittner U. in sod. 2018. The effect of spermidine on memory performance in older adults at risk for dementia: A randomized controlled trial. *Cortex*, 109, 181-188
- Wojcik W., Lukasiewicz M., Puppel K. 2021. Biogenic amines: formation, action and toxicity - a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101, 7: 2634-2640
- Zou D. A., Zhao Z. Y., Li L., Min Y., Zhang D. Y. in sod. A comprehensive review of spermidine: Safety, health effects, absorption and metabolism, food materials evaluation, physical and chemical processing, and bioprocessing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21, 3: 2820-2842

PREHRANSKA VLAKNINA V ŽIVILIH IN PREHRANI PRIHODNOSTI

Jasna BERTONCELJ¹, Mojca KOROŠEC² in Blaž FERJANČIČ³

Povzetek: Prehranska vlaknina (PV) je pomembno hranilo v uravnoteženi prehrani, ker ima ugoden vpliv na nekatere fiziološke procese v prebavnem traktu in ob zadostnem vnosu zmanjšuje tveganje za nastanek kroničnih nenalezljivih bolezni. V zadnjih desetletjih je bila PV predmet številnih razprav, ki so vključevale ustrezno definicijo PV, fiziološke učinke in vpliv na zdravje človeka, vnos PV pri prebivalcih, analitiko in možnosti uporabe v živilstvu. Rezultati prehranskih študij kažejo, da je vnos PV pri prebivalcih razvitih držav precej manjši od priporočenega. Zdrav način prehranjevanja bi moral vključevati različna polnovredna živila, bogata s PV, kot so polnozrnata žita, sadje, zelenjava, stročnice, oreški in semena, ki ne prispevajo le k doseganju priporočenega dnevnega vnosa PV, ampak tudi k vnosu drugih pomembnih hranil. Glede na to, da koristne fiziološke učinke PV na zdravje, kot so preprečevanje zaprtja, izboljšanje inzulinski odziv, ugoden vpliv na serumske lipide, krvni tlak, telesno maso, sladkorno bolezen tipa 2, imunski sistem, dosežemo z zadostnim vnosom PV, je potrebna natančna določitev vsebnosti le-te v živilih. Ustrezne analitske metode za določitev vsebnosti PV so potrebne zaradi različnih komponent PV s kompleksno kemijsko strukturo in spreminjajoče se definicije. Pravilna določitev vsebnosti skupne PV ali posameznih komponent je potrebna tudi za označevanje hranilne vrednosti živil in uporabo prehranskih in zdravstvenih trditvev, ki se nanašajo na PV, ter za posodobitev podatkovnih baz o sestavi živil, ki služijo kot orodje za oceno vnosa PV v populaciji. V zadnjih letih se povečuje uporaba PV za preoblikovanje živil z namenom povečanja vsebnosti in posledično lažje doseganje priporočenega vnosa PV pri potrošnikih. S pravilno izbiro dodane PV je mogoče izboljšati hranilno vrednost, obenem pa ohraniti senzorične in tehnološke lastnosti živilskega izdelka. Primere uspešne obogatitve živilskih izdelkov z različnimi vrstami PV predstavljajo različni pekovski, mesni in mlečni izdelki ter pijače. Kot dodatek lahko uporabimo izolirano PV, živila, ki so bogata vir PV, in tudi PV iz stranskih produktov v predelavi hrane, s čimer ustvarjamo dodano vrednost in ugodno vplivamo na zmanjšanje količin odpadne hrane.

Ključne besede: prehranska vlaknina, fiziološki učinki, prehrana, priporočila za vnos, preoblikovanje živil

DIETARY FIBRE IN FOODS AND FUTURE DIET

Abstract: Dietary fibre (DF) is an important nutrient in a balanced diet with beneficial effect on certain physiological processes in the digestive tract and prevention of non-communicable diseases. In recent decades, DF has been a subject of many discussions, including the definition of DF, physiological effects and impact on human health, dietary intake, analytics and uses in food processing. The nutrition studies show that the intake of DF in the population in developed countries is much lower than recommended. A healthy diet should include a variety of whole foods rich in DF, such as whole grains, fruits, vegetables, legumes, nuts and seeds, which not only contribute to the recommended daily intake of DF, but also other important nutrients. Since the beneficial physiological effects of DF on health, such as prevention of constipation, improved insulin response, positive effect on serum lipids, blood pressure, body weight, type 2 diabetes, immune system, are achieved with adequate DF intake, accurate determination of DF content in foods is important. Appropriate analytical methods to determine the DF content are required due to the different components of DF with a complex chemical structure and changing definition. Accurate determination of the content of total PV or individual components is also necessary to label the nutritional value of foods, for the use of nutrition and health claims related to DF, and to update food composition databases that serve as a tool to estimate DF intake in the population. In recent years, the

¹ izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: jasna.bertoncelj@bf.uni-lj.si

² izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: mojca.korosec@bf.uni-lj.si

³ asist. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: blaz.ferjancic@bf.uni-lj.si

use of DF for food reformulation has been increasing in order to increase the DF content and consequently achieve higher fibre intake among consumers. With the proper choice of added DF, it is possible to improve the nutritional value while preserve the sensory and technological properties of the food products. Examples are bakery, meat and dairy products, and various beverages, successfully enriched with various types of DF. Possible sources in food reformulation include isolated DF, foods that are a rich source of DF, as well as DF from by-products in food processing, which creates added value and has a positive effect on reducing the amount of food waste.

Key words: dietary fibre, physiological effects, nutrition, intake recommendations, food reformulation

1 UVOD

Prehranska vlaknina (PV) je pomemben del uravnotežene prehrane in za človeka predstavlja pomembne varovalne snovi, ker ugodno vpliva na nekatere funkcije v prebavnem traktu in zmanjšuje tveganje za nastanek kroničnih nenalezljivih bolezni. PV so ogljikovi hidrati ali ogljikovim hidratom podobne spojine, ki so odporne na prebavo in absorpcijo v tankem črevesu človeka in se popolno ali delno fermentirajo v debelem črevesu pod vplivom črevesne mikrobiote. Eden izmed stranskih produktov mikrobne fermentacije so kratkoverižne maščobne kisline, ki neposredno ugodno vplivajo na zdravje epitelnih celic debelega črevesa (Barber in sod., 2020; Evans, 2020). K PV prištevamo neškrobne polisaharide, rezistentne oligosaharide, rezistentni škrob in lignin, ki so naravno prisotni v živilih, lahko pa jih pridobimo iz živil z uporabo kemijskih, fizikalnih ali encimskih metod, ali jih sintetiziramo, in imajo dokazan fiziološki učinek ali ugoden vpliv na zdravje (EFSA, 2010; Cruz-Requena in sod., 2019; Augustin in sod., 2020). PV je pomembna bioaktivna sestavina živil rastlinskega izvora, glavni viri so polnozrnata žita, stročnice, sadje in zelenjava, oreški in semena (Dhingra in sod., 2012).

V zadnjih desetletjih je prehrana v zahodnih družbah radikalno drugačna od prehrane naših prednikov, zaradi pomanjkanja sveže pripravljenih obrokov kot posledice spremenjenega življenjskega sloga, in povečanega uživanja predelanih živil, ki so pogosto osiromašena s PV, in s tem povezanega zmanjšanja vnosa nepredelanih živil rastlinskega izvora, ki so vir PV. Posledično se je vnos PV pri prebivalcih razvitih držav zmanjšal in je precej pod priporočili, ki večinoma navajajo vnos vsaj 30 g dnevno (Li in Komarek, 2017; Stephen in sod., 2017; O'Keefe, 2019; Barber in sod., 2020). Za doseganje priporočenega vnosa PV bi morali potrošniki povečati vnos zelenjave in sadja ter polnozrnatih živil. Hkrati so potrebni različni javno-zdravstveni ukrepi in ustrezne prehranske politike. Da bi povečali število odraslih, ki dosegajo priporočen vnos PV, je potrebno ozaveščanje potrošnikov o pomenu uživanja PV, označevanje njene vsebnosti na označbi živil, ustrezne kampanje, informacije na družbenih omrežjih, preoblikovanje živil in širša dostopnost polnozrnatih različic priljubljenih živil (Stephen in sod., 2017; Evans, 2020; Barber in sod., 2020).

Analiza vsebnosti PV v živilih je smiselna zaradi njenega pomena v številnih fizioloških procesih in pri zmanjševanju tveganja za razvoj bolezni. Za določanje vsebnosti je razvitih in uradno priporočenih več metod, tako za določanje skupne, topne in netopne PV, kot tudi za določanje posameznih komponent vlaknine. Metode so se spreminjale in posodabljale skladno s spreminjanjem definicije za PV (McCleary in sod., 2013; Zielinski in Rozema, 2013; Macagnan in sod., 2016; Gan in sod., 2021). V zadnjem času je PV pridobila še dodaten pomen, povezan z njeno uporabo kot funkcionalne in tehnološko pomembne sestavine. Zato je natančna analitika vsebnosti PV pomembna tudi za pravilno označevanje živil ter za presojanje živil z namenom možnosti uporabe prehranskih in zdravstvenih trditvev, ki se nanašajo na PV. Glede na vsebnost PV v živilu je možno uporabiti dve prehranski trditvi (Uredba 1924/2006), morebitne zdravstvene trditve pa ne veljajo za prehransko vlaknino na splošno, ampak se morajo nanašati na točno določeno komponento oz. vrsto prehranske vlaknine, za katero je dokazan fiziološki učinek (Salobir in sod., 2015; Stephen in sod., 2017).

2 ZGODOVINA

Pomen PV so poznali že antični Grki, ki so pri težavah z zaprtjem priporočali pšenične otrobe. Hipokrat je prvi opisal odvajalne učinke polnozrnate pšenice. Zanimanje za PV se je v dvajsetih letih prejšnjega stoletja povečalo z objavami ustanovitelja podjetja Kellogg, vključno z navajanjem zdravstvenih koristi otrobov, kot so lažje odvajanje, povečana masa blata in preprečevanje bolezni. Med leti 1930 in 1970 je na področju PV vladalo zatišje, potem se je znanstveni interes ponovno povečal, irski zdravnik Burkitt je nakazal pomen PV za zmanjšanje tveganja za nastanek kroničnih nenalezljivih bolezni, vključno s sladkorno boleznijo, srčno-žilnimi boleznimi, rakom debelega črevesa, divertikulozo in debelostjo, istočasno pa je raziskovalec in zdravnik Trowell preučeval povezavo med PV in toksemijo v nosečnosti. Od takrat se intenzivno nadaljujejo raziskave v povezavi z definicijo PV, analitiko, določanjem zdravstvenih učinkov in možnostih uporabe v živilstvu (Yangilar, 2013; Hijová in sod., 2019; O'Keefe, 2019; Barber in sod., 2020). Čeprav so z raziskavami PV začeli prehranski strokovnjaki in zdravniki, saj se je zgodnje delo osredotočalo na biomedicinski vidik, je tema hitro pritegnila pozornost strokovnjakov s področja kemije rastlin, živilske kemije, tehnologije predelave živil, prehranske biokemije in farmaceutike. Danes PV predstavlja interdisciplinarno raziskovalno temo, ki zahteva tesno sodelovanje strokovnjakov z različnih raziskovalnih področij (preglednica 1) (Li in Komarek, 2017).

Preglednica 1: Zgodovina raziskav na temo prehranske vlaknine (povzeto po Li in Komarek, 2017)

Obdobje	Področje	Glavni napredek
pred 1970	fiziološko-botanični vidik	prve raziskave, s poudarkom na fizioloških učinkih PV z opazovalnim pristopom
1970 do 1980	humana prehrana, prehranska biokemija	uveljavitev raziskovalnega področja z večjim poudarkom na razumevanju vzročno-posledične povezave s pridobitvijo kliničnih in epidemioloških podatkov
1980 do 1990	kemija, humana prehrana	raziskovalno področje PV dobro uveljavljeno, z vključitvijo kemijskih znanosti opravljena klasifikacija, karakterizacija in razvoj metod določanja PV
1990 do 2000	kemija, humana prehrana, znanost o rastlinah, živilstvo	nadaljnja karakterizacija komponent PV, napredek analitičnih metod, iskanje povezav med strukturnimi značilnostmi komponent PV in fiziološkimi funkcijami, raziskave virov PV, ekstrakcija in priprava prečiščene PV kot funkcionalne sestavine v živilstvu
po 2000	kemija, humana prehrana, nutrigenomika, znanost o rastlinah, živilske tehnologije, vede o potrošniku	izjemen razmah raziskav s pomembnim napredkom na številnih interdisciplinarnih področjih, splošno sprejeta definicija PV, velik poudarek na celovitem razumevanju funkcionalnosti PV ter uporaba PV za razvoj funkcionalnih živil

3 DEFINICIJA PREHRANSKE VLAKNINE

Pri oblikovanju definicije PV so se znanstveniki osredotočali na različne vidike, povezane s kemijsko sestavo, fiziološkimi učinki in izvorom vlaknine. Z napredkom analitike in razvojem novih metod za določitev vsebnosti PV ter novih znanstvenih odkritij v zvezi z njeno fiziološko vlogo se je definicija prehranske vlaknine spreminjala (Cruz-Requena in sod., 2019). Splošno privzeto definicijo, ki je osnova nacionalnim organizacijam pri oblikovanju lastnih priporočil, je leta 2009 sprejela komisija Codex Alimentarius. Prehransko vlaknino definira kot polimere ogljikovih hidratov, sestavljene iz deset ali več monomernih enot, ki jih endogeni encimi v tankem črevesu ne razgradijo. Deli jih v tri kategorije: i) užitni polimeri ogljikovih hidratov, naravno prisotni v živilu, ii) polimeri ogljikovih hidratov, pridobljeni iz živil s fizikalnimi, encimskimi ali kemijskimi metodami in za katere je dokazan ugoden fiziološki učinek na zdravje ter iii) sintetični polimeri ogljikovih hidratov z dokazano ugodnim učinkom na zdravje. Odločitev, ali se v definicijo vključi tudi oligosaharide s 3 do 9 monomernimi enotami je prepuščena krovnim organizacijam posamezne države ali skupnosti držav (CAC, 2017). V Sloveniji velja evropska definicija, ki k prehranski vlaknini vključuje tudi oligosaharide s 3 do 9 monomernimi enotami (Uredba 1169/2011). V uredbi je poleg definicije podana tudi energijska vrednost prehranske vlaknine, ki znaša 8 kJ/g oz. 2 kcal/g.

Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) je PV definirala kot neprebavljive ogljikove hidrate skupaj z ligninom in vključuje neškrobne polisaharide (celuloza, hemiceluloze, pektini, hidrokoloidi), rezistentne oligosaharide (frukto-oligosaharidi, galakto-oligosaharidi), rezistentni škrob in lignin, vezan na polisaharide PV (EFSA, 2010).

Različne definicije prehranske vlaknine, predlagane na nacionalni ali mednarodni ravni, so precej skladne, vendar obstajajo razlike glede vključevanja polimerov ogljikovih hidratov s 3 do 9 monomernimi enotami in lignina ter razlikovanja med intrinzično in ekstrinzično prehransko vlaknino. Intrinzična prehranska vlaknina je v živilih naravno prisotna, ekstrinzična pa je živilom dodana s strani proizvajalca (Stephen in sod., 2017; Cruz-Requena in sod., 2019).

Preglednica 2: Komponente prehranske vlaknine glede na topnost in fermentabilnost ter glavni viri (povzeto po Dhingra in sod., 2012; Mehta in sod., 2015)

Lastnost	Komponenta	Opis	Glavni vir
Netopna PV, slabo ali nefermentabilna	celuloza	glavna strukturna komponenta celične stene rastlin	zelenjava, sladkorna pesa, različni otrobi, sadje
	hemiceluloza	polisaharidi celične stene (β -1,4 glukozidne vezi)	žitna zrna
	lignin	neškrobna komponenta celične stene rastlin, aromatski polimer	lesnate rastline
Topna PV, dobro fermentabilna	pektin	komponenta celične stene z D-galakturonsko kislino, tvori gele	sadje, zelenjava, stročnice, sladkorna pesa, krompir
	β -glukan	polimeri glukoze z razvejano strukturo	celične stene zrna ovsa in ječmena
	gume	sestavljene monomeri heksoz in pentoz	semena stročnic, izvlečki morskih alg
	inulin/ oligosaharidi	kratkoverižni ogljikovi hidrati	čebula, cikorija, topinambur, por
	rezistentni škrob*	škrob, ki se ne hidrolizira v tankem črevesu	stročnice, žitna zrna, surov krompir, zelene banane, koruza, kuhana in ohlajena živila

*več tipov rezistentnega škroba: fizično nedostopen škrob; rezistentna škrobna zrna; retrogradiran škrob; kemijsko modificiran škrob; amiloza-lipidni kompleksi

4 VIRI PREHRANSKE VLAKNINE

Prehransko pomembni viri prehranske vlaknine so živila rastlinskega izvora, žita, stročnice, sadje, zelenjava, oreški in izdelki iz njih. Žita so bogata z netopno prehransko vlaknino (celuloza, hemiceluloze), sadje in zelenjava pa sta dober vir pektinov. Dober vir β -glukanov sta predvsem ječmen in oves (EFSA, 2010). Na tržišču so tudi živila, obogatena s prehransko vlaknino, in prehranska dopolnila. V preglednici 2 je prikazano katera živila vsebujejo določeno komponento PV, preglednica 3 pa prikazuje vsebnost vlaknine, določeno z metodo AOAC 991.43, v pogosto zaužitih živilih med Slovenci.

Preglednica 3: Vsebnost prehranske vlaknine v pogosto zaužitih živilih (Ferjančič, 2021)

Skupina živil	Živilo	Vsebnost skupne PV		
		(g/100 g)	na porcijo (g)	velikost porcije (g)
Zelenjava	korenje	3,8	1,9	50
	paradižnik	1,4	1,2	85
	zelena solata	0,6	0,3	50
	paprika	1,7	1,4	85
	cvetača (kuhana)	2,8	2,5	90
	brokoli (kuhan)	4,4	4,0	90
	kumare	0,8	0,7	85
	zelje	2,1	1,8	85
	vložene kumarice	1,4	0,7	50
Krompir	kuhan	1,2	2,1	175
	pečen	3,4	6,0	175
	pomfri	4,5	7,9	175
Sadje	banana	1,9	2,9	150
	jabolko (neolupljeno)	1,9	2,9	150
	hruška (neolupljena)	3,9	5,9	150
	mandarina	1,1	1,7	150
	pomaranča	3,4	5,1	150
	grozdje	2,1	3,2	150
Žita in izdelki iz žit	kruh bel	3,0	1,8	60
	kruh črn	3,4	2,0	60
	riž (kuhan)	1,9	3,3	175
	koruzni kosmiči (nesladkani)	2,7	1,8	65
	ovseni kosmiči (surovi)	11,1	7,2	65
	testenine (kuhane)	1,8	3,2	175
	polenta (kuhana)	1,4	2,5	175
	ješprenj (kuhan)	5,3	9,3	175
Stročnice	grah (v konzervi)	5,3	7,4	140
	fižol (v konzervi)	3,7	5,2	140
Oreški	mandlji	17,5	5,4	30
	lešniki	10,4	3,0	30
	orehi	13,6	4,2	30

5 POMEN V PREHRANI

Kljub utemeljenim sodobnim znanstvenim dokazom, vključno s kliničnimi študijami, ki potrjujejo številne zdravstvene koristi PV in dokazujejo večje tveganje za razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni ob nezadostnem vnosu PV in ob različnih akcijah ozaveščanja potrošnikov, vnos PV pri prebivalcih ne dosega priporočil (Barber in sod., 2020). Koristi zadostnega vnosa PV so dolgoročne, klinični simptomi nezadostnega vnosa PV pa niso neposredno očitni, zato je veliko potrošnikov mnenja, da uživajo dovolj PV, hkrati pa ne poznajo dejanske vsebnosti PV v živilih oz. živil, ki so dober vir PV. Zaradi teh razlogov je bilo vnosu PV do sedaj namenjeno manj pozornosti v primerjavi s količinami zaužitega sadja, zelenjave, sladkorjev, soli in maščob (Vilà in sod., 2022). Velika izbira, razpoložljivost, priročnost in razmeroma nizki stroški visoko predelanih živil na tržišču potrošnikov ne bi smeli prisiliti v razmeroma nezdrave odločitve, čeprav je zaskrbljujoče, da zdrava, polnovredna živila

stanejo približno 25–30 % več kot manj zdrava, visoko predelana živila. Krivde ne smemo enostavno prenesti na živilska podjetja, saj imamo vsi možnost izbire, dejstvo pa je, da bi imela izbira živil z veliko vsebnostjo PV verjetno velik pozitiven vpliv na prihodnje zdravje in dobro počutje potrošnikov ter bi verjetno vplivala na strateške komercialne načrte živilskih podjetij in razvoj živil z ustrežnejšo hranilno sestavo (Barber in sod., 2020).

5.1 PRIPOROČILA ZA VNOS PREHRANSKE VLAKNINE

Priporočila za vnos PV so podana v g/dan in/ali na enoto energije (MJ ali 1000 kcal). Nacionalne referenčne vrednosti za vnos hranil (Referenčne vrednosti ..., 2020) navajajo dnevni vnos prehranske vlaknine vsaj 30 g za odraslega posameznika (približno 3,9 g/MJ za ženske in 3,1 g/MJ za moške stare 25 do 50 let, z nižjo ravno telesne dejavnosti). Priporočen vnos PV za otroke se giblje med 10 in 25 g/dan, spodnja meja priporočil velja za otroke med 1 in 3 leti starosti, zgornja meja pa se priporoča za mladostnike med 14 in 18 leti (Stephen in sod., 2017; EFSA, 2010). EFSA za odrasle priporoča vnos vsaj 25 g prehranske vlaknine dnevno za redno odvajanje, za zmanjšanje tveganja za razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni pa je potreben večji vnos (EFSA, 2010; EFSA, 2017). Stephen in sod. (2017) navajajo, da so v primeru podajanja vnosa PV glede na priporočen energijski vnos trenutna priporočila za vnos PV za odrasle v večini evropskih držav in v ZDA med 30–35 g na dan za moške in med 25–32 g na dan za ženske.

5.2 OCENA VNOSA PREHRANSKE VLAKNINE

Zadosten vnos prehranske vlaknine je pomemben v vseh življenjskih obdobjih. Ocena vnosa prehranske vlaknine temelji na prehranskih raziskavah, kjer na podlagi vnosa živil pri obravnavani populaciji ocenijo vnos PV. Raziskovanje prehranskega vnosa vlaknine je zahtevno, saj je po eni strani potrebno upoštevati podrobne podatke o prehrani prebivalcev na individualnem nivoju, po drugi strani pa tudi natančne podatke o sestavi zaužitih živil. Podatkov o vsebnosti prehranske vlaknine v določenih živilih mnogokrat ni in se je zato potrebno posluževati kombiniranja podatkov iz različnih podatkovnih baz o sestavi živil. Brez podpore aktualiziranih podatkovnih baz, ki temeljijo na rezultatih natančno izvedenih kemijskih analiz živil, ni mogoče natančno oceniti vnosa hranil, med drugim tudi prehranske vlaknine (Ferjančič, 2021; Koroušić Seljak in sod., 2021). Podatkovne baze niso poenotene glede metodologije določanja PV v živilih, kar onemogoča primerjavo podatkov med podatkovnimi bazami in primerjavo podatkov o oceni vnosa prehranske vlaknine (Westenbrink in sod., 2013). Trenutno so podatki v podatkovnih bazah o sestavi živil, na katerih so osnovane ocene vnosa prehranske vlaknine pri populaciji, v večini pridobljeni z metodama AOAC 985.29 in AOAC 991.43 (Westenbrink in sod., 2013; Zielinski in Rozema, 2013; Phillips in sod., 2019).

EFSA ocenjuje, da povprečni vnos PV pri Evropejcih variira od 10 do 20 g na dan pri majhnih otrocih (starih manj kot 10 do 12 let), od 15 do 30 g na dan pri mladostnikih in od 16 do 29 g na dan pri odraslih (EFSA, 2010). Stephen in sod. (2017) so opravili obsežen pregled vnosa PV pri prebivalcih evropskih držav, vključili so skoraj 140.000 posameznikov, od zgodnjega otroštva do starejše odraslosti. Povprečen vnos PV pri odraslih v Evropi znaša 18–24 g/dan za moške in 16–20 g/dan za ženske. Na osnovi poročanih podatkov je v Evropi vnos PV za

približno eno tretjino pod priporočenim, kar pomeni, da bi morala večina prebivalcev povečati vnos PV v povprečju za približno 50 % v primerjavi s trenutnim vnosom. Med odraslimi kot vir prehranske vlaknine prevladujejo žita in žitni izdelki – v Španiji predstavljajo 32–33 % vnosa, na Irskem, Nizozemskem in Švedskem pa tudi 48–49 %. Glavni vir predstavlja kruh, in sicer 11–30 % skupne PV. Sledijo žita za zajtrk, ostali pekovski izdelki in testenine. Vnosi PV z zelenjavo, s sadjem in krompirjem so nekoliko manjši, zelenjava predstavlja 12–21 % vnosa, sadje 8–23 % in krompir 6–19 %. V različnih deležih vnosa slednjih kategorij se odražajo tudi razlike v geografskem položaju, podnebnih razmerah in s tem povezanimi kulturnimi normami. Uporaba krompirja je denimo bolj razširjena v hladnejših krajih, medtem ko južneje uživajo več drugih vrst škrobnih živil. Druge skupine živil (mlečni izdelki, predpripravljene jedi, prigrizki) k vnosu PV doprinesejo zelo majhne količine. Med prebivalci evropskih držav je bilo malo razlik v vnosu PV, podatki so bili na splošno primerljivi med posameznimi starostnimi skupinami odraslih (Stephen in sod., 2017). V Sloveniji je bila v letu 2019 zaključena nacionalna prehranska raziskava SI.Menu 2017/18, ki je omogočila oceno vnosa PV pri mladostnikih, odraslih in starejših odraslih, v starosti med 10 in 74 let. Rezultati so pokazali, da je vnos PV nezadosten kar pri 90 % mladostnikov in odraslih ter pri 84 % starejših. Povprečni dnevni vnos PV pri starejših odraslih znaša 22 g, pri odraslih 21 g, pri mladostnikih pa le 20 g, na kar vpliva način prehranjevanja, ki vključuje preveč visoko predelanih živil z majhno vsebnostjo PV (Koroušić Seljak in sod., 2021).

5.3 VPLIV PREHRANSKE VLAKNINE NA ZDRAVJE

V zadnjih desetletjih je PV zaradi dokazanih ugodnih vplivov na zdravje pridobila na pomenu za humano prehrano. V definiciji PV je navedeno, da morajo imeti komponente PV ugodno fiziološko funkcijo v človeškem telesu (CAC, 2017). Fiziološke funkcije PV in njeni vplivi na zdravje človeka so tesno povezane. Najbolj znan fiziološki učinek predvsem nefermentabilne PV, ki se povezuje z ugodnim vplivom na zdravje, je sposobnost PV za vezavo vode. S tem PV poveča volumen blata v debelem črevesu in ga zmehča, s čimer skrajša čas njegove pasaže in pripomore k rednemu in lažjemu odvajanju (Champ in sod., 2003; EFSA, 2010). Redno odvajanje blata zmanjšuje tveganje za pojav raka debelega črevesa in danke, kar pomeni, da PV zmanjšuje tveganje za pojav omenjenih rakavih obolenj (Murphy in sod., 2012). Vpliv PV na zmanjšanje tveganja za nastanek nekaterih vrst raka je povezan tudi s procesom fermentacije PV, pri kateri nastajajo kratkoverižne maščobne kisline (Cummings in sod., 2004; Jane in sod., 2019; Koç in sod., 2020), ki znižujejo vrednost pH v debelem črevesu ter predstavljajo energijski substrat za celice črevesnega epitelija, obenem pa pospešujejo fragmentacijo dednega materiala rakavih celic (Zeng in sod., 2017) ter preprečujejo rast tumorskih celic (Kumar in sod., 2020). Kratkoverižne maščobne kisline vstopajo v krvni obtok, kjer prevzamejo tudi funkcijo signalnih molekul, s tem pa se njihov učinek na rakave celice prenese po celem telesu. Zadosten vnos PV tako pripomore k zmanjšanju tveganja za vsa rakava obolenja (Kim in Je, 2016).

Vpliv PV na zdravje ni omejen samo na zmanjševanje tveganja za pojav rakavih obolenj, ampak zajema širši vidik preprečevanja nastanka kroničnih nenalezljivih bolezni, kot so sladkorna bolezen tipa 2, debelost in srčno-žilna obolenja (EFSA, 2010). Vnos PV zmanjšuje tveganje za razvoj sladkorne bolezni tipa 2 z uravnavanjem in manjšanjem postprandialnega inzulinskega

odziva. PV namreč podaljša čas praznjenja želodca, zmanjša hitrost hidrolize izkoristljivih ogljikovih hidratov, nekompetitivno inhibira amilolitične encime ter podaljša čas difuzije in absorpcije sladkorjev, kar privede do počasnejšega porasta krvnega sladkorja po obroku in s tem manjšega inzulinskega odziva, posledično pa se zmanjša tveganje za pojav sladkorne bolezni tipa 2 (Goff in sod., 2018). Navedeni mehanizmi so povezani tudi s preprečevanjem pojava čezmerne telesne mase in debelosti. Poleg uravnavanja ravni glukoze v krvi uživanje PV zmanjša apetit in podaljša občutek sitosti, kar privede do manjšega energijskega vnosa in posledično pripomore k ohranjanju telesne mase (Lyon in Kacinik, 2012).

Smrtnost zaradi srčno-žilnih bolezni in vnos PV sta obratno sorazmerna (Miyazawa in sod., 2020). Uživanje PV, kot že omenjeno, znižuje inzulinski odziv in s tem pripomore k zaščiti pred metabolnim sindromom, ki vodi v sosledje fizioloških odzivov, ki povečajo tveganje za pojav srčno-žilnih bolezni, predvsem povišanega krvnega tlaka. Poleg tega uživanje PV poveča nastanek dušikovega oksida v telesu. Slednji deluje vazodilatatorno ter znižuje krvni tlak (Bodinhams in sod., 2012; Ulmius in sod., 2009). Eden izmed vzrokov za pojav srčno-žilnih bolezni so tudi povišani lipidi v krvi. Zadosten vnos PV zmanjša celokupno zalogo holesterola v telesu preko zamreženja žolčnih soli, ki se ne reabsorbirajo, ampak se izločijo z blatom. Tako se LDL holesterol porablja za *de novo* sintezo žolčnih kislin (Theuwissen in Mensink, 2008).

PV na zdravje človeka vpliva sistemsko, kar pomeni, da njeno delovanje ni omejeno zgolj na prebavila. Z vnosom PV naj bi bila povezana tudi nevrolška in psihološka obolenja. Večji vnos PV zmanjšuje tveganje za pojav demence, ki ni povezana s možgansko kapjo (Yamagishi in sod., 2022). Kot zanimivost lahko omenimo, da je vnos PV povezan tudi s pojavom depresije; za manjši pojav depresije je pomemben predvsem vnos topne PV (Swann in sod., 2020).

5.4 POTENCIALNI NEŽELENI UČINKI PREHRANSKE VLAKNINE

Obstajajo tudi dokazi o možnih neželenih učinkih PV na zdravje. Nekatere vrste vlaknine zavirajo aktivnost encimov trebušne slinavke, ki sodelujejo pri prebavi ogljikovih hidratov, maščob in beljakovin, vendar obseg te inhibicije glede na dnevne potrebe ni znan. Zato tveganja, povezanega z uživanjem PV, ni mogoče natančno opredeliti. Sicer potencialni neželeni učinki PV vključujejo zmanjšano absorpcijo določenih vitaminov in mineralov zaradi vezave z vlaknino. Zmanjšanje absorpcije mineralov je povezano s prisotnostjo fitinske kisline. Pri presnovi prehranske vlaknine se lahko tvorijo fitobenzoati, ki lahko povzročijo upočasnitev prebave in absorpcije beljakovin, kar pa ne predstavlja težave pri zadostni prehranjenosti posameznikov. Fermentacija PV z anaerobnimi bakterijami v debelem črevesu lahko povzroči napenjanje zaradi proizvodnje vodika in ogljikovega dioksida (Li in Komarek, 2017; Yegin in sod., 2020). Prevelik vnos PV oz. prehitro povečanje vnosa lahko poleg napenjanja povzroči tudi napihnjenost, prepogosto odvajanje blata ali zaprtost. Če želimo vnos vlaknine povečati, je smiselno to storiti postopoma, ob uživanju zadostne količine tekočine, predvsem vode. Morebitne težave pri večini posameznikov izzvenijo ob daljšem uživanju večjih količin vlaknine. Čeprav je povečanje vnosa vlaknine pri prebivalcih potrebno, to ne pomeni, da lahko potrošniki pri tem pretiravajo. Obstaja namreč velika individualna variabilnost odziva na PV in možne nevšečnosti z velikim vnosom. Malo verjetno pa je, da bi imeli zdravi odrasli, ki uživajo PV v priporočenih količinah, težave z absorpcijo hranil; vendar pa velik vnos PV morda ni

primeren za otroke in starejše odrasle, ker je bilo pri teh populacijah opravljenih malo raziskav (Yegin in sod., 2020).

5.5 UKREPI PREHRANSKE POLITIKE ZA DOSEGANJE PRIPOROČENEGA VNOSA PREHRANSKE VLAKNINE

Zaradi premajhnega vnosa PV so pomembni ukrepi prehranske politike, ki bi lahko izboljšali stanje na tem področju, in vključujejo ustrezno označevanje živil, izobraževanje potrošnikov, večjo razpoložljivost polnozrnatih živil in povečano trženje polnozrnatih živil ter sadja in zelenjave. Na spletni strani Evropske komisije (EC, 2022) so opisani nekateri ukrepi za povečanje vnosa PV. Zelo znana je Šolska shema, ki je ukrep skupne kmetijske politike EU, ki otrokom v osnovni šoli in zavodih za vzgojo in izobraževanje otrok in mladostnikov s posebnimi potrebami zagotavlja brezplačen dodatni obrok sadja in zelenjave ter mleka in mlečnih izdelkov. Obvezni spremljevalni izobraževalni ukrepi povezujejo otroke s kmetijstvom in spodbujajo zdravo prehranjevanje, ki je pogoj za zagotavljanje zadostnega vnosa PV. Na področju šolskih prehranskih politik je v EU 15 držav vključilo vnos PV v svoje smernice šolske prehrane. Priporočeni vnosi so izraženi v gramih na obrok ali v gramih na enoto energije, npr. na Hrvaškem morajo šolska kosila vsebovati več kot 10 g PV/1000 kcal. Nacionalna prehranska priporočila v mnogih državah članicah EU priporočajo spodbujanje vnosa PV z uživanjem sadja, zelenjave in polnozrnatih žit (EC, 2022).

V Sloveniji, v okviru ukrepov Nacionalnega programa o prehrani in telesni dejavnosti za zdravje, 2015–2025 (Resolucija ..., 2015), potekajo prizadevanja za povečanje uživanja vnosa sadja in zelenjave ter povečanje deleža prebivalcev, ki uživajo polnozrnatna živila, da se v prehrani doseže vnos najmanj 30 g prehranske vlaknine dnevno. Pomembno je ustrezno načrtovanje prehrane/obrokov v vzgojno-izobraževalnih in drugih javnih zavodih, skladno s smernicami in priporočili. Zastavljen cilj nacionalnega programa je tudi povečanje ponudbe prehransko ustrežnejših in preoblikovanih živilskih izdelkov, kamor sodi tudi vključevanje PV. Z namenom čim boljšega doseganja cilja je Slovenija pristopila tudi k evropskemu projektu za spodbujanje uživanja polnozrnatih izdelkov na osnovi prenosa uspešnih izkušenj z Danske, ki je na tem področju zelo uspešna. Pomembno je zagotavljanje informacij za boljše svetovanje javnosti o specifičnih virih živil, ki bi jih morali uživati, da bi dosegli zdravstvene koristi (Evans, 2020).

6 UPORABA PREHRANSKE VLAKNINE V ŽIVILSTVU

PV ima široko uporabo v živilstvu kot funkcionalna sestavina in omogoča različne koristi. Tehnološke lastnosti PV so velikega pomena za proizvajalce živil. Prehranska vrednost živil, ki vsebujejo PV, motivira potrošnike, da uživajo večje količine PV, kar pripomore k večjemu vnosu PV, obenem pa lahko koristni učinki PV motivirajo proizvajalce kmetijskih pridelkov za pridelavo pridelkov, bogatih z vlaknino. Tako prehranska vrednost kot tehnološke lastnosti PV so pomembne pri razvoju številnih, z vlaknino obogatenih živil, kot so pekovski izdelki (kruh, pekovsko pecivo), mesni izdelki, mlečni izdelki (jogurti), prigrizki, pijače, čokolada (Dhingra in sod., 2012; Bingley, 2020). Metode za ekstrakcijo PV iz živil vključujejo suhe in mokre postopke ter gravimetrične, kemijske, encimske, fizikalne in mikrobiološke metode ali njihove

kombinacije, vendar imajo različne metode različne učinke na strukturo PV (Yang in sod., 2017; Ciudad-Mulero in sod., 2019; Bingley, 2020). Sodobne tehnologije za ekstrakcijo PV vključujejo obdelavo z visokim tlakom, mikrovalovi, s superkritičnim CO₂ in ultrazvokom. Poleg tega se lahko netopna PV pretvori v topno za boljše fizikalno-kemijske in fiziološke lastnosti z metodami mikrobne fermentacije, mehanske razgradnje, kemijske obdelave in encimskih metod ter kombinacijo različnih pristopov.

6.1 TEHNOLOŠKE FUNKCIJE PREHRANSKE VLAKNINE IN UPORABA ZA ŽIVILSKE IZDELKE

Prehranska vlaknina se vedno pogosteje uporablja kot dodatek v živilih tudi zaradi pozitivnega vpliva na tehnološke lastnosti živil (Cardador-Martínez in sod., 2017). Funkcionalne lastnosti PV, kot je npr. vezava vode, viskoznost, tvorba gela, vplivajo na živila tako med samo proizvodnjo kot tudi na končne karakteristike in kakovost. PV se lahko v živilih uporablja tudi kot nadomestek sladkorja ali maščob (Bingley, 2020; Koç in sod., 2020; Yegin in sod., 2020). Pri dodajanju PV živilom je potrebno upoštevati, da PV lahko reagira z ostalimi sestavinami živila tekom proizvodnje, kar lahko vodi k spremenjeni biorazpoložljivosti hranil, spremembi teksture, oblike ali barve izdelka (Zielinski in Rozema, 2013; Cardador-Martínez in sod., 2017).

V pekovski industriji se PV najpogosteje dodaja zaradi izboljšanja prehranske kakovosti pekovskih izdelkov in sposobnosti zadrževanja vode, s čimer podaljšamo svežost. Za povečanje vsebnosti PV se lahko uporabi surovine, ki so bogat vir PV (polnozrnata žita) ali koncentriran vir PV (Cardador-Martínez in sod., 2017). Pomemba je vrsta in količina PV, saj lahko le-ta močno veže vodo ter povzroči, da testo postane trdo in ga je težko oblikovati. Končni izdelek ima posledično suho teksturo, ki pri zaužitju povzroči neprijeten občutek v ustih (Bingley, 2020). V mesno-predelovalni industriji se PV uporablja za zadrževanje vode in vezavo maščob. Uporabimo jo lahko kot dobro naravno sestavino za zmanjševanje energijske vrednosti živil z zamenjavo dela maščob v pastereziranih mesnih izdelkih (Yegin in sod., 2020). Ker veže vodo, prispeva k večji sočnosti mesnih izdelkov (Cardador-Martínez in sod., 2017). V pijačah se PV uporablja zaradi njenih funkcionalnih lastnosti, kot so emulgiranje in stabilizacija tekočine ter tudi za zmanjšanje energijske gostote. Topna PV vpliva na viskoznost tekočine, zato jo moramo dodati v takšni vsebnosti, da ne spremeni oz. poslabša senzoričnih lastnosti pijače. Z dodatkom netopne prehranske vlaknine lahko vplivamo na senzorične lastnosti pijač zaradi različne velikosti in netopnosti delcev vlaknine. Kot stabilizator v kisljih pijačah, obogatenih z beljakovinami, se pogosto uporablja pektin, saj ugodno prispeva k stabilnosti in okusu končnega izdelka (Yegin in sod., 2020). Poleg pektina so pogost dodatek pijačam tudi β -glukani, celuloza, polidekstroza, vlaknina rdeče pese ter riževi otrobi. V mlečnih izdelkih se pogosto kot dodatki uporabljajo pektin, inulin, guar gumi ter karboksimetil-celuloza. Dodatek prehranske vlaknine v jogurt ali sladoled izboljša stabilnost emulzije. Dodatek inulina v jogurt, ob zmanjšanju vsebnosti maščob, daje jogurtu bolj homogen videz in poudari kisel okus ter aromo po fermentiranem (Cardador-Martínez in sod., 2017).

6.1.1 Viri prehranske vlaknine za uporabo v živilskih izdelkih

Ciudad-Mulero in sod. (2019) navajajo, da lahko vire PV, ki jih običajno uporablja živilska industrija, razdelimo v tri razrede: hidrokoloidi (večinoma topni polisaharidi), bioaktivni oligosaharidi in materiali rastlinske celične stene, pridobljeni iz žitnih zrn, sadja in zelenjave. Slednji so pogosto stranski produkti pri predelavi sadja in zelenjave, ki so vir bioaktivnih spojin, tudi PV.

Funkcionalna PV, izolirana iz pšenice, koruze in riža, se uporablja kot dodatek v različnih živilih. Poleg teh tradicionalnih virov vlaknin je trend v živilski industriji tudi raziskovanje možnosti uporabe novih virov PV, zlasti stranskih produktov pri predelavi sadja, zelenjave, stročnic in semen (preglednica 4), ki se pogosto odstranijo na stroške proizvajalca kot živalska krma, za kompostiranje ali sežiganje, kar ima lahko negativen vpliv na okolje (Li in Komarek, 2017).

Preglednica 4: Viri prehranske vlaknine za uporabo v živilskih izdelkih (povzeto po Li in Komarek, 2017)

Vir PV	Primeri
Žitna zrna	riževi otrobi, koruzni otrobi, pšenični otrobi, ječmen, ovseni otrobi, luskapliluma
Stranski produkti pri predelavi sadja (lupine, tropine)	jabolka, slive, češnje, grozdje, citrusi, datlji, hruške, lupina lubenice in melone, ananas
Stranski produkti pri predelavi zelenjave	oljke, krompir, korenje, cvetača, šparglji, paradižnik
Stranski produkti pri predelavi stročnic in semen	seme bazilike, lupina soje, grah, fižol, lupina arašidov, lupina sončnic, lupina sezama
Ostalo	sladkorna pesa, sladkorni trs, kakavove lupine

S predelavo sadja in zelenjave agroživilska industrija ustvari ogromne količine odpadkov, kar odpira pomembno raziskovalno področje, katerega cilj je zmanjševanje in učinkovito ravnanje z njimi, da bi podprli koncept brez odpadkov oziroma krožnega gospodarstva. Ti odpadki ostajajo premalo izkoriščeni zaradi pomanjkanja ustreznih tehnologij predelave, ki so ključnega pomena za njihovo učinkovito uporabo, zlasti za pridobivanje zdravju koristnih naravnih bioaktivnih spojin, kot je PV, in uporabo v živilih, s čimer ustvarjamo dodano vrednost in ugodno vplivamo na zmanjšanje količin odpadne hrane (Hussain in sod., 2020; Pop in sod., 2021).

6.2 PREOBLIKOVANJE ŽIVIL

Preoblikovanje oz. reformulacija živil se nanaša na proces spreminjanja sestave živil z namenom zmanjšanja energijske vrednosti ter vsebnosti skupnih in nasičenih maščob, soli in/ali sladkorjev, ki jih pogosto uživamo nad priporočili. Čeprav se preoblikovanje živil običajno osredotoča na nezaželena hranila, lahko obogatimo živila tudi z zaželenimi hranili, ki jih v prehrani pogosto primanjkuje, kot je npr. PV, na ta način zmanjšamo tudi energijsko vrednost (Canene-Adams in sod., 2022). Ponudba živilskih izdelkov z izboljšano ali spremenjeno sestavo se je v obdobju zadnjih 20 let povečala. Nacionalni programi na področju prehrane in zdravja ter pobude s strani potrošnikov spodbujajo proizvajalce živil k razvoju novih ali

preoblikovanju obstoječih izdelkov z ugodnejšo hranilno sestavo. Obogatitev živil s PV je v zadnjih letih pogosta v živilski industriji, ki si prizadeva za razvoj preoblikovanih, prehransko bolj primernih živil in ima zato pomembno vlogo na področju javnega zdravja. Z obogatitvijo živil s PV lahko zadostimo tudi pogojem uporabe prehranskih in/ali zdravstvenih trditev, ki se nanašajo na PV. Vseeno se je potrebno zavedati, da je zadosten vnos PV najbolj optimalno dosežati z vnosom, polnovrednih, nepredelanih oz. čim manj predelanih živil, saj z njimi poskrbimo tudi za vnos ostalih koristnih hranil, kot so vitamini, minerali, polifenoli in drugi antioksidanti, ki jih izolati PV ne vsebujejo (Macagnan in sod., 2016; Hasbay, 2019). Za proizvajalce živil so zato pomembne informacije, zakaj se dodajajo določene vrste PV, kakšni so tehnološki in fiziološki učinki in kako lahko na PV vpliva način predelave surovin, saj lahko mehanska in hidrotermalna obdelava spremeni njihove lastnosti. Potrebno jih je spodbujati, da ohranijo številne prednosti osnovnih živil, bogatih s PV, tako da čim bolj zmanjšajo razgradnjo struktur rastlinskih celičnih sten in tkiva, hkrati pa ohranjajo senzorične lastnosti živil (Augustin in sod., 2020).

Priljubljeni živilski izdelki, kot so pekovski, mlečni in mesni izdelki, testenine in različne pijače, so postali pomembno področje za razvoj novih, s prehransko vlaknino obogatenih izdelkov (Cardador-Martínez in sod., 2017; Augustin in sod., 2020). Seveda pa proces preoblikovanja živil ni enostaven, saj je potrebno upoštevati različne vidike živilskega izdelka. Spremembe sestave namreč vodijo v spremenjene senzorične, tehnološke in mikrobiološke lastnosti ter spremembo/povečanje stroškov, povezanih z živilom, kar pomeni, da je potrebno temu primerno prilagoditi celoten tehnološki proces izdelave. Hkrati je potrebno upoštevati še zakonodajo in morebitne omejitve, ki jih le-ta postavlja. Potrebno se je zavedati tudi pomembnosti sprejemljivosti preoblikovanega živila med potrošniki, saj ti določajo ali bo živilo na trgu uspešno (Van Gunst in sod., 2018).

6.2.1 Primeri preoblikovanja živil z dodatkom prehranske vlaknine

Z namenom povečanja vnosa prehranske vlaknine in večje ponudbe živil z ugodnejšo hranilno sestavo ter možnosti uporabe prehranskih in zdravstvenih trditev, se na trgu pojavljajo živilski izdelki z dodano prehransko vlaknino, ki pripomore k izboljšanju prehranske kakovosti, hkrati pa odpira nove tehnološke možnosti (Bingley, 2020). PV se običajno dodaja v pekovske izdelke, mesne izdelke ter pijače (Dhingra in sod., 2012). V mesnih izdelkih se PV uporablja predvsem kot stabilizator mesne emulzije (Sofi in sod., 2017), pa tudi za namene preprečevanja izgube vode, kot surovina s katero se lažje doseže željeno teksturo ter druge tehnološke lastnosti, kot so barva, krčenje, vrednost pH (Mehta in sod., 2015; Ozbas in Ardic, 2016).

V mesnih izdelkih so uspešno uporabili PV iz različnih virov za doseganje zelenih lastnosti izdelkov. Za stabilizacijo mesne emulzije, brez poslabšanja teksturnih in senzoričnih lastnosti so na primer dodali amorfnu celulozo v koncentraciji 1,4 g/100 g in s tem zmanjšali vsebnosti maščob za 50 % (Schmiele in sod., 2015). Dodatek PV iz bambusovih vršičkov v koncentraciji od 1 do 4 % je ugodno vplival na stabilnost mesne emulzije in pripomogel k boljši razporeditvi vode v emulziji (Li in sod., 2020). Kot dodatek PV v mesnih izdelkih se lahko uporabijo tudi stranski produkti; dodatek jabolčnih tropin ali tropin korenja omogoča obogatitev mesnih izdelkov s PV v koncentraciji do 4 g/100 g izdelka brez poslabšanja senzoričnih lastnosti

(Yadav in sod., 2020). Primerni viri PV za zamenjavo maščob v mesnih emulzijah in obogatitev izdelka s PV so tudi vlaknine iz limoninega albeda (Fernandez in sod., 2004), riževih tropin (Choi in sod., 2010), vlaknina pšenice (Choe in sod., 2013) ter inulin in vlaknina ovsa (Ferjančič in sod., 2021). Kot zamenjavo za del mesa so PV uspešno uporabili tudi v burgerjih (Besbes in sod., 2008) in mesnih kroglicah (Kehlet in sod., 2017; Zhao in sod., 2021). Glavni prednosti dodatka PV v mesne izdelke iz mletega mesa sta zmanjšanje krčenja pri toplotni obdelavi ter izboljššan profil hranil (Besbes in sod., 2008; Kehlet in sod., 2017; Zhao in sod., 2021).

Dodatki PV v pekovskih izdelkih so se najbolj uveljavili za izboljšanje tehnoloških in senzoričnih lastnosti brezglutenskih kruhov. Z dodatkom PV se v brezglutenskih kruhkih odpravijo težave s presvetlo barvo, premajhnim volumnom kruha in trdoto skorje (Phimolsiripol in sod., 2012). V pšeničnem kruhu je uspešnost obogatitve ali preoblikovanja odvisna od vrste uporabljene PV. Dodatek pšeničnih otrobov ali vlaknin iz rožiča vpliva na temno barvo pšeničnega kruha in manjši volumen, obenem pa na boljšo sposobnost ohranjanja vlage v kruhu, kar pomeni daljšo svežost (Almeida in sod., 2013). Uspešne pa so bile obogatitve pšeničnega kruha s 5 % tropin črnega ribeza, 5 % netopne PV iz ribeza ter z 0,5 % pektina, pridobljenega iz črnega ribeza. Kljub dodatku PV je bil kruh primerljiv z neobogatenim pšeničnim kruhom (Alba in sod., 2020). Uporaba PV v pekovskih izdelkih ni omejena samo na kruh. Obogatitev piškotov z 2,2 % delno hidroliziranega guara je zmanjšala raztezanje piškota med peko ter izboljšala višino pečene piškota, senzorične lastnosti pa so ostale nespremenjene (Mugdil in sod., 2017). Obogatitev brezglutenskih biskvitov s PV pa je izboljšala tehnološke lastnosti biskvita (Ozyigit in sod., 2017).

Dodajanje PV v pijače ni najbolj enostavno, vendar je mogoče. Dodatek β -glukanov v sadni pijači se je izkazal kot mogoč, vendar je v kombinaciji z dodatkom stevie ojačal kovinski pookus stevie (Mielby in sod., 2016). Dodatek rezistentnih dekstrinov v koncentraciji 1,5 g/150 ml instant kave ni poslabšal senzoričnih lastnosti napitka niti ni zmanjšal sprejemljivosti izdelka pri mlajših potrošnikih v primerjavi z običajnim napitkom instant kave (Ferjančič in sod., 2019).

Pozitivnih primerov preoblikovanja živil ali obogatitve živil s PV je mnogo, uspešnost obogatitve pa je odvisna od vira uporabljene PV ter koncentracije (Bingley, 2020).

7 OZNAČEVANJE VSEBNOSTI PREHRANSKE VLAKNINE V ŽIVILIH

Trenutno označevanje vsebnosti PV v živilih v številnih državah po svetu, vključno z državami Evropske unije (Uredba 1169/2011), ni obvezno. To predstavlja težavo za potrošnike, raziskovalce in medicinsko osebje, ki se ukvarja z načrtovanjem prehrane bolnikov. Stališče Mednarodnega konzorcija za kakovost ogljikovih hidratov (ICQC, International Carbohydrate Quality Consortium) je, da je potrebno obvezno označevanje vsebnosti PV na označbah živil. Ta podatek bi bil potrošnikom lahko v pomoč pri doseganju priporočenega dnevnega vnosa PV. Nekateri ob tem poudarjajo, da bi morali pri označevanju tudi razlikovati med PV, ki je intrinzična, in PV, ki je živilu dodana kot funkcionalna sestavina. Slednja namreč ne vsebuje zamreženih mikrohranil in bioaktivnih spojin, zato zdravstveni učinki morda niso primerljivi. Predlog konzorcija je, da je potrebno v primeru, ko je vlaknina v živilo tudi dodana pri proizvodnji, na živilu navesti skupno vsebnost PV in dodatno še koliko od tega je dodane PV

(Augustin in sod., 2020).

V primeru označevanja živila s prehransko in/ali zdravstveno trditvijo, ki se nanaša na PV, pa je potrebno navesti njeno vsebnost (Uredba 1924/2006). Prehranski trditvi, ki se nanašata na PV sta »vir prehranske vlaknine« in »visoka vsebnost prehranske vlaknine«. Za njuno uporabo mora živilo vsebovati vsaj 3 g PV/100 g ali 1,5 g/100 kcal oz. vsaj 6 g PV/100 g ali 3 g/100 kcal živila. Za točen podatek o vsebnosti PV v živilu pa je potrebna ustrezna analitska metoda za določitev PV v skladu z veljavno definicijo.

7.1 METODOLOGIJA DOLOČANJA VSEBNOSTI PREHRANSKE VLAKNINE

Za določanje vsebnosti prehranske vlaknine je razvitih in uradno predpisanih več metod, tako za določanje skupne PV, topne PV in netopne PV, kot tudi za določanje posameznih komponent vlaknine. Metode so se spreminjale in posodabljele skladno s spreminjanjem definicije za prehransko vlaknino. Metode na splošno delimo na encimsko-gravimetrične in encimsko-kemijske metode. Prvotne encimsko-gravimetrične metode so relativno enostavne, cenovno dostopne, dokaj hitre in dovolj robustne za rutinsko analizo, vendar ne zagotavljajo podrobnega profila za različne komponente vlaknine in ne vključujejo nizkomolekularnih komponent PV (rezistentnih oligosaharidov). Kvantitativna določitev vsebnosti vlaknine z uporabo HPLC, ki je vključena v novejšje metode določanja vlaknine (metodi AOAC 2009.01 in AOAC 2011.25), omogoča določanje vseh komponent prehranske vlaknine, tudi nizkomolekularnih polimerov ogljikovih hidratov (s 3 do 9 monomernimi enotami), in je idealna, kadar obravnavano živilo vsebuje neznano količino in vrsto vlaknine. Vendar pa so te metode dolgotrajne in zelo drage ter zahtevajo tudi ekonomsko veliko začetno investicijo in zelo usposobljeno osebje (Li in Komarek, 2017). Tradicionalni metodi za določanje prehranske vlaknine sta encimsko-gravimetrični metodi AOAC 985.29 in 991.43 za določanje skupne PV oz. ločeno topne in netopne PV. Metodi AOAC 2009.01 in 2011.25 pa sta zasnovani tako, da zajemata vse komponente prehranske vlaknine, kot je navedeno v trenutno veljavni definiciji, nista pa še široko uporabljeni v praksi, npr. za označevanje živil ali dopolnjevanje podatkovnih baz o sestavi živil (Zielinski in Rozema, 2013; Fuller in sod., 2016).

8 PRISTOPI ZA POVEČANJE VNOSA PREHRANSKE VLAKNINE PRI POTROŠNIKIH V PRIHODNOSTI

Naš sodobni življenjski slog se radikalno razlikuje od načina življenja naših prednikov. V skladu s tem je naša genetska zasnova neprilagojena sodobnemu okolju in življenjskemu slogu. Poleg tega se je naša črevesna mikrobiota, ki se je razvijala skupaj z nami v milijonih let in od

katero je odvisno naše zdravje, verjetno korenito spremenila zaradi našega evolucijsko zelo nenavadnega sodobnega načina življenja, v katerem ima prehrana pomembno vlogo. Ta je osiromašena s PV zaradi sodobnega načina prehranjevanja, ki vključuje veliko visoko predelanih živil, ki so lahko razpoložljiva in cenovno dostopna ter jih pogosto tržijo. Nadaljnji dejavniki, ki prispevajo k temu, so kulturne in družbene spremembe, priročnost visoko predelanih živil, ki zmanjšuje potrebo po pripravi hrane iz osnovnih surovin, veliko število prodajnih mest s hitro hrano ter hedonski in potencialno zasvojljivi učinki kombinacije

sladkorja in maščob, ki je značilna za številna visoko predelana živila. Vsebnost PV v predelanih živilih je običajno manjša kot v obrokih, pripravljenih iz osnovnih surovin. Poleg tega je uživanje visoko predelanih živil povezano s povečanim vnosom sladkorjev, nasičenih maščob in soli, kar še doprinese k neustreznemu vnosu hranil (Barber in sod., 2020).

Kljub številnim znanstveno podprtim dokazom o pomenu uživanja PV, vnos pri potrošnikih ostaja majhen in precej pod priporočili. Nasveti o življenjskem slogu in prehrani ter izobraževanje sami po sebi preprosto niso učinkoviti, kar dokazuje dejstvo, da kljub ukrepom s strani različnih deležnikov in ozaveščanjem potrošnikov o zdravi prehrani, vključno s spodbujanjem k uživanju več PV, vnos le-te ostaja nezadosten. Vilà in sod. (2022) navajajo, da je za povečanje vnosa PV potrebna kombinirana strategija, ki vključuje različne deležnike, od proizvajalcev živil, snovalcev javnih politik, političnih odločevalcev, šolskega sistema do zdravstvenih delavcev, da se ustvari podporno okolje, ki omogoča posameznikom, da se prehranjujejo v skladu z veljavnimi prehranskimi smernicami. Ključni dejavniki pri tem so razpoložljivost in cenovna dostopnost živil z veliko vsebnostjo PV ter interes živilske industrije za razvoj takih živil, kulturni in družbeni dejavniki ter ustrezni javno-zdravstveni ukrepi in učinkovite prehranske politike.

8.1 RAZPOLOŽLJIVOST ŽIVIL Z VELIKO VSEBNOSTJO PREHRANSKE VLAKNINE

Veliko potrošnikov zaradi načina življenja in pomanjkanja časa nakupuje živila v supermarketih zaradi priročnosti nakupovanja ter prihranka časa in stroškov v primerjavi z nakupovanjem v bolj tradicionalnih, manjših trgovinah. Ponudba v supermarketih močno vpliva na to, kaj jemo. Razen sadja in zelenjave ter svežega mesa, je večina ostalih živil v ponudbi na nek način predelana. Za povečanje vnosa PV bi bila potrebna večja razpoložljivost nepredelanih živil v večjih trgovinah z živilih, s tem pa bi se zmanjšala tudi razpoložljivost visoko predelanih živil. Ta preprosta strategija bi verjetno spodbudila potrošnike k uživanju več PV. Poleg tega je potreben večji nabor živilskih izdelkov z veliko vsebnostjo PV (npr. polnozrnat kruh, polnozrnat testenine), z nazornimi oznakami na prednji strani embalaži, ki označujejo bolj zdrave prehranske izbire. Pomembno pa je, da so ta živila cenovno primerljiva z običajnimi živilih (Barber in sod., 2020; Vilà in sod., 2022).

8.2 PROIZVODNJA ŽIVIL Z VELIKO VSEBNOSTJO VLAKNINE

Na tržišču je lahko na voljo širša paleta živilskih izdelkov z veliko vsebnostjo PV le, če njihovi dobavitelji, predvsem živilska podjetja, proizvajajo več takih živil. V zadnjih letih je bil na področju razvoja živil z izboljšano hranilno sestavo dosežen napredek predvsem pri zmanjševanju vsebnosti sladkorjev v živilih. V povezavi s povečanjem vnosa PV je bila glavna strategija v zadnjih desetletjih zagotavljanje prehranskega izobraževanja in javnozdravstvenih sporočil, vendar očitno ni delovala (Barber in sod., 2020). Verjetno bi bil boljši pristop, da živilska industrija proizvaja zdrava predelana živila, bogata s PV iz različnih virov, npr. z dodatkom zelenjave v prahu ali polnozrnatih žit. V prihodnosti bi z dodajanjem majhnih količin PV številnim vrstam predelanih živil lahko vplivali na večji vnos PV, ne da bi bilo treba spremeniti miselnost potrošnikov. Zdravstvene koristi za celotno prebivalstvo bi bile verjetno

znatne, zlasti za manj izobražene ljudi, ki so na splošno izpostavljeni povečanemu tveganju za različne zdravstvene težave (Evans, 2020; Barber in sod., 2020).

8.3 PROMOCIJA UŽIVANJA POLNOZRNATIH ŽIT (WHOLE GRAINS) IN ŽIVIL

Evans (2020) navaja, da naj bi bila v skladu s prehranskimi smernicami v prehrani vsaj polovica žit in izdelkov iz njih polnozrnatih. Definicija kaj predstavlja polnozrnato žito oz. živilo ni enostavna in je že desetletje predmet razprav. Na evropski ravni ni pravno potrjene definicije, predlagana globalna definicije s strani 'Whole Grain' iniciative je, da so polnozrnata žita nepoškodovana, zmleta, zdrobljena, oluščena žitna zrna, če po odstranitvi neužitnih delov (pleve) še vedno vsebujejo enake relativne deleže endosperma, kalčka in otrobov kot nepredelana žitna zrna. Polnozrnato živilo pa mora vsebovati vsaj 50 % polnozrnatih sestavin na suho maso (van der Kamp in sod., 2022). Seal in sod. (2021) predlagajo enoten globalni pristop, ki bi proizvajalcem živil in promotorjem zdravja omogočil jasne in dosledne nasvete na tem področju, potrošnikom pa razumljive in verodostojne informacije. Polnozrnata žita poleg endosperma vsebujejo tudi otrobe in kalček s PV, nenasičenimi maščobami, minerali, vitamini skupine B in različnimi bioaktivnimi spojinami, kot so npr. antioksidanti in rastlinski steroli. Žitno zrno, ki so mu odstranjeni otrobi, večinoma vsebuje škrob, beljakovine in manjše količine PV, vitaminov in mineralov. Precejšen del ogljikovih hidratov, zlasti v polnozrnatih žitih, predstavlja PV. Polnozrnata žita so bolj kompleksna od rafiniranih tudi zato, ker je vnos spremljajočih hranil, kot so minerali, vitamini in druge bioaktivne spojine bistveno večji. Polnozrnate moke in polnozrnata živila, izdelana iz njih, se aktivno promovirajo kot del zdrave, trajnostne prehrane, ki temelji na potrebi po večjem vnosu živil rastlinskega izvora, ki vsebujejo PV, in manjši porabi živil živalskega izvora, kot so meso in mesni izdelki z veliko vsebnostjo maščob. Rezultati opazovalnih in intervencijskih študij potrjujejo, da je večje uživanje polnozrnatih žit povezano z manjšo pojavnostjo in umrljivostjo zaradi bolezni srca in ožilja, sladkorne bolezni tipa 2 in nekaterih vrst raka (Prasadi in Joye, 2020; Seal in sod., 2021; Van der Kamp in sod., 2022).

Še vedno se veliko žit uživa kot rafinirana zrna, ki jih imajo potrošniki raje zaradi njihove boljše senzorične sprejemljivosti. Prehransko kakovost živilskih izdelkov iz žit je poleg uporabe polnozrnatih žit možno dodatno izboljšati z ustreznimi tehnikami predelave živil. Kakovost ogljikovih hidratov je mogoče izboljšati z uporabo posebne encimske tehnologije za zmanjšanje hitrosti prebave škroba. Z uporabo encimov se lahko spremeni manj fermentabilna frakcija PV na način, da jo mikrobiota lažje izkoristi, obenem lahko z uporabo različnih encimov prispevajo k fermentaciji PV po celotni dolžini debelega črevesa. Poleg tega uporaba fitaz in postopek kaljenja žit izboljšata biološko izkoristljivost mineralov v zrnu in vplivata na presnovo bioaktivnih spojin v frakciji otrobov (Prasadi in Joye, 2020).

Vendar pa uživanje polnozrnatih žit in izdelkov iz njih morda ni edini razlog za opažene izboljšane zdravstvene rezultate, saj ljudje, ki uživajo polnozrnata žita, običajno sledijo bolj zdravemu življenjskemu slogu, vključno z več telesne dejavnosti ter manjšim uživanjem alkohola in manj kajenja (Seal in sod., 2021). Za povečanje uživanja polnozrnatih žit so na nacionalnem nivoju potrebne različne akcije ozaveščanja, ena od njih je Mednarodni dan polnozrnatih žit, ki ga obeležujemo 16. novembra.

8.4 KULTURNI IN DRUŽBENI DEJAVNIKI

Spremembe kulture in družbe so najzahtevnejše, saj gre običajno za dolgotrajen proces. Poleg učinkovitih izobraževalnih programov o zdravstvenih koristih prehrane z veliko PV, je potrebno razviti domiselne strategije, ki bodo potrošnike spodbudile k uživanju več PV. V poštev pridejo infografike s prikazi porcij živil za doseganje priporočenega dnevnega vnosa, razvoj novih receptov, izobraževanje otrok in vključevanje digitalnih tehnologij, kot so različne aplikacije za beleženje dnevnega vnosa PV, ali "števec PV", vgrajen v športne ure za motivacijo potrošnika. S podporo vlade in enotnim pristopom trgovcev in proizvajalcev živil bi kulturne in družbene spremembe verjetno sledile naravno in bi bile brez teh drugih potrebnih sprememb veliko težje izvedljive. Omejevalni dejavniki za doseganje priporočenega vnosa PV so senzorične lastnosti živil, bogatih s PV, ki vplivajo na senzorično sprejemljivost. Poleg tega se nekateri ljudje izogibajo živilom, ki so dober vir PV, zaradi neugodnih učinkov, kot so npr. napihjenost in napejnanje (Barber in sod., 2020).

Potrebne so nadaljnje raziskave na področju PV. Številne študije, povezane s PV, imajo tudi omejitve v kakovosti podatkov, pri čemer je večina študij opazovalnih z razmeroma malo udeležencev in/ali za kratek čas. Ti dejavniki, skupaj z metodološko heterogenostjo med prijavljenimi študijami in pomanjkanjem ustreznih rezultatov, so utemeljeno izhodišče za izvajanje dobro zasnovanih, slepih, randomiziranih kontroliranih študij o učinkih PV na klinično pomembne zdravstvene rezultate (Barber in sod., 2020).

9 ZAKLJUČEK

Po pregledu različnih študij o prehranski vlaknini lahko povzamemo, da je na tem področju še veliko vidikov, ki so potrebni nadaljnjega raziskovanja. Za boljše poznavanje natančne strukture posameznih komponent prehranske vlaknine, tehnoloških lastnosti in razumevanje njihovih fizioloških učinkov na človeški organizem ter pomen PV v humani prehrani so potrebne kompleksne interdisciplinarne študije, v katerih bi sodelovali raziskovalci z različnih področij znanosti: živilstva, kemije, biokemije, biotehnologije, fiziologije, prehrane in medicine. Zadosten vnos PV zmanjša tveganje za razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni, vključno s sladkorno boleznijo tipa 2, srčno-žilnimi boleznimi in nekaterimi vrstami raka. Večina ljudi zaužije precej manj od priporočenih 30 g PV dnevno. Potrebni so ukrepi različnih deležnikov, vključno z živilsko industrijo, trgovci, restavracijami, strokovnjaki s področja prehrane in javnega zdravja, zdravstvenimi delavci in vladami, da se zagotovi ustrezne informacije in ozavešča potrošnike o pomenu uživanja zadostnih količin PV. Smiselno bi bilo urediti področje označevanja živil tudi z navajanjem vsebnosti PV in izboljšati razpoložljivost živil z veliko vsebnostjo PV ter promovirati načine prehranjevanja, ki zagotavljajo zadosten vnos PV. Poleg tega je potrebna evalvacija intervencij in programov na nacionalni ravni, da se zagotovi izpolnjevanje potreb različnih skupin, zlasti pa je potrebno zagotoviti, da intervencije ne povečajo neenakosti v prehrani in zdravju. V prihodnosti bi lahko razmislili tudi o novih ukrepih prehranskih politik, kot so npr. priporočeni dnevni obroki polnozrnatih živil, ki bi lahko izboljšali zdravje prebivalstva.

10 VIRI

- Alba K., Rizou T., Paraskevopoulou A., Campbell G. M., Kontogiorgos V. 2020. Effects of blackcurrant fibre on dough physical properties and bread quality characteristics. *Food Biophysics*, 15, 3: 313-322
- Almeida E.L., Chang Y.K., Steel C.J. 2013. Dietary fibre sources in bread: Influence on technological quality. *LWT – Food Science and Technology*, 50, 2: 545-553
- Augustin L., Aas A., Astrup A., Atkinson F., Baer-Sinnott S., Barclay A., Brand-Miller J., Brighenti F., Bullo, M., Buyken A. in so. 2020. Dietary fibre consensus from the international carbohydrate quality consortium (ICQC). *Nutrients*, 12, 2553, doi: 10.3390/nu12092553: 11 str.
- Barber T.M., Kabisch S., Pfeier A.F.H., Weickert M.O. 2020. The health benefits of dietary fibre. *Nutrients* 12, 3209, doi:10.3390/nu12103209: 17 str.
- Besbes S., Attia H., Deroanne C., Makni S., Blecker C. 2008. Partial replacement of meat by pea fiber and wheat fiber: Effect on the chemical composition, cooking characteristics and sensory properties of beef burgers. *Journal of Food Quality*, 31, 4: 480–489
- Bingley. 2020. The technological challenges of reformulating with different dietary fibres. *Nutrition Bulletin*, 45: 328-331
- Bodinham C. L., Smith L., Wright J., Frost G. S., Robertson M. D. 2012. Dietary fibre improves first-phase insulin secretion in overweight individuals. *PLoS ONE*, 7, 7: e40834, doi: 10.1371/journal.pone.0040834: 6 str.
- CAC. 2017. Codex Alimentarius Commission. Guidelines on nutrition labeling CAC/GL 2–1985 as last amended 2017. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Secretariat of the Codex Alimentarius Commission. Rome, FAO: 10 str.
- http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B2-1985%252FCXG_002e.pdf (april 2022)
- Canene-Adams K., Laurie I., Karnik K., Flynn B., Goodwin W., Pigat S. 2022. Estimating the potential public health impact of fibre enrichment: a UK modelling study. *British Journal of Nutrition*, doi:10.1017/S0007114521004827: 7 str.
- Cardador-Martínez A., Espino-Sevilla M. T., Martín del Campo S. T., Alonzo-Macías M. 2017. Dietary fibre as food additive: present and future. V: *Dietary fibre functionality in food and nutraceuticals: From plant to gut*. Hosseinian F., Oomah B. D., Campos-Vega R. (ur.). West Sussex, John Wiley & Sons Ltd: 77-94
- Champ M., Langkilde A.–M., Brouns F., Kettlitz B., Collet, Y.L.B. 2003. Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. *Nutrition Research Reviews*, 16, 1: 71-82
- Choe J.H., Kim H.Y., Lee J.M., Kim Y.J., Kim C.J. 2013. Quality of frankfurter–type sausages with added pig skin and wheat fiber mixture as fat replacers. *Meat Science*, 93, 4: 849-854
- Choi Y., Park, K., Choi J., Kim H., Song D., Kim J., Chung H., Kim, C. 2010. Physico-chemical properties of chicken meat emulsion systems with dietary fiber extracted from Makgeolli Lees. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 30, 6: 910-917
- Ciudad-Mulero M., Fernández-Ruiz V., Matallana-González C., Morales P. 2019. Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 90: 83-134
- Cruz-Requena M., Escobedo-García S., Salas-Tovar J. A., Mora-Cura Y., Chávez-González M. L., Castillo-Reyes F., Flores-Gallegos A. C., Rodríguez-Herrera R. 2019. Definitions and regulatory perspectives of dietary fibers. V: *Dietary fibre: Properties, recovery and applications*. Galanakis C.M. (ur.). Cambridge, Academic press: 1-25
- Cummings J.H., Edmond L.M., Magee E.A. 2004. Dietary carbohydrates and health: Do we still need the fibre concept? *Clinical Nutrition, Supplement*, 1, 2: 5-17
- Dhingra D., Michael M., Rajput H., Patil R.T. 2012. Dietary fibre in foods: *Journal of Food Science and Technology*, 49, 3: 255-266

- EC, 2022. European Commission. Dietary fibre. Knowledge for policy. Health Promotion and Disease Prevention Knowledge Gateway
https://knowledge4policy.ec.europa.eu/health-promotion-knowledge-gateway/dietary-fibre_en (april 2022)
- EFSA. 2010. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 8, 3: 1462, doi: 10.2903/j.efsa.2010.1462: 77 str.
- EFSA. 2017. Dietary Reference Values for nutrients. Summary Report. EFSA supporting publication, 2017: e15121, doi: 10.2903/sp.efsa.2017.e15121: 98 str.
- Evans C.E.L. 2020. Dietary fibre and cardiovascular health: a review of current evidence and policy. *Proceedings of the Nutrition Society*, 79: 61-67
- Ferjančič B., Petrovčič N., Korošec M., Vahčić N., Bertoncelj J. 2019. Instant coffee enriched with dietary fibre. V: Book of abstracts. 1st International Conference on Advanced Production and Processing, 10th–11th October 2019, Novi Sad, Serbia. Vidović S. (ur.). Novi Sad, Faculty of Technology: 41
- Ferjančič B. 2021. Aplikacija metode AOAC 2011.25 za določanje prehranske vlaknine in njen vpliv na oceno vnosa z živila. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 110 str.
- Ferjančič, Blaž, Kugler, Saša, Korošec, Mojca, Polak, Tomaž, Bertoncelj, Jasna. 2021. Development of low-fat chicken bologna sausages enriched with inulin, oat fibre or psyllium. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 4: 1818-1828
- Fernández-Ginés J.M., Fernández-López J., Sayas-Barberá E., Sendra E., Pérez-Álvarez J.A. 2004. Lemon albedo as a new source of dietary fiber: Application to bologna sausages. *Meat Science*, 67, 1: 7-13
- Fuller S., Beck E., Salman, H., Tapsell L. 2016. New horizons for the study of dietary fiber and health. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71, 1: 1-12
- Gan J., Xie L., Peng G., Xie J., Chen Y., Yu Q. 2021. Systematic review on modification methods of dietary fiber. *Food Hydrocolloids*, 119, 106872, doi: 10.1016/j.foodhyd.2021.106872: 10 str.
- Goff H.D., Repin N., Fabek H., El Khoury D., Gidley M.J. 2018. Dietary fibre for glycaemia control: Towards a mechanistic understanding. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 14: 39-53
- Hasbay I. 2019. Dietary fiber and nutrition. V: Dietary fiber: Properties, recovery and applications. Galanakis C.M. (ur.). Cambridge, Academic Press: 79-123
- Hijová E., Bertková I., Štofilová J. 2019. Dietary fibre as prebiotics in nutrition. *Central European Journal of Public Health*, 27, 3: 251-255
- Hussain S., Jōudu I., Bhat R. 2020. Dietary fiber from underutilized plant resources – A positive approach for valorization of fruit and vegetable wastes. *Sustainability*, 12, 5401; doi: 10.3390/su12135401: 30 str.
- Jane M., McKay J., Pal S. 2019. Effects of daily consumption of psyllium, oat bran and polyGlycopleX on obesity-related disease risk factors: A critical review. *Nutrition*, 57: 84-91
- Kehlet U., Pagter M., Aaslyng M. D., Raben A. 2017. Meatballs with 3% and 6% dietary fibre from rye bran or pea fibre - Effects on sensory quality and subjective appetite sensations. *Meat Science*, 125: 66-75
- Kim Y., Je Y. 2016. Dietary fibre intake and mortality from cardiovascular disease and all cancers: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 109, 1: 39-54
- Koç F., Mills S., Strain C., Ross R.P., Stanton C. 2020. The public health rationale for increasing dietary fibre: Health benefits with a focus on gut microbiota. *Nutrition Bulletin*, 45: 294-308
- Koroušič Seljak B., Valenčič E., Hristov H., Hribar M., Lavriša Ž., Kušar A., Žmitek K., Krušič S., Gregorič M., Blaznik U., Ferjančič B., Bertoncelj J., Korošec M., Pravst I. 2021. Inadequate intake of dietary fibre in adolescents, adults, and elderlies: Results of Slovenian representative SI.Menu study. *Nutrients*, 13, 11: 3826, doi: 10.3390/nu13113826: 16 str.
- Kumar J., Rani K., Datt C. 2020. Molecular link between dietary fibre, gut microbiota and health. *Molecular Biology Reports*, 47: 6229-6237
- Li Y.O., Komarek A.R. 2017. Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis, and applications. *Food Quality and Safety*, 1: 47-59
- Li K., Liu J.Y., Zhao Y. Y., Zhu H., Zhang Y. Y., Zhang H., Bai Y. H. 2020. Effect of bamboo shoot dietary fiber

- on gel properties, microstructure and water distribution of pork meat batters. *Asian–Australoasian Journal of Animal Sciences*, 33, 7: 1180-1190
- Lyon M.R., Kacinik V. 2012. Is there a place for dietary fiber supplements in weight management? *Current Obesity Reports*, 1, 2: 59-67
- Macagnan F.T., Picolli da Silva L. Hecktheuer L.H. 2016. Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. *Food Research International*, 85: 144-154
- McCleary, B. V., Sloane, N., Draga, A., Lazewska, I. 2013. Measurement of total dietary fiber using AOAC method 2009.01 (AACC International approved method 32-45.01): Evaluation and updates. *Cereal Chemistry*, 90, 4: 396-414
- Mehta N., Ahlawat S.S., Sharma D.P., Dabur R.S. 2015. Novel trends in development of dietary fiber rich meat products – a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 633-647
- Mielby L.H., Andersen B.V., Jensen S., Kildegaard H., Kuznetsova A., Eggers N., Bronckhoff P.B., Byrne D.V. 2016. Changes in sensory characteristics and their relation with consumers' liking, wanting and sensory satisfaction: Using dietary fibre and lime flavour in *Stevia rebaudiana* sweetened fruit beverages. *Food Research International*, 82: 14-21
- Miyazawa I., Miura K., Miyagawa N., Kondo K., Kadota A., Okuda N., Fujiyoshi A., Chihara I., Nakamura Y., Hozawa A., Nakamura Y., Kota Y., Yoshita K., Okamura T., Okayama A. Ueshima H. 2020. Relationship between carbohydrate and dietary fibre intake and the risk of cardiovascular disease mortality in Japanese: 24-year follow-up of NIPPON DATA80. *European Journal of Clinical Nutrition*, 74: 67-76
- Mudgil D., Barak S., Khatkar B.S. 2017. Cookie texture, spread ratio and sensory acceptability of cookies as a function of soluble dietary fiber, baking time and different water levels. *LWT – Food Science and Technology*, 80: 537-542
- Murphy N., Norat T., Ferrari P., Jenab M., Bueno-de-Mesquita B., Skeie G., Dahm C.C., Overvad K., Olsen A., Tjønneland A., Clavel-Chapelon F., Boutron-Ruault M.C., Racine A, Kaaks R., Teucher B., Boeing H., Bergmann M.M., Trichopoulou A., Trichopoulos D., Lagiou P., Palli D., Pala V., Panico S., Tumino R., Vineis P., Siersema P., van Duijnhoven F., Peeters P.H.M., Hjartaker A., Engeset D., Gonzalez C.A., Sanchez M.J., Dorronsoro M., Navarro C., Ardanaz E., Quiros J.R., Sonestedt E., Ericson U., Nilsson L., Palmqvist R., Khaw K.T., Wareham N.J., Key T.J., Crowe F.L., Fedirko V., Wark P.A., Chuang S.C., Riboli E. 2012. Dietary fibre intake and risks of cancers of the colon and rectum in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *PLoS ONE*, 7, 6, doi: 10.1371/journal.pone.0039361: 27 str.
- O'Keefe S.J. 2019. The association between dietary fibre deficiency and high-income lifestyle-associated diseases: Burkitt's hypothesis revisited. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 4, 12: 984-996
- Özbaş Ö.Ö., Ardiç M. 2016. Dietary fibers as functional ingredients in meat products. *Harran University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 5, 2: 184-189
- Ozyigit E., Eren I., Kumcuoglu S., Tavman S. 2020. Large Amplitude Oscillatory Shear (LAOS) analysis of gluten-free cake batters: The effect of dietary fiber enrichment. *Journal of Food Engineering*, 275: 109687, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109867: 13 str.
- Phillips K.M., Haytowitz D.B. Pehrsson P.R. 2019. Implications of two different methods for analyzing total dietary fiber in foods for food composition databases. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84: 103253 doi: 10.1016/j.jfca.2019.103253: 18 str.
- Phimolsiripol, Y., Mukprasirt, A., Schoenlechner, R. 2012. Quality improvement of rice-based gluten-free bread using different dietary fibre fractions of rice bran. *Journal of Cereal Science*, 56, 2: 389-395
- Pop C., Suharoschi R., Pop O.L. 2021. Dietary fiber and prebiotic compounds in fruits and vegetables food waste. *Sustainability*, 13, 7219, doi: 10.3390/su13137219: 18 str.
- Prasadi N.V.P., Joye I.J. 2020. Dietary fibre from whole grains and their benefits on metabolic health. *Nutrients*, 12, 3045, doi: 10.3390/nu12103045: 20 str.
- Referenčne vrednosti za energijski vnos ter vnos hranil. 2020. Ljubljana, Nacionalni inštitut za javno zdravje: 10 str. https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/referencne_vrednosti_2020_3_2.pdf (april 2022)

- Resolucija o nacionalnem programu o prehrani in telesni dejavnosti za zdravje 2015–2025. 2015. Uradni list Republike Slovenije, 25, 58: 6872-6906
- Salobir, J., Levart, A., Korošec, M. 2015. Prehranske in zdravstvene trditve v primeru maščob in prehranske vlaknine. V: Hrana, prehrana in mediji. 28. Bitenčevi živilski dnevi. Korošec M., Polak T., Demšar L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 81-97
- Schmiele M., Nucci Mascarenhas M.C.C., da Silva Barretto A.C., Rodrigues Pollonio, M.A. 2015. Dietary fiber as fat substitute in emulsified and cooked meat model system. *LWT – Food Science and Technology*, 61, 1: 105-111
- Seal C.J., Courtin C.M., Venema K., de Vries J. 2021. Health benefits of whole grain: effects on dietary carbohydrate quality, the gut microbiome, and consequences of processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 20: 2742-2768
- Sofi S.A., Singh J., Rafiq S., Rashid R. 2017. Fortification of dietary fiber ingredients in meat application: A review. *International Journal of Biochemistry Research and Review*, 19, 2: 1-14
- Stephen A.M., Champ M.M.J., Cloran S.J., Fleith, M., van Lieshout, L., Mejbourn, H., Burley, V.J. 2017. Dietary fibre in Europe: current state of knowledge on definitions, sources, recommendations, intakes and relationships to health. *Nutrition Research Reviews*, 30: 149-190
- Swann O. G., Kilpatric M., Breslin M., Oddy W. H. 2019. Dietary fiber and its associations with depression and inflammation. *Nutrition Reviews*, 78, 5: 394-411
- Theuwissen E., Mensink R.P. 2008. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology and Behavior*, 94, 2: 285-292
- Ulmus, M., Johansson, A., Önning, G. 2009. The influence of dietary fibre source and gender on the postprandial glucose and lipid response in healthy subjects. *European Journal of Nutrition*, 48, 7: 395-402
- Uredba (ES) št. 1169/2011 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 22. novembra 2011 o zagotavljanju informacij o živilih potrošnikom. 2011. Uradni list Evropske unije, L304: 18-63
- Uredba (EU) 1924/2006 Evropskega parlamenta in sveta z dne 20. decembra o prehranskih in zdravstvenih trditvah na živilih. 2006. Uradni list Evropske unije, L404: 9-25
- Van Gunst A., Roodenburg A. J. C., Steenhuis I. H. M. 2018. Reformulation as an intergrated approach of four disciplines: a qualitative study with food companies. *Foods*, 7, 4, doi:10.3390/foods7040064: 16 str.
- Van der Kamp J.-W., Miller Jones J., Miller K.B., Ross A.B., Seal C.J., Tan B., Beck E.J. 2022. Consensus, global definitions of whole grain as a food ingredient and of whole-grain foods presented on behalf of the Whole Grain Initiative. *Nutrients*, doi: 10.3390/nu14010138: 10 str.
- Vilà I., Valor C., Redondo R. 2022. Can implementation intentions increase fibre intake? An examination of the effect of planning and educational information. *International Review on Public and Nonprofit Marketing*, doi: 10.1007/s12208-021-00329-9: 20 str.
- Westenbrink S., Brunt K., van der Kamp J.-W. 2013. Dietary fibre: Challenges in production and use of food composition data. *Food Chemistry*, 140, 3: 562-567
- Yadav S., Pathera A. K., Islam R. U., Malik a. K., Sharma D. P., Singh P. K. 2020. Development of chicken sausage using combination of wheat bran with dried apple pomace or dried carrot pomace. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 30, 1: 79-83
- Yamagishi K., Maruyamad K., Ikeda A., Nagaof M., Noda H., Umesawaa M., Hayama-Terada M., Muraki I., Okada C., Tanaka M., Kishida R., Kihara T., Ohira T., Imano H., Brunner E. J., Sankai T., Okada T., Tanigawa T., Kitamura A., Kiyama M., Iso H. 2022. Dietary fiber intake and risk of incident disabling dementia: the circulatory risk in communities study. *Nutritional Neuroscience* (v tisku). doi: 10.1080/1028415X.2022.2027592: 8 str.
- Yang Y., Ma S., Wang X., Zheng X. 2017. Modification and application of dietary fiber in foods. *Journal of Chemistry*, 2017, doi: 10.1155/2017/9340427: 8 str.
- Yangilar, F. 2013. The application of dietary fibre in food industry: structural features, effects on health and definition, obtaining and analysis of dietary fibre: A review. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1,3: 13-23
- Yegin S., Kopec A., Kitts D. D., Zawistowski J. 2020. Dietary fiber: a functional food ingredient with

- physiological benefits. V: Dietary sugar, salt and fat in human health. Preuss H. G., Bagchi D. (ur.). Cambridge, Academic Press: 531-555
- Zielinski G., Rozema B. 2013. Review of fiber methods and applicability to fortified foods and supplements: Choosing the correct method and interpreting results. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405, 13: 4359-4372
- Zeng H., Taussig D. P., Cheng W. H., Johnson L. K., Hakkak R. 2017. Butyrate inhibits cancerous HCT116 colon cell proliferation but to a lesser extent in noncancerous NCM460 colon cells. *Nutrients*, 9, 25: 9010025, doi: 10.3390/nu9010025: 13 str.
- Zhao D., Guo C., Liu X., Xiao C. 2021. Effects of insoluble dietary fiber from kiwi fruit pomace on the physicochemical properties and sensory characteristics of low-fat pork meatballs. *Journal of Food Science and Technology*, 58,4:1524-1537

NARAVNE BIOAKTIVNE SNOVI - PRIMERI RAZISKAV IN UPORABE V ŽIVILSTVU V TEKOČIH RAZISKOVALNIH PROJEKTIH 2020-2022

Sonja SMOLE MOŽINA¹

Povzetek: Skupni imenovalec različnih raziskovalnih in pedagoških projektov zadnjih let so bioaktivne snovi različnega izvora (rastlinskega, s poudarkom na izrabi stranskih proizvodov predelave rastlinskih surovin agroživilstva, ter mikrobnega, s poudarkom na fermentativnih in potencialno probiotičnih bakterijskih kulturah), in njihova kombinirana uporaba. Prispevek podaja kratek izbor raziskav sestave in aktivnosti ter načinov uporabe izbranih bioaktivnih snovi za izboljšanje varnosti, kakovosti in obstojnosti živil: z zmanjšanjem mikrobne obremenitve kontaktnih površin z uporabo protiadhezijskih in protibiofilmskih učinkovin, neposrednim dodajanjem v živila v obliki naravnih konzervansov, posrednim dodajanjem, npr. v pitno vodo brojlerjev za zmanjšanje obremenitve živali s črevesnimi bakterijami iz rodu *Campylobacter* in posledično površine svežega mesa, ali pa dodajanjem bioaktivnih snovi embalažnim materialom in/ali njihovim funkcionaliziranim premazom za izboljšanje bioaktivnosti – antioksidativnega in protimikrobnega delovanja v/na živilu. V pregled se vključujejo: mednarodni evropski projekt programa PRIMA (Bio-Pro-Med-Food, 2020-23), bilateralna mednarodna projekta (BI-SLO-A in BI-SLO-USA), domači ARRS projekt Mikrobne interakcije (J4-2542, 2020-23), redni in dodatni (2020-21) raziskovalni program P4-0116 ter razvojno-aplikativni projekt Karakterizacija čebeljih pridelkov (MKGP 2020-22) in številni pedagoški projekti s študenti (npr. Po kreativni poti do znanja (PKP), trije doktorski projekti in večje število zaključnih MSc in BSc nalog).

Ključne besede: naravne bioaktivne snovi, protimikrobnost, antioksidativnost, varnost živil, kakovost živil, obstojnost živil, *Campylobacter jejuni*, filmotvornost, rastlinski pripravki, protibakterijski učinek, probiotiki

NATURAL BIOACTIVE COMPOUNDS – RESEARCH CASE STUDIES AND FOOD APPLICATIONS IN CURRENT RESEARCH PROJECTS 2020-2022

Abstract: Bioactive compounds from different sources are in focus of several currently on-going research and pedagogical projects (from plants, especially from different agro-food by-products and waste materials, from microbial sources, especially fermentative and/or potentially probiotic bacterial cultures), and/or their combined application. The article brings short research overview of sources, contents, activity, and applications of selected bioactive compounds for improvement of safety, quality and stability of foods. It can be achieved by reducing of microbial load on food contact surfaces with anti-adhesive and anti-biofilm substances, direct addition into foods as natural preservatives, non-direct application in drinking water of broilers for reducing microbial load with enteric bacteria *Campylobacter* on fresh carcasses, or by integration of bioactive compounds into food packaging materials or their functional coatings for bioactivity improvement – anti-oxidant and antimicrobial activity on food product. Several projects are included: international European project in PRIMA programme (Bio-Pro-Med-Food, 2020-23), bilateral international projects (BI-SLO-A in BI-SLO-USA), Slovene ARRS project Microbial Interactions (J4-2542, 2020-23), regular (P4-0116) and additional targeted research programme (2020-21), and applicative research programme Characterization of bee products (MKGP 2020-22), several other pedagogical projects with students (e.g. On the creative path to knowledge (PKP), three PhD projects and higher number of MSc and BSc projects).

¹ Prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: sonja.smole@bf.uni-lj.si

Key words: natural bioactives, antimicrobial activity, antioxidant activity, food safety, food quality, prolonged shelf-life, *Campylobacter jejuni*, biofilm formation, herbal preparations, antibacterial effect, probiotics

1 UVOD

Kljub stalnemu razvoju tehnologij proizvodnje, predelave, konzerviranja in distribucije hrane ter visokih higienskih standardov, so izgube surovin in izdelkov na vseh stopnjah proizvodnje in oskrbe z živilom realnost zaradi številnih fizikalnih, kemijskih ali bioloških dejavnikov. Pokvarjena hrana je nesprejemljiva za uživanje in se najpogosteje pojavlja v sveži pridelavi, kjer je skrb za omejevanje kvara najpomembnejša. Poleg tega so zdravju škodljivi mikroorganizmi, prenosljivi s hrano, povzročitelji številnih okužb ali zastrupitev in s tem tudi žrtev ter ogromne gospodarske škode. Varnost, kakovost in obstojnost hrane in s tem tudi prehranska varnost prebivalstva ostaja globalna zdravstvena in gospodarska skrb v vseh delih sveta. Aktualne razmere globalne podnebne krize, zdravstvene krize zaradi pandemije Covid in v zadnjih mesecih še vojne na evropskih tleh ter posledičnih omejitev energetskih in številnih drugih blagovnih tokov so to zavedanje močno okrepile tudi v razvitih državah. Prehranska varnost nikakor ni samoumevno zagotovljena nikomur niti v najbogatejših državah. Nasprotno, zagotavljajo jo lahko le načrtna in stalna vlaganja v razvoj in raziskave agroživilstva na vseh nivojih proizvodno-oskrbovalne verige s hrano, vključno z drugimi povezanimi področji, omogočen prenos pridobljenega znanja v prakso na osnovi dobrih povezav med temeljnimi in tehnološko uporabnimi raziskavami in na osnovi tega stalen industrijski in splošni družbeni razvoj.

Zaradi vse večje priljubljenosti in porabe sveže in minimalno predelane hrane ter zdravstvene in okoljske osveščenosti potrošnikov in ostalih deležnikov v živilski proizvodno-oskrbovalni verigi, je izrazit trend zmanjševanja dodatkov živilom ter še hitrejši razvoj novih materialov, postopkov in tehnologij pakiranja živil. Za zagotavljanje mikrobiološke in kemijske varnosti živil in zmanjšanja obremenitve okolja zaradi zavržkov hrane in odpadne nerazgradljive embalaže se splošni razvoj in zahteve potrošnikov usmerjajo v zdravju in okolju prijaznejše načine pridelave, predelave in konzerviranja hrane. To spodbuja razvoj inovativnih načinov biološkega konzerviranja z naravnimi bioaktivnimi snovmi s protimikrobnim in antioksidativnim delovanjem, namesto sintetičnih kemijskih konzervansov (Bordignon in sod., 2016; Prakash in sod., 2017; Elkhishin in sod., 2017; Pisoschi in sod., 2018; Bouarab Chibane in sod., 2019; Klančnik in sod., 2019; Smole Možina in sod., 2018a,b; 2021).

2 AKTUALNI RAZISKOVALNI IZZIVI PODROČJA

Z naravnimi bioaktivnimi učinkovinami lahko zmanjšamo ali celo preprečimo rast patogenov in povzročiteljev kvara živil, kot tudi oksidacijske in druge neželjene kemijske spremembe. Po drugi strani lahko izboljšamo izkoristljivost hranilnih in drugih funkcionalnih sestavin hrane. Vendar je kljub številnim nedavnim raziskavam naravnih bioaktivnih učinkovin potrebno razširiti nabor potencialno uporabnih snovi za biokonzerviranje hrane. Nove možnosti odpirajo okolju in zdravju prijaznejše, t.i. »zelene« tehnologije ekstrakcije, čiščenja in aplikacije rastlinskih učinkovin na eni strani (Elez-Garofulić in sod., 2021; Čagalj in sod., 2022), širši izbor novih fermentativnih in probiotičnih kultur na drugi strani (Project Midterm Report BioProMed Food, 2021) in nenazadnje njihovo kombinirano uporabo.

Potrebno pa je reševati še številne druge omejitve za neposredno uporabo naravnih dodatkov v

živilih. Te so povezane z njihovo neznano in/ali kemijsko nestabilno naravo, npr. hlapnostjo in s tem neprijetno aromo, omejeno topnostjo v vodi/olju in/ali dovzetnostjo za razgradnjo zaradi temperature, svetlobe in kisika ali interakcij z matriksom živila – kar vse zmanjšuje učinkovitost. Tudi bioaktivne snovi je torej potrebno zaščititi pred kemijsko in/ali fizikalno razgradnjo, nenadzorovanim sproščanjem in negativnimi učinki na senzorične lastnosti živil, zlasti v primeru hlapnih spojin (npr. rastlinska eterična olja (EO)). EO lahko zaradi velike hlapnosti ali interakcij s hidrofobnimi sestavinami izgubijo svojo aktivnost. Bioaktivne spojine lahko prehajajo v matriks ali reagirajo z drugimi spojinami (Prakash in sod., 2018; Ju in sod., 2019; Hao in sod., 2022). Ključna rešitev je lahko v dostavnem načinu na mesto njihovega delovanja – npr. neposredno na ali v živilo. Alternativa je lahko nanos oz. obdelava kontaktne površine, ki je v stiku z živilom, embalažnega materiala ali njegovega površinskega premaza ali celo uporaba užitnega biofilma. Na tak način funkcionalizirana oz. aktivna embalaža zagotavlja izboljšano zaščito živila, njegovo varnost in kakovost v smislu hranilnih, senzoričnih in funkcionalnih lastnosti, podaljšano svežino in rok obstojnosti izdelka (Han in sod., 2018; Salgado in sod., 2021; Florez in sod., 2022).

V živilstvu se nanotehnologija pogosto uporablja za razvoj novih in inovativnih dostavnih sistemov za bioaktivne učinkovine, vključno z razvojem novih načinov biološkega konzerviranja hrane. To so lahko užitni filmi neposredno na živilih ali npr. bioaktivni premazi površin ali embalažnih materialov. Glavni cilj takšne uporabe je izboljšanje kakovosti, varnosti in podaljšanje obstojnosti izdelka. Premazi so zelo priljubljeni zaradi njihove potencialne biorazgradljivosti (Donsi in Ferrari, 2016; Fabra in sod., 2018; Bakshi in sod., 2020; Potrč in sod., 2019; 2020a,b; Paidari in sod., 2021). Izziv nadaljnjih raziskav pa ostaja optimizacija obstojnosti njihovega delovanja in stabilnost užitnih filmov in premazov na izbranih embalažnih materialih pod stresnimi pogoji proizvodnje in/ali oskrbe z živilo.

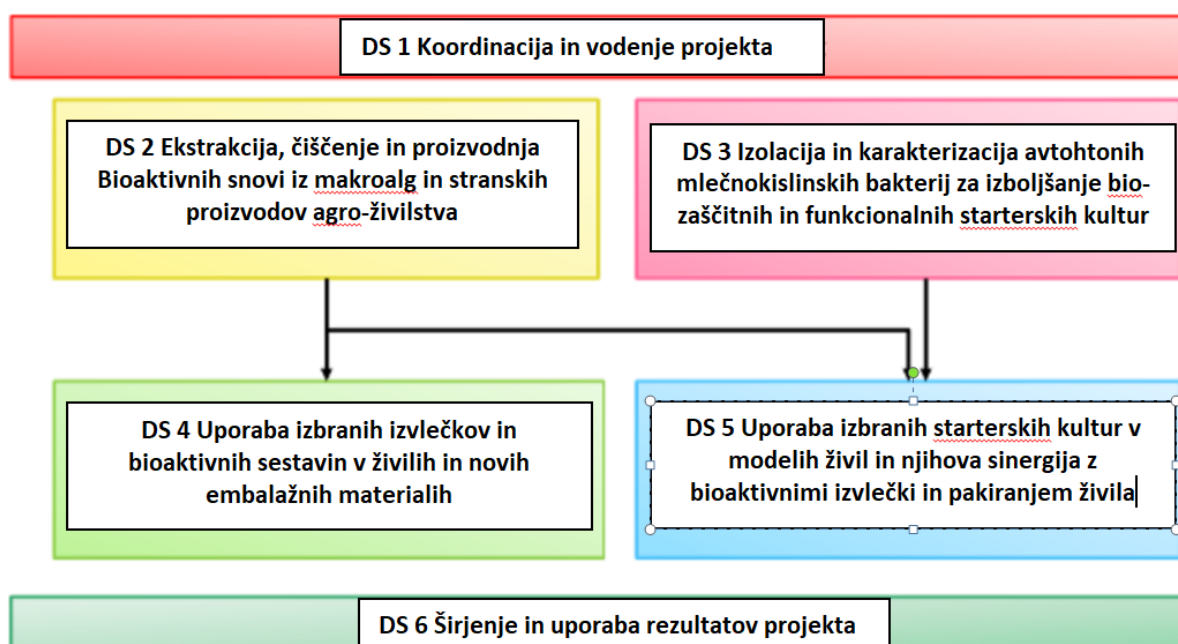
Fermentacija hrane je bila v zgodovini človeštva ena od najpomembnejših načinov ohranjanja živeža preko celega leta. Čeprav je danes na voljo mnogo drugih načinov konzerviranja, pa fermentirana hrana ohranja svojo izjemno pomembno vlogo v smislu varnosti, kakovosti in obstojnosti živil. Starterske, biozaščitne in probiotične kulture so temeljne oblike industrijske uporabe mikroorganizmov na področju proizvodnje hrane in prehrane. Mikrobne interakcije predstavljajo vse bolj priljubljen naravni pristop k obvladovanju zdravju škodljivih mikroorganizmov v različnih okoljih, vključno z živilsko verigo (Ricci in sod., 2018).

Številni izzivi razvoja in uporabe novih bioaktivnih snovi v živilstvu, omenjeni v predhodnih odstavkih, so narekovali tudi cilje nedavno zaključenih ali še vedno tekočih raziskovalnih projektov, ki jih koordiniramo na Biotehniški fakulteti ali pa smo ena od sodelujočih partnerskih skupin. V nadaljnjih točkah tega preglednega dela so vključeni opisi nekaterih izsekov raziskovalnega dela skupine za živilsko mikrobiologijo v mednarodnem evropskem projektu iz programa PRIMA (Bio-Pro-Med-Food, 2020-23), bilateralnega mednarodnega projekta z ZDA, domačega ARRS projekta Mikrobne interakcije (J4-2542, 2020-23) ter rednega in dodatnega (2020-21) raziskovalnega programa P4-0116.

3 PROJEKT »BIO-PRO-MED-FOOD«

3.1 ORGANIZACIJSKA SHEMA IN DELOVNI SKLOPI PROJEKTA

Projekt BioProMedFood (Bio-zaščitne kulture in bioaktivni izvlečki kot trajnostne kombinirane strategije za podaljšanje obstojnosti mediteranske hrane) je evropski projekt, ki je v letih 2020-2023 financiran v okviru programa PRIMA (The Partnership on Research and Innovation in the Mediterranean Area). Povezuje deset partnerskih raziskovalnih skupin in podjetij iz petih mediteranskih držav (Italija, Španija, Turčija, Hrvaška in Slovenija). Osredotoča se na preučitev dveh inovativnih in trajnostnih konceptov - bioaktivnih sestavin in bio-zaščitnih kultur - za povečanje njihove učinkovitosti v proizvodnji hrane, za podaljšanje roka trajnosti hitro pokvarljivih mediteranskih izdelkov in povečanje varnosti živil.



Slika 1: Delovni sklopi projekta BioProMedFood (Vir: <https://biopromedfood.cu.edu.tr/>)

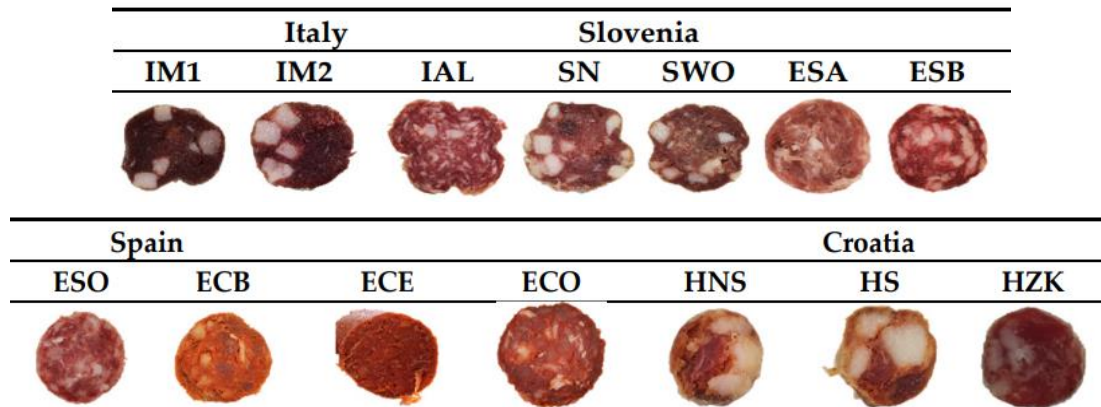
Obenem je namen projekta BioProMedFood dodati ekonomsko vrednost stranskim proizvodom živilske industrije in zmanjšati količino živilskih odpadkov, ki predstavljajo tudi velik okoljski problem. Njihovo dodano vrednost jim daje možnost pridobivanja bioaktivnih sestavin – s potencialom zaviranja oksidacijskih procesov ter mikrobne rasti in njihove encimske aktivnosti, če z njimi obogatimo živilske izdelke neposredno ali pa, če jih uporabimo za funkcionalizacijo kontaktnih površin, ki prihajajo v stik z živilo ali živilskih embalažnih materialov (BioProMedFood Project Proposal, 2019; Potrč in sod., 2019; 2020a,b; Gradišar Centa in sod., 2021; Tyagi in sod., 2021; Vidrih in sod., 2021; Wang in sod., 2022; Flórez in sod., 2022; Pawlowska in Stepczynska, 2022).

Ker projekt BioProMedFood povezuje dva koncepta - bioaktivne sestavine in bio-zaščitne kulture v desetih sodelujočih raziskovalnih institucijah, so cilji projekta številni, izpostavljam le nekatere, v katere smo neposredno vključeni:

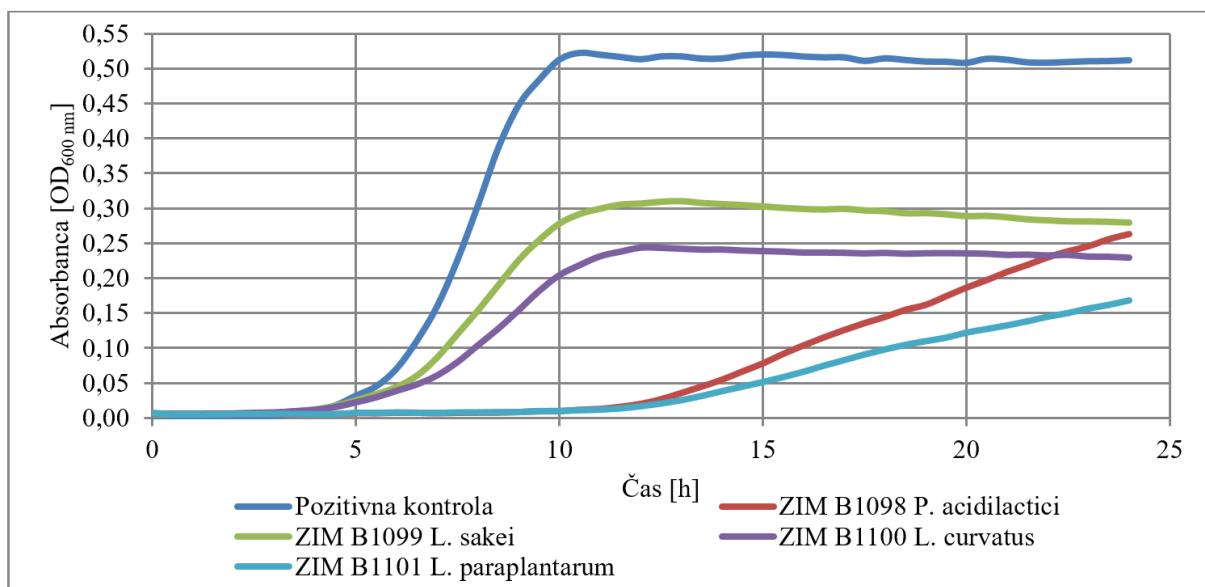
- pridobivanje izvlečkov, čiščenje in proizvodnja bioaktivnih spojin iz različnih materialov, pomembnih za sredozemsko gospodarstvo in z velikim potencialom biotske raznovrstnosti (npr. stranski proizvodi predelave oljk, grozdja in drugih vrst sadja, pri čemer smo se vključili v pridobivanje in analize tropin oz. stranskih proizvodov predelave aronije, višnje, robide, šipka in različnih materialov brina (iglic in plodov neposredno ali pa odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja). Ekstrakcijo fenolnih spojin, podprto z uporabo mikrovalov (Malin in sod., 2022) smo optimizirali glede na končno antioksidativno in protimikrobno aktivnost izvlečkov »*in vitro*«, nato pa jih uporabili posamično ali kombinirano za zaviranje oksidativnih procesov, rasti ter aktivnosti bakterijskih in glivnih patogenih vrst ter povzročiteljev kvarjenja hrane, njihove adhezivnosti in filmotvornosti (Project Midterm Report BioProMed Food, 2021; Ramić in sod., 2022a);
- izolacija in selekcija funkcionalnih sevov mlečnokislinskih bakterij z bio-zaščitnim potencialom iz spontanij fermentacij tradicionalnih mesnih izdelkov (Barbieri in sod., 2021), karakterizacija zaviralnega delovanja njihovih predpripravkov (brezceličnih izvlečkov) proti mikrobnim povzročiteljem okužb, zastrupitev in kvara živil in/ali fermentacijskega potenciala za izbor bio-zaščitnih in izboljšanih funkcionalnih starterskih kultur;
- uporaba bioaktivnih spojin, mlečnokislinskih bakterij in sinergističnega učinkovanja obeh v različnih modelih živil;
- razvoj novega polimernega embalažnega materiala s karakteriziranimi fizikalnimi, kemijskimi, tehnološkimi in funkcionalnimi lastnostmi (Bayram in sod., 2021), vključno z antioksidativno in protimikrobno aktivnostjo premaza površine, ki je v neposrednem kontaktu z žvilom - kar bo omogočilo zaviranje kvarnih procesov in ohranitev podaljšane obstojnosti živilskih izdelkov (Smole Možina in sod., 2022a). Predviden je nabor različnih modelnih živil ob različnih načinih pakiranja le-teh, pri tem pa izbiramo tipične živilske izdelke mediteranske regije, ki so podvrženi hitremu kvarjenju (npr. ribje meso in izdelek kot je ribji burger; sveže sadje in zelenjava in izdelki, kot je npr. namaz na osnovi jajčevca ipd.).



Slika 2: Bioaktivni izvlečki so bili pripravljene iz rjavih makroalg Jadrana in stranskih proizvodov (npr. tropin po stiskanju sadnega soka robide, aronije, višnje, odpadne pogače iz proizvodnje ekstrakta šipka ali iglic po destilaciji eteričnega olja brina). (Vir: Project Midterm Report, D.1.2, BioPromedFood, 2021).



Slika 3: Prerez tradicionalnih fermentiranih mesnih izdelkov štirih partnerskih držav projekta BioPromedFood, ki so bili v projektu analizirani glede parametrov varnosti in kakovosti tradicionalnih fermentiranih mesnih izdelkov ter za izolacijo avtohtonih mlečnokislinskih bakterij za nadaljnjo selekcijo sevov funkcionalnih starterskih in bio-zaščitnih kultur (Barbieri in sod., 2021; 2022).



Slika 4: Zavirna rast testne bakterije *Listeria innocua* ŽM39 zaradi dodatka predpripravka brezceličnega supernatanta v projektu selekcioniranih mlečnokislinskih bakterij kot potencialnih novih funkcionalnih starterskih in bio-zaščitnih kultur. Prestavljeni rezultati so služili za izbor kulture *L. plantarum* za nadaljnje poskuse na modelih živil, samostojno ali z dodatki rastlinskih bioaktivnih snovi (Vir: neobjavljeni rezultati Laboratorija za živilsko mikrobiologijo v okviru projekta BioPromedFood).

3.2 KONČNI CILJI PROJEKTA

V končni stopnji bo doseganje ciljev projekta omogočilo omejitev invazivnih fizikalnih postopkov konzerviranja hrane in uporabe sintetično proizvedenih konzervansov, izkoriščanje mediteranske mikrobne raznolikosti in stranskih proizvodov agroživilske proizvodnje – za trajnostne in cenovno ugodne rešitve z optimiziranimi biotehnološkimi načini zmanjšanja tveganj, ki so jim izpostavljeni predvsem majhni proizvajalci tradicionalnih živilskih izdelkov. Ob tem je vodilni cilj zadovoljitev potrošnikovih zahtev po sveži in minimalno predelani hrani, a ob zagotavljanju najstrožjih zahtev glede varnosti živilskih izdelkov.

4 PROJEKT »MIKROBNE INTERAKCIJE KOT TEMELJ BIOKONTROLE BAKTERIJ *CAMPYLOBACTER JEJUNI*«

4.1 IZHODIŠČA IN GLAVNI DELOVNI SKLOPI PROJEKTA

Kampilobakterioza je najpogostejša s hrano prenešena bakterijska črevesna okužba ljudi v razvitih državah, z visokimi stroški za javno zdravstvo in gospodarstvo. V Sloveniji je Nacionalni inštitut za javno zdravje poročal o 26 %-nem povečanju pogostosti humanih kampilobakterioz med leti 2015-2016 in 32 %-nem povečanju glede na 10-letno povprečje (NIJZ, 2017). Bakterije vrste *C. jejuni* so komensali v prebavnem traktu živali, predvsem ptičev. Glavni način prenosa okužb v razvitem svetu je toplotno neustrezno obdelano piščančje meso. V EU, kljub številnim ukrepom, prevalenca *C. jejuni* v jatah brojlerjev ostaja visoka, ponekod celo nad 80 % (EFSA/ECDC, 2019). V drugih delih sveta je glavni način prenosa okužbe kontaminirana pitna voda. Poleg razširjenosti problem povečuje naraščajoča odpornost proti številnim snovem, vključno z večkratno odpornostjo proti protimikrobnim zdravilom (Smole Možina in sod., 2011; EFSA/ECDC, 2019).

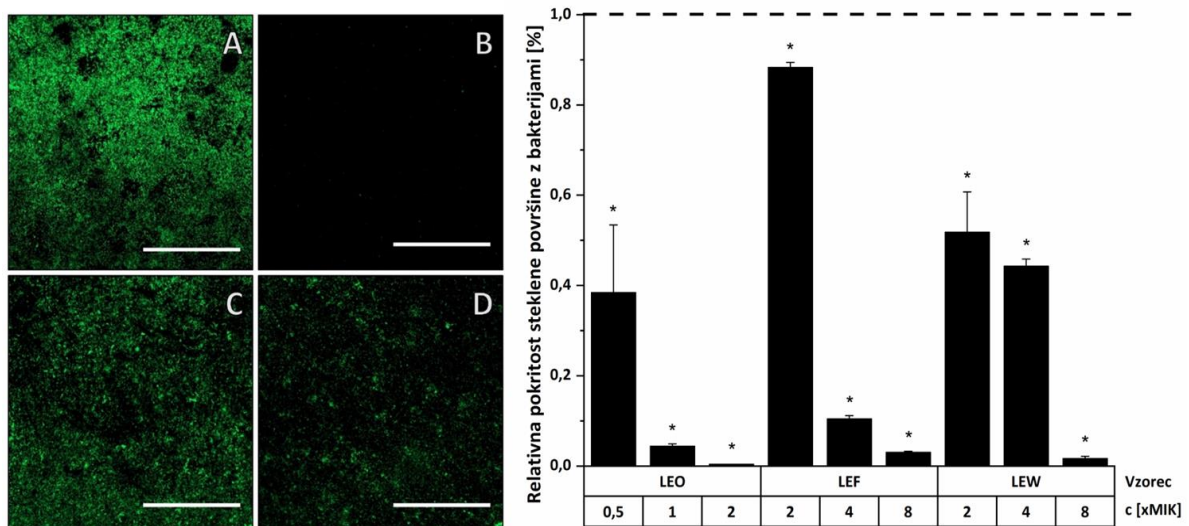
Nujni so novi načini omejevanja okužb z odpornimi bakterijami, brez izzivanja novih oblik odpornosti. Biološka kontrola z naravnimi učinkovinami ali probiotičnimi kulturami, ki vstopajo v interakcijo s patogenom, je nova alternativa, a je malo znanega o interakcijah bakterij vrste *C. jejuni*. Raziskave v tekočem temeljnem raziskovalnem projektu ARRS (J4-2542) in tudi doktorskem projektu (MR 51861) usmerjamo v naslednja področja:

- **Medcelična signalizacija** (angl. quorum sensing, QS): *C. jejuni* ima t.i. autoinduktorski-2 (AI-2)/LuxS sistem, ki vpliva na adhezijo in filmotvornost. Znano je, da je produkt gena *luxS* ključen za adhezijo *C. jejuni* na površine in virulentnost (kolonizacijo črevesja), a so raziskave QS *C. jejuni* za kontrolo tega patogena še zelo redke. Potrdili smo učinkovitost številnih rastlinskih izvlečkov in njihovih aktivnih učinkovin kot zaviralcev medcelične signalizacije bakterij. Izvlečki odpadnega materiala po destilaciji eteričnega olja brina, timijana, origana, sivke ter izvlečki listov oljk, robide, iglic brina ali korenin rožnega korena učinkovito zavirajo sintezo signala AI-2, v korelaciji s tem je zavrta gibljivost celic, adhezija na različne površine in posledično filmotvornost, tudi za več kot 99 % (Bezek in sod., 2016; Šimunović in sod., 2020a,b; Klančnik in sod., 2021; Kunčič in sod., 2021). Nekateri pripravki aktivno odstranjujejo tudi že razviti biofilm (Slika 6, Ramić in sod., 2021). V projektu ARRS in MR pa raziskujemo soodvisnosti in mehanizme delovanja (Ramić in sod., 2021a,b,c), medsebojne zveze tudi natančneje kvantificiramo (Ramić in sod., 2022).
- **Medsevne interakcije bakterij *C. jejuni*** še niso poznane, čeprav nedavne raziskave kažejo na izjemno heterogenost genotipov *C. jejuni* iz klavnic, kontaminiranega mesa in humanih kliničnih vzorcev. Proučevanje bakterijskih interakcij postaja na področju živilske mikrobiologije vse bolj atraktivno. Kljub temu je malo znanega o znotrajvrstnih bakterijskih interakcijah v odvisnosti od sorodnosti oz. sorodstveni diskriminaciji bakterij. Pri patogenih bakterijah *Campylobacter jejuni* to področje še ni raziskano, ima pa velik potencial, saj z razumevanjem vedenjskih vzorcev patogenih bakterij lahko prispevamo k njihovi učinkoviti kontroli. Opis biotskih interakcij med sevi *C. jejuni* v

znanstveni literaturi še ni bil objavljen. Rezultati doktorske disertacije (Šimunović, 2020) nakazujejo kooperativne in antagonistične interakcije v odvisnosti od genotipa in sorodstvenega prepoznavanja sevov, kar nadalje raziskujemo v projektu »Mikrobne interakcije kot temelj biokontrole bakterij *Campylobacter jejuni*« (Šimunović in sod., 2022a).

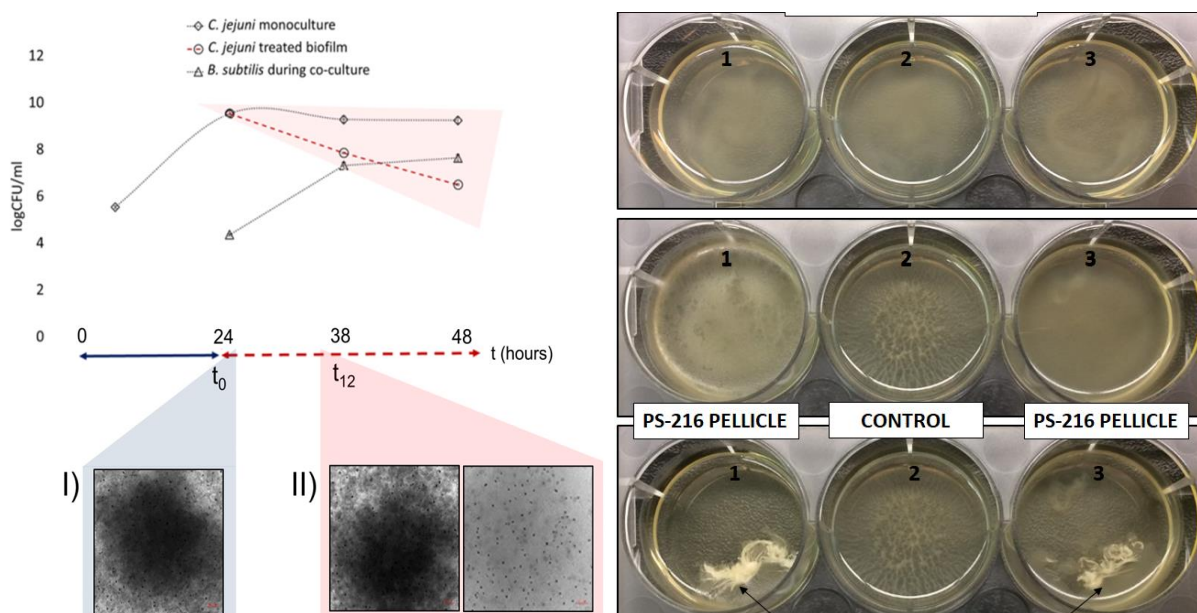


Slika 5. Etanolni izvleček smilja iz odpadnega rastlinskega materiala po destilaciji ima dobro protimikrobno aktivnost (minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) = 0,5 mg/mL) in zavira adhezijo bakterij na plastično površino v sub-inhibitorni koncentraciji (1/4 MIK, 0,125 mg/mL). Rezultati kažejo uporabnost pripravka pri obvladovanju bakterij *C. jejuni* (Ramić in Smole Možina, 2019).



Slika 6. Uspešno odstranjevanje zrelega bakterijskega biofilma s stekla s pripravki sivke (levo: fluorescentna mikroskopija (kontrola (A), eterično olje, LEO (B), izvleček cvetov, LEF (C) in odpadnega rastlinskega materiala po destilaciji (LEW) (D), vse uporabljene koncentracije 2× MIK; desno: rezultat računalniške obdelave slike prikazuje uspešnost odstranjevanja biofilma v odvisnosti od koncentracije pripravkov in potrjuje uporabnost pripravka iz odpadka (Ramić in sod., 2021a)).

- Medvrstne interakcije bakterij *C. jejuni* in *B. subtilis*:** Kolonizacijo črevesja perutnine z bakterijo *C. jejuni* lahko omejimo z dodatkom sporogenih probiotičnih bakterij *B. subtilis* v krmo živali. Študije *in vivo* opisujejo še dodatne koristi za gostitelja. Kljub široki uporabi pa je presenetljivo, da niso znani molekularni mehanizmi interakcije *C. jejuni* - *B. subtilis* in posledice za preživetje, rast in filmotvornost bakterij *C. jejuni*. Vrzeli v tem znanju zapolnjujemo s tekočim projektom (Erega in sod., 2021a,b,c; Šimunović in sod., 2022b,c (oddano v objavo)). Poleg objav je bila rezultat večletnih raziskav mikrobnih interakcij bakterij *C. jejuni* in *B. subtilis* v programu P4-0116 tudi patentna prijava o potencialno probiotičnem sevju *B. subtilis* PS-216, učinkovitem proti enteropatogenim bakterijam, prenosljivim s hrano (Mandić-Mulec in sod., 2020).

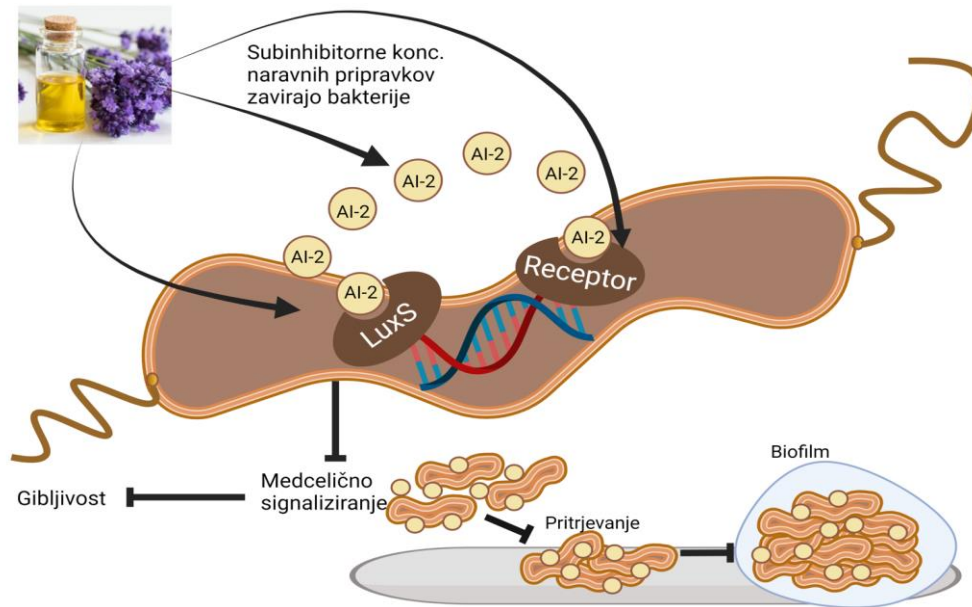


Slika 7: Bakterija *B. subtilis* razgradi že oblikovani biofilm bakterij *C. jejuni* (levo: časovni potek in posnetek dogajanja s svetlobnim mikroskopom; desno: posnetek razgradnje biofilma v mikrotitrski plošči: 1. Vrsta: monokultura *C. jejuni*; 2. Vrsta: Dodatek in tvorba pelikla *B. subtilis*; 3. Vrsta: razgrajen biofilm *C. jejuni*, viden po odstranitvi pelikla *B. subtilis* (1, 3); 2: kontrola. Za inhibitorni učinek bakterij *B. subtilis* na biofilm bakterij *C. jejuni* je odgovorna sinteza protimikrobnih snovi (Erega in sod., 2019; 2021d; 2022 (v recenziji)).

4.2 CILJ PROJEKTA SO TRAJNOSTNE STRATEGIJE OBVLADOVANJA PATOGENIH BAKTERIJ, PRENOSLJIVIH S HRANO

Splošno uporabnega, učinkovitega, varnega in trajnostno naravnega načina preprečevanja okužb s kampilobaktri še nimamo. Preprečevanje filmotvornosti brez dodatnega selekcijskega pritiska za pojav bakterij, odpornih proti antibiotikom in drugim protimikrobnim snovem, je pristop brez uporabe večjih koncentracij protimikrobnih snovi. Tarče so ključne stopnje v procesu filmotvornosti – to so med drugim tudi medcelična signalizacija (Castillo in sod., 2014; Truchado in sod., 2015; Asfour in sod., 2018) gibljivost in adhezija bakterij na površino (Šimunović in sod., 2020a,b; Ramić in sod., 2021; Klančnik in sod., 2021). Obvladljive so z zelo majhnimi (sub-inhibitornimi) koncentracijami protimikrobnih snovi, ki ne spreminjajo ostalih lastnosti živil ali razmer v njihovi proizvodnji, kar jim daje potencialno uporabnost na področju agroživilstva (Smole Možina in sod., 2022b).

Izpostavljena celična tarča je bakterijska komunikacija na osnovi kemijskega signaliziranja z avtoinduktorskimi molekulami (AI-2). Zaviranje ene od vpletenih stopenj, od izražanja gena *luxS* do zaznavanja s še neraziskanimi receptorskimi molekulami, se med drugim odraža v slabši gibljivosti, adhezivnosti in filmotvornosti ter tudi invazivnosti patogenih *C. jejuni* za črevesne celice in omejenim odzivom na oksidativni stres (Slika 8).



Slika 8. Signalizacijski sistem bakterij *C. jejuni* je ena od osrednjih tem temeljnih raziskav (vloga AI-2 v celični presnovi, kvantifikacija in regulacija sinteze, vloga v medsevani in medvrstni komunikaciji) in aplikativnih raziskav skupine (npr. rastlinski ali mikrobní zaviralci sinteze AI-2 kot način obvladovanja kampilobaktrov v živilski verigi) (Smole Možina in Klančnik, 2022 (v tisku))

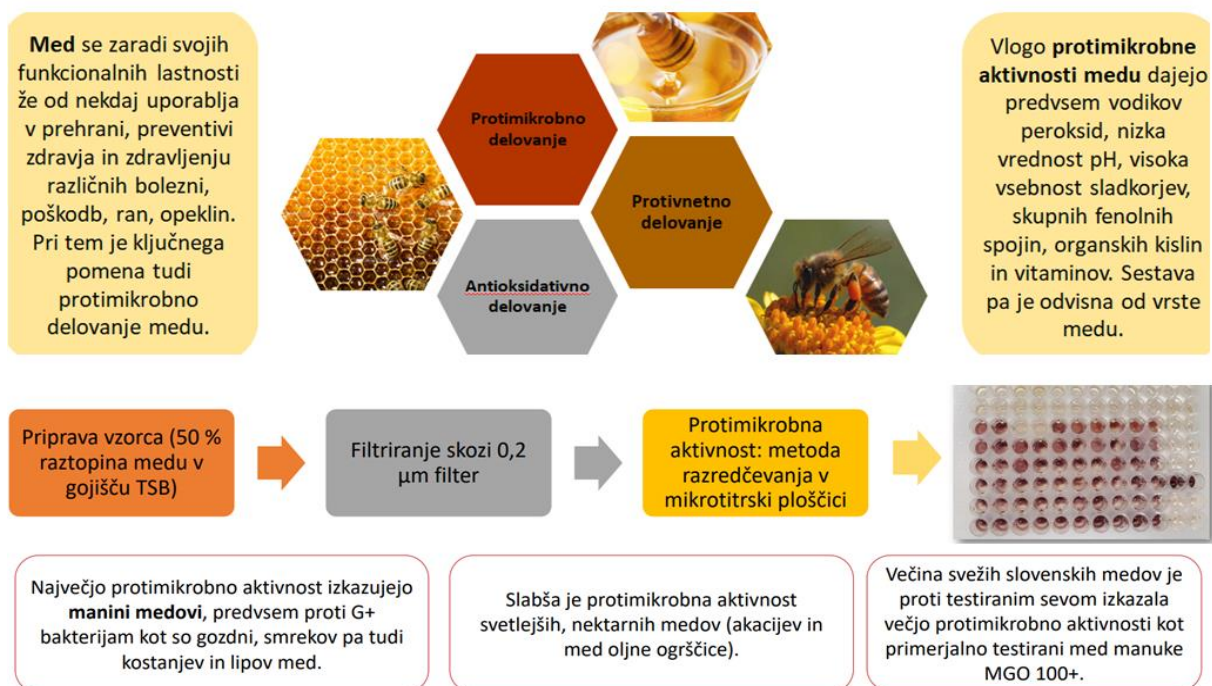
Zaviralno delovanje naravnih bioaktivnih snovi je povezano z zmanjšano sintezo signala AI-2, kar smo prvič kvantitativno izmerili z biosenzorsko metodo s sevom *Vibrio harveyi* MM30 in metodo HPLC-FLD (Ramić in sod., 2022b, v tisku). Natančnejša kvantifikacija pa odpira pot tudi do novih temeljnih bioloških spoznanj, npr. pojasnuje vlogo signala AI-2 v presnovi bakterij *C. jejuni*. Na ta način s tekočimi raziskovalnimi projekti poglobljamo temeljno znanje o mehanizmih razvoja odpornosti bakterij, prenosljivih s hrano, z uporabnimi raziskavami pa na temelju novega znanja razvijamo nove načine njihovega obvladovanja in na ta način prispevamo k trajnostnemu napredku v proizvodnji varnih, kakovostnih in obstojnih živil s podaljšano svežino in rokom trajanja.

5 Poudarki iz drugih projektov karakterizacije in uporabe naravnih bioaktivnih virov

5.1 BIOAKTIVNE LASTNOSTI ČEBELJIH PRIDELKOV

V okviru 3-letnega sodelovanja s Čebelarstvo zvezo Slovenije v skladu z Uredbo o izvajanju programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022 (Uradni list RS, 78/19) poteka projekt Karakterizacija čebeljih pridelkov (medu, cvetnega prahu, matičnega mlečka in propolisa). V laboratoriju za živilsko mikrobiologijo smo določili protimikrobno

delovanje 120 vzorcev slovenskega medu z določenim geografskim in botaničnim poreklom, električno prevodnostjo, vsebnostjo vode, vsebnostjo skupnih fenolnih spojin (TPC) in antioksidativnim delovanjem (metoda DPPH in FRAP). Protimikrobno delovanje proti trem gram-pozitivnim (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* in *Bacillus cereus*) in trem gram-negativnim (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* in *Pseudomonas aeruginosa*) testnim bakterijam smo določili kot vrednosti MIK z mikrodilucijsko metodo in potrdili odlično protimikrobno aktivnost predvsem temnih oz. maninih medov (ajdov, hojev, kostanjev, gozdni med) (Kunčič in sod., 2022). Na splošno imajo temni medovi večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin (TPC) in zato boljši antioksidativni in protimikrobni učinek, a slednjega ni mogoče enostavno povezati samo z vsebnostjo TPC, saj nanj vplivajo tudi drugi dejavniki, npr. encimska aktivnost.

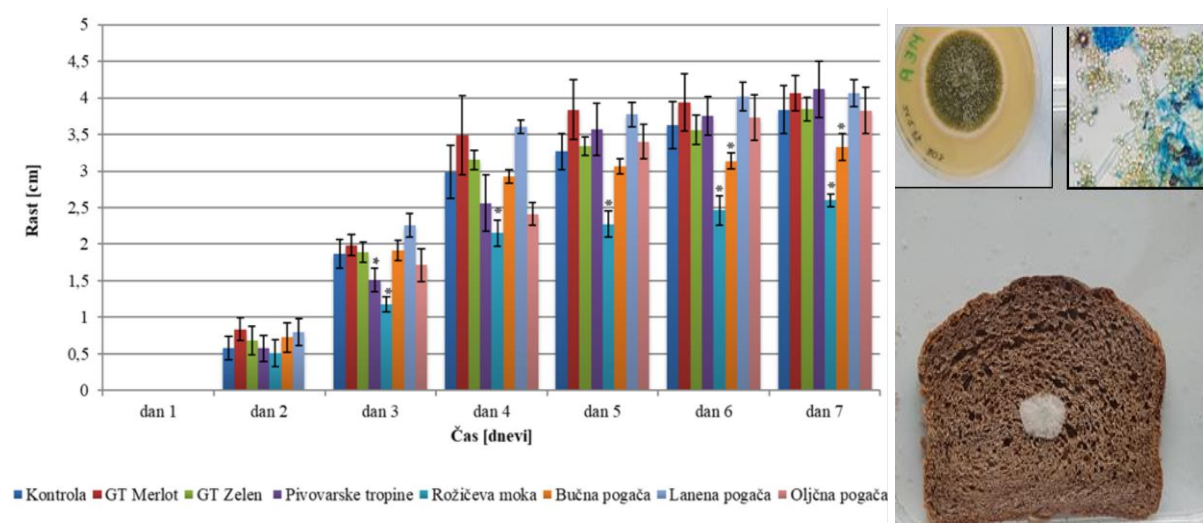


Slika 8. Bioaktivnost medu in osnovna shema priprave vzorca medu za ugotavljanje protimikrobne aktivnosti kot minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) in glavni poudarki rezultatov, prikazanih na slovenskem mikrobiološkem kongresu l. 2020, po 1. letu izvajanja raziskave (Šuštar in sod., 2020).

Raziskovalni rezultati potrjujejo, da imamo izjemne naravne razmere za pridelavo medu (in drugih čebeljih pridelkov) z najboljšimi bioaktivnimi lastnostmi, zato bi morali posvetiti več pozornosti tudi proizvodnji in priznanju te kakovosti na trgu. K temu želimo prispevati tudi s pričujočo in ostalimi raziskavami protimikrobne aktivnosti medov in cvetnega prahu slovenskega porekla (Perko, 2017; Kozmus in sod., 2018; Lilek in sod., 2018; Podržaj, 2019; Šimunović in sod., 2019; Šuštar in sod., 2020; Kandolf Borovšak in sod., 2020; Horvat, 2021).

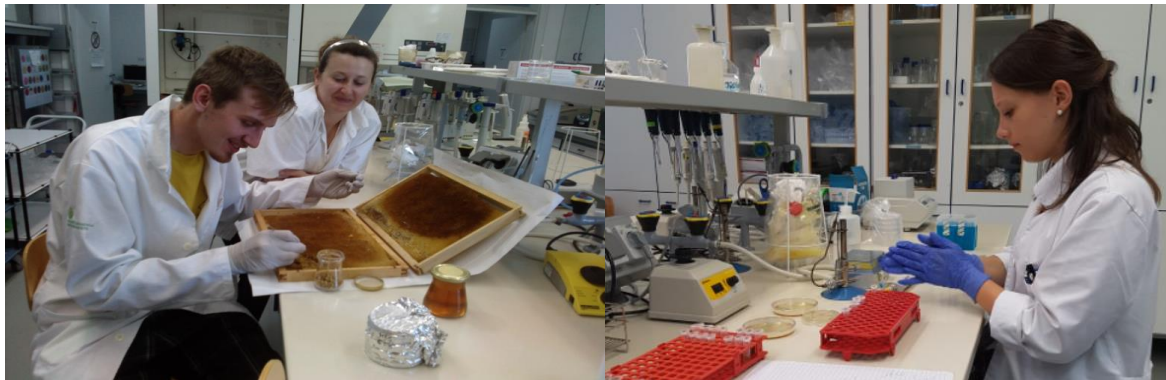
5.2 NEKATERI DRUGI PRIMERI RAZISKAV PROTIMIKROBNE AKTIVNOSTI STRANSKIH IN ODPADNIH SUROVIN AGROŽIVILSTVA V PROGRAMU P4-0116 IN PROJEKTIH S ŠTUDENTI IN PODJETJI (PKP)

Obvladovanje mikrobiološke varnosti živil na trajnostni, okolju in potrošniku prijazni način, je ena od usmeritev delovanja Katedre za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil oz. skupine za živilsko mikrobiologijo znotraj nje. Sodelovanje s tehnologi in/ali industrijo je osnova za razvoj ne le varnejših in obstojnejših, ampak tudi prehransko izboljšanih inovativnih izdelkov (Šporin in sod., 2018; Radešić, 2019; Šoronja Simović in sod., 2019; 2021; 2022; Osojnik Černivec in sod., 2021). Tak primer je kruh z dodatkom moke iz oljčnih, grozdnih ali pivovarskih tropin ali moke iz odpadnih pogač po stiskanju olj (Slika 9).



Slika 9. Zaviranje rasti plesni *Aspergillus flavus* v obremenitvenem testu na kruhu po zamenjavi 10 % deleža bele pšenične moke z moko iz različnih stranskih proizvodov živilske industrije (grozdnih tropin belega in rdečega grozdja, oljne pogače, lanene pogače, bučne pogače, pivovarskih tropin in rožiča). Najboljši učinek sta imela rožičeva moka in moka, pripravljena iz bučne pogače, kot stranskega proizvoda stiskanja bučnega olja (* pomeni, da je vrednost statistično značilno manjša ($p < 0,05$) v primerjavi s kontrolo) (Radešić, 2019).

Primer uspešnih pedagoških projektov hitrega vključevanja študentov v praktično projektno izobraževanje v podjetjih so projekti MIŠZŠ – »Po kreativni poti do znanja«. V zadnjih letih smo v dveh takih pedagoških projektih v sodelovanju s Fakulteto za kemijo in kemijsko tehnologijo ter podjetjem Mycomedica analizirali možnosti uporabe stranskih proizvodov industrijskega gojenja gliv *Ganoderma lucidum* in *Cordyceps militaris* (Kunčič in sod., 2019a,b; Marolt in sod., 2020), v prvem tovrstnem projektu v sodelovanju s podjetjem Medex in Čebelarstvo zvezo Slovenije pa možnosti podaljšanja obstojnosti izdelkov na osnovi medu in cvetnega prahu (Smole Možina in sod., 2015; Lilek in sod., 2016; Vozlič, 2016; Perko, 2017). Do deset študentov je v projektih tega tipa dobilo možnost projektnega izobraževanja neposredno v industrijski proizvodnji, sodelujoča podjetja pa možnost hitrega prenosa novo pridobljenega znanja v neposredno uporabo.



Slika 10. Študenta Dejan Vozlič in Katarina Šimunović pri pripravi cvetnega prahu izkopenca (levo) in Ajda Kunčič pri testiranu protimikrobne aktivnosti izvlečkov odpadnega gobjega micelija projekta PKP (desno) (Vir: osebni arhiv SSM in AK).

Dodatno financiranje raziskovalnega programa P4-0116 (2020-21) v času Covid pandemije je omogočilo zanimivo raziskavo naravnih protivirusnih učinkovin. Povezali smo jo z raziskavami učinkovitosti nanodelcev ZnO in pripravkov ZnO z izvlečki, ki se uporabljajo v t.i. »zeleni sintezi« bioaktivnih delcev (Šuligoj in sod., 2022, v recenziji) in s pripravo bioaktivnih embalažnih folij (BioProMedFood, 2021). Njihovo protibakterijsko učinkovitost optimiziramo z izborom načina nanosa premaza na osnovno polipropilensko ali biorazgradljivo polilaktidno folijo in kombiniranjem formulacij hitozana in bioaktivnih fenolnih izvlečkov iz stranskih proizvodov agroživilstva in izvlečkov rjavih makroalg (Smole Možina in sod., 2022; Fras Zemljič in sod., 2022, oboje v recenziji). Dodatno financiranje študija protivirusnih učinkovin je omogočilo pripravo in testiranje tudi protivirusnega delovanja funkcionalnih premazov folij v modelu z virusom $\phi 6$ bakteriofaga (Molan in sod., 2021), pri čemer so se nekatere formulacije izkazale zelo učinkovite in odpirajo možnosti funkcionalizacije embalažnih folij oz. njihovih premazov s hkratnim protibakterijskim in protivirusnim delovanjem z naravnimi biopolimeri in fenolnimi spojinami rastlinskega izvora (poročilo projekta in objava so v pripravi, prav tako nadajujemo z raziskavami).

6 ZAKLJUČEK

Slovenec, tvoja zemlja je zdrava in pridnim nje lega najprava..... Lej, stvarnica vse ti ponudi, iz rok ji prejemat ne mudi! Tako je pred več kot 200 leti zapisal slovenski pesnik Valentin Vodnik... njegove besede so aktualne še danes. Naše poslanstvo pa je, da naravne bioaktivne snovi odkrivamo, raziščemo njihovo sestavo in mehanizme delovanja z najsodobnejšimi metodami in opremo, ki je na razpolago, da jih na osnovi tega znanja lahko najbolj racionalno uporabimo v dobro ljudi – za varno, kakovostno in obstojno hrano oz. njeno trajnostno pridelavo in predelavo, ki ohranja naravo – da bodo Vodnikove besede lahko veljale še dolgo!

7 ZAHVALA

Avtorica se zahvaljuje a) financerjem raziskovalnih projektov in progama: Javni agenciji za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije (ARRS N4-0145, ARRS J4-2542, PS P4-0116). Projekt Bio-Pro-Med-Food N4-0145 je podprt s programom PRIMA (Project ID 1467). Program PRIMA financira Evropska Unija; b) vsem sodelujočim raziskovalcem in sodelavcem, ki so sodelovali v projektnih nalogah, še posebej pa vsem študentom, ki so s svojim PhD, MSc ali BSc projekti prispevali tudi k uspešnosti omenjenih raziskovalnih projektov.

8 VIRI

- Asfour H. Z. 2018. Antiquorum sensing natural compounds. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 6, 1: 1-10
- Bakshi P. S., Selvakumar D., Kadirvelu K., Kumar N. S. 2020. Chitosan as an environment friendly biomaterial—a review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* 150:1072–1083. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.113>
- Barbieri F., Tabanelli G., Montanari C., Dall'Osso N., Šimat V., Smole Možina S., Baños A., Özogul F., Bassi D., Fontana C., Gardini, F. 2021. Mediterranean spontaneously fermented sausages: spotlight on microbiological and quality features to exploit their bacterial biodiversity. *Foods* 2021, 10, 2691. <https://doi.org/10.3390/foods10112691> in v: *New Insights into Food Fermentation* (Bernini V. in De Dea Lindner J. (ur.). MDPI, 2022, str. 137-156
- Bayram B., Ozkan G., Kostka T., Capanoglu E., Esatbeyoglu T. 2021. Valorization and application of fruit and vegetable wastes and by-products for food packaging materials. *Molecules*, 26,13: 4031
- Bezek K., Kurinčič M., Knauder, E., Klančnik, A., Raspor, P., Bucar, F., Smole Možina, S. 2016. Attenuation of adhesion, biofilm formation and quorum sensing of *Campylobacter jejuni* by *Euodia ruticarpa*. *Phytotherapy Research*, 9, 1527-1532
- Bordignon S. E., de Carvalho J. C., Gelinski J. M. L. N., Lopes da Silva A. L., Soccol V. T., Soccol C. R. 2016. Natural Antimicrobial Compounds. V: Biotechnological production of natural ingredients for food industry. Lemos Bicas J., Marostica M.R., Pastore G.M. (eds.). Sharjah, Bentham Science Publishers: 406–434
- Bouarab Chibane, L. Degraeve P., Ferhout H., Bouajila J., Oulahal N. 2019. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99,4: 1457–1474
- Castillo S., Heredia N., Arechiga-Carvajal E., García S. 2014. Citrus extracts as inhibitors of quorum sensing, biofilm formation and motility of *Campylobacter jejuni*. *Food Biotechnology*, 28: 106-122
- Čagalj M., Skroza D., Frleta R., Šimat V. 2022. The effect of microwave- and ultrasound-assisted extractions on the antioxidant potential of selected seaweeds from the Adriatic sea. *Cefood 2022 Congress, Čatež ob Savi, Sept. 27-20, 2022 (sprejeto v recenzijo)*.
- Donsì, F., Ferrari, g. 2016. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology*, 233, 106-120
- EFSA (European Food Safety Authority), ECDC. 2019. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J* 17(2):5598. DOI 10.2903/j.efsa.2019.5598
- Elez-Garofulić I., Malin V., Repajić M., Zorić Z., Pedisić S., Sterniša M., Smole Možina S., Dragović-Uzelac, V. 2021. Phenolic profile, antioxidant capacity and antimicrobial activity of nettle leaves extracts obtained by advanced extraction techniques. *Molecules*. 26, 20, str. 1-17, 10.3390/molecules26206153.
- Elkhishin, M. T., Gooneratne, R., Hussain, M. A. 2017. Microbial safety of foods in the supply chain and food security, *Advances in Food Technology and Nutrition Science Open Journal*, 3, 1, 22-32
- Erega A., 2021d. Interactions between *Campylobacter jejuni* and *Bacillus subtilis*: doctoral dissertation = Interakcije bakterij *Campylobacter jejuni* in *Bacillus subtilis*: doktorska disertacija. Ljubljana: XII, 100 str.
- Erega A., Mandić-Mulec I., Smole Možina S. 2019. Medvrstne mikrobne interakcije = Interspecies microbial interactions. V: DOVČ, Peter (ur.). *Zbornik povzetkov. Prvi doktorski dan Bi(o)znanosti*, 16. maj 2019, Ljubljana. 1. izd. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, str. 9-10.
- Erega A., Mandić-Mulec I., Smole Možina S. 2021b. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Campylobacter jejuni*. V: Hostnik, M. (ur.), Kujović, A. (ur.), Mravlje, J. (ur.). *Drugi doktorski dan Bi(o)znanosti: zbornik prispevkov: [27. maj 2021, Biotehniška fakulteta (spletni dogodek)]*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta., Str. 11-18, <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=127208>
- Erega A., Smole Možina S., Mandić-Mulec I., 2021c. Potencial bakterije *Bacillus subtilis* za obvladovanje filmotvornosti bakterije *Campylobacter jejuni* = The potential of *B. subtilis* for *C. jejuni* biofilm control. V: Stopar, D. (ur.). *Mikrobiološke ideje na prepihu: zbornik prispevkov*. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2021. Str. 49-61

- Erega A., Štefanič P., Danevčič T., Smole Možina S., Mandić-Mulec I. 2022. Impact of *Bacillus subtilis* antibiotic bacilysin and *Campylobacter jejuni* efflux pumps on pathogen's survival in mixed biofilm. (V recenziji v reviji *Applied and Environmental Microbiology*).
- Erega A., Štefanič P., Dogša, I., Danevčič T., Šimunović K., Klančnik A., Smole Možina S., Mandić-Mulec I., 2021a. Bacillaene mediates the inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Campylobacter jejuni* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 87, 12, 1-14. DOI: 10.1128/AEM.02955-20.
- Fabra M. J., Falcó I., Randazzo, W. 2018. Antiviral and antioxidant properties of active alginate edible films containing phenolic extracts. *Food Hydrocolloids*, 81, 96-103
- Flórez M., Guerra-Rodríguez E., Cazón P., Vázquez M. 2022. Chitosan for food packaging: Recent advances in active and intelligent films. *Food Hydrocolloids*, 124, doi: 10.1016/J.FOODHYD.2021.107328
- Fras Zemljič L., Kraševac Glaser T., Plohl O., Šimat V., Čagalj M., Eva Mežnar, Malin V., Smole Možina S. 2022. Chitosan formulations enriched with encapsulated phyto/phycochemicals as active coating for polylactic packaging foil. CEFood 2022 Congress, Čatež ob Savi, Sept. 27-30, 2022 (sprejeto v recenzijo).
- Gradišar Centa U., Sterniša M., Višić B., Federl Ž., Smole Možina S., Remškar, M. 2021. Novel nanostructured and antimicrobial PVDF-HFP/PVP/MoO₃ composite. *Surface innovations*, 9, 5, 256-266
- Han J.-W., Ruiz-Garcia I., Qian J.-P., Yang, X.-T. 2018. Food packaging: A comprehensive review and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17, 4, 860-877
- Hao R., Shah B. R., Sterniša M., Smole Možina S., Mraz, J. 2022. Development of essential oil-emulsion based coating and its preservative effects on common carp. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*, 154, 1-13, DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112582
- Horvat N. 2021. Zveza med protimikrobno in antioksidativno aktivnostjo ter vsebnostjo fenolnih spojin v različnih vrstah medu slovenskega porekla: diplomsko delo = Correlation between antimicrobial and antioxidant activity and the content of phenolic compounds in different types of honey of Slovenian origin: B. Sc. thesis. Ljubljana: 2021. VI, 27 str. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomsko delo univerzitetnega študija - 1. stopnja Živilstvo in prehrana, 596
- Ju J., Chen X., Xie Y., Yu H., Guo Y., Cheng Y., Qian H., Yao W. 2019. Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 92, 1800: 22–32
- Klančnik A., Sterniša M., Demšar L., Smole Možina S. 2019. Konvencionalni in alternativni načini konzerviranja hrane = Conventional and alternative ways of food preservation. V: *Živilstvo in prehrana med tradicijo in inovacijo: 19. junij 2019, Ljubljana. 30. Bitenčevi živilski dnevi 2019, 1. elektronska izd. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2019. Str. 40-58.*
- Klančnik A., Šimunović K., Sterniša M., Ramić D., Smole Možina S., Bucar F. 2021. Anti-adhesion activity of phytochemicals to prevent *Campylobacter jejuni* biofilm formation on abiotic surfaces. *Phytochemistry reviews*, 20, 55-84, ilustr. ISSN 1568-7767. DOI: 10.1007/s11101-020-09669-6.
- Kozmus P., Kandolf Borovšak A., Lilek N., Bertonec J., Korošec M., Klemenčič Štrukelj N., Noč B., Justinek J., Bozovičar A., Lončar M., Zlatič E., Abramovič H., Smole Možina S., Šimunović K., Glinšek A., Gračner B., Dimec D., Landekar V., Schubert M. 2018. Letno poročilo aplikativne raziskave karakterizacija čebeljih pridelkov ter vpliv postopkov obdelave in shranjevanja cvetnega prahu na njegovo kemijsko in mikrobiološko sestavo za l. 2018. Čebelarska zveza Slovenije; Ljubljana: Biotehniška fakulteta, 2018. 83 str.
- Kunčič A., Rozman U., Smole Možina S., Gregori A., Kalčíková G., Žgajnar Gotvajn A., Marolt, G. 2019a. Perspektivne možnosti nadaljnje uporabe odpadnega podgobja po gojenju gliv = Perspective possibilities for further use of waste mycelium after mushroom cultivation. V: Ozimek B.(ur.), et al. *Trendi in izzivi v živilstvu, prehrani, gostinstvu, turizmu, izobraževanju in usposabljanju: zbornik prispevkov 5. mednarodne strokovne konference, 23.-24. oktober 2019, Ljubljana, Slovenija Ljubljana: Biotehniški izobraževalni center 2019. Str. 171-180*
- Kunčič A., Gavrić D., Klaus A., Jamnik P., Smole Možina S., Gregori A., Marolt, G. 2019b. Bioaktivne lastnosti izvlečkov odpadnega podgobja v primerjavi s trosnjaki glive *G. lucidum* = Bioactive properties of waste *G. lucidum* mycelium extract compared to extract from fruiting bodies. V: *Živilstvo in prehrana med tradicijo in inovacijo, 19. junij 2019, Ljubljana. 30. Bitenčevi živilski dnevi, Ljubljana. 1. elektronska izd. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2019. Str. 297-302*

- Kunčič A. 2021. The potential of *Sedum roseum* (roseroot) root ethanolic extract and its fractions as an antibacterial agent: M. Sc. thesis = Protimikrobna učinkovitost etanolnega izvlečka in njegovih frakcij iz korenin rožnega korena (*Sedum roseum*): magistrsko delo. Ljubljana, 2021. XII, 75 str.
- Kunčič A., Kokalj M., Horvat N., Kranjc T., Bele A., Samec T., Lilek N., Kandolf Borovšak A., Smole Možina S. 2022. Antimicrobial activity of Slovenian honeys in relation to the content of phenolic compounds and antioxidative activity. CEFood 2022 Congress, Čatež ob Savi, Sept. 27-20, 2022 (sprejeto v recenzijo).
- Lilek N., Šimunović K., Smole Možina S. 2016. Mikroorganizmi v cvetnem prahu. Slovenski čebelar: glasilo čebelarskih organizacij Slovenije. mar. 2016, letn. 118, 3, 96-97
- Lilek N., Šimunović K., Smole Možina S., Abramovič H., Kandolf Borovšak A., Bertonec J. 2018. Karakterizacija slovenskega cvetnega prahu osmukanca. v: Raspor, Peter (ur.). [Hrana, prehrana, zdravje]: naša dela so naša prihodnost: [večavtorska monografija]. Ljubljana: mednarodni inštitut ECPD za trajnostni razvoj, prostorsko načrtovanje in okoljske študije, 2018. str. 307-312
- Malin V., Elez-Garofulić I., Repajić M., Zorić Z., Pedisić S., Sterniša M., Smole Možina S., Dragović-Uzelac, V. 2022. Phenolic characterization and bioactivity of fennel seed (*Foeniculum vulgare* Mill.) extracts isolated by microwave-assisted and conventional extraction. Processes, 10, 3, str. 1-16, DOI: 10.3390/pr10030510
- Mandić-Mulec I., Šimunović K., Štefanič P., Erega A., Smole Možina S., Klančnik A., Zhang Q., Sahin O., 2021. *Bacillus subtilis* strain with strong inhibition of enteropathogenic and foodborne pathogenic bacteria appl. no.: 63117215, EFS ID: 41197988, confirmation number: 4289. [S. I.]: U. S. Patent and Trademark Office, 2020. 85 str. 8.
- Marolt, G., Gregori A., Kalčíková G., Smole Možina S., Kravos A., Krušič J., Prijović J., Završnik P., Pleško T., Urbanc, T., Kunčič A., Petrovič, N. 2020. Razvoj in uporaba ekstraktov glive *Cordyceps militaris*: končno poročilo o doseženih ciljih : javni razpis Projektno delo z gospodarstvom in negospodarstvom v lokalnem in regionalnem okolju - Po kreativni poti do znanja 2017-2020. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2020. 12 str.
- Molan, K., Rahmani, R., Krklec, D. Brojan, M., Stopar, D. 2022. Phi 6 Bacteriophage inactivation by metal salts, metal powders, and metal surfaces. Viruses 2022, 14, 204. <https://doi.org/10.3390/v14020204>
- NIJZ. 2017. Epidemiološko spremljanje nalezljivih boleznih v Sloveniji v letu 2016. Ljubljana, NIJZ: 153 str.
- Osojnik Črnivec I. G., Skrt M., Šeremet D., Sterniša M., Farčnik D., Štrumbelj E., Poljanšek A., Cebin N., Pogačnik L., Smole Možina S., Humar M., Komes D., Poklar Ulrih N. 2021. Waste streams in onion production: bioactive compounds, quercetin and use of antimicrobial and antioxidative properties. Waste management, 126, 476-486, DOI: 10.1016/j.wasman.2021.03.033.
- Paidari S., Zamindar N., Tahergorabi R. Kargar M., Ezzati S., Shirani N., Musavi S. H. 2021. Edible coating and films as promising packaging: a mini review. Journal of Food Measurement and Characterization. 15, 4205-4214
- Pawlowska A., Stepczynska M. 2022. Natural biocidal compounds of plant origin as biodegradable materials modifiers. Journal of Polymers and the Environment, 30:1683-1708. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10924-021-02315-y>
- Perko M. 2017. Podaljšanje obstojnosti cvetnega prahu osmukanca: diplomski seminar. Ljubljana: 2017. VI, 27 str., Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomski seminar univerzitetnega študija - 1. stopnja Živilstvo in prehrana, 357
- Pisoschi A. M., Pop A., Georgescu C., Turcuş V., Olah N. K., Mathe E. 2018. An overview of natural antimicrobials role in food. European Journal of Medicinal Chemistry, 143: 922-935
- Podržaj L. 2019. Mikrobiološka obstojnost in protimikrobna aktivnost cvetnega prahu osmukanca pri različnih načinih shranjevanja: magistrsko delo = Microbiological stability and antimicrobial activity of bee pollen stored in different conditions: M. Sc. Thesis. Ljubljana: 2019. XIII, 76 f., Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Magistrsko delo magistrskega študija - 2. stopnja Živilstvo, 97
- Potrč S., Fras Zemljič L., Sterniša M., Smole Možina S., Plohl O. 2020. Development of biodegradable whey-based laminate functionalised by chitosan-natural extract formulations. International Journal of Molecular Sciences, 21, 10, 1-19
- Potrč S., Poklar Ulrih N., Sterniša M., Smole Možina S., Pivac M., Fras Zemljič L. 2019. Razvoj aktivne embalaže z uporabo biopolimernih premazov = Development of active packaging using biopolymers coatings. V:

- Živilstvo in prehrana med tradicijo in inovacijo, 19. junij 2019, Ljubljana. 1. elektronska izd. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, str. 101-112
- Potrč S., Sterniša M., Smole Možina S., Hrnčič K. M., Fras Zemljič L. 2020. Bioactive characterisation of packaging foils coated by chitosan and polyphenols' colloidal formulations. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 2610
- Prakash B., Kujur A., Singh P.P., Kumar A., Yadav A. 2017. Plants-derived bioactive compounds as functional food ingredients and food preservative. *Journal of Nutrition and Food Science* 1: 004.
- Prakash, A., Baskaran, R., Paramasivam, N., et al. 2018. Essential oil based nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and vegetables: A review. *Food Research International*, 111, 509-523
- Project MidTerm Report 2021. Bio-protective cultures and bioactive extracts as sustainable combined strategies to improve the shelflife of perishable Mediterranean food (BioProMedFood). Periodic report 1, March 2, 2020 - August 31, 2021, Section 2. Call: Multi-topic 2019 Topic 2.3.1 Extending shelf-life of perishable Mediterranean food products by sustainable technologies and logistics and by optimized pest and microbial control, 24.str.
- Radešić M. 2019. Vpliv obogatitve pšenične moke z izbranimi dodatki na kinetiko plesnenja kruha: diplomsko delo = The effect of wheat flour enrichment with different supplements on the kinetics of mold growth on bread: B. Sc. thesis. Ljubljana: [M. Radešić]. VIII, 25 f., ilustr. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomsko delo univerzitetnega študija - 1. stopnja Živilstvo in prehrana, 473.
- Ramić D., Smole Možina S. 2019. Potencial rastlinskih pripravkov proti bakteriji *Campylobacter jejuni* = Potential of plant materials against bacteria *Campylobacter jejuni*. V: Dovč, P. (ur.). Zbornik povzetkov. Prvi doktorski dan Bi(o)znanosti, 16. maj 2019, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, str. 13-14.
- Ramić D., Bucar, F., Kunej, U., Dogša, I., Klančnik, A., Smole Možina S., 2021a. Antibiofilm potential of *Lavandula* preparations against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 87, 19, 1-18, DOI: 10.1128/AEM.01099-21
- Ramić D., Dogša, I., Smole Možina S. 2021b. Obvladovanje filmotvornosti bakterij *Campylobacter jejuni* s pripravki sivke V: Hostnik, M. (ur.), Kujović, A. (ur.), Mravlje, J. (ur.). Drugi doktorski dan Bi(o)znanosti: zbornik prispevkov: [27. maj 2021, Biotehniška fakulteta (spletni dogodek)]. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, 2021. Str. 44-51, <https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=127208>.
- Ramić D., Dogša, I., Smole Možina S. 2021c. Obvladovanje biofilma bakterij *Campylobacter jejuni* z zaviranjem medcelične komunikacije = Control of *Campylobacter jejuni* biofilm by inhibition cell to cell communication. V: Stopar, David (ur.). Mikrobiološke ideje na prepihu: zbornik prispevkov. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2021. Str. 63-74
- Ramić D., Čagalj M., Malin V., Sterniša M., Skroza D., Šimat V., Smole Možina S. 2022a. Phenolic extracts of Mediterranean agro-food industrial by-products for inhibition of quorum sensing and biofilm of *Campylobacter*. *Trends in Natural Products Research: A PSE Young Scientists' Meeting May 23–26, 2022*, Kolymbari, Crete, Greece, p. 255
- Ramić D., Klančnik A., Smole Možina S., Dogša, I. 2022b. Elucidation of the AI-2 communication system in the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* by whole-cell-based biosensor quantification. *Biosensors and Bioelectronics*, 212, 114439, DOI: 10.1016/j.bios.2022.114439.
- Ravbar M., Kunčič A., Matoh L., Smole Možina S., Šuligoj A. 2022. Green synthesis of ZnO nanoparticles using Japanese knotweed extract and its photocatalytic and antimicrobial properties. (v recenziji v reviji *Journal of Environmental Chemical Engineering*).
- Ricci A., Allende A., Bolton D., Chemaly M., Davies R., Escámez P. S.F., Girones R., Koutsoumanis K., Lindqvist R., Nørrung B., Robertson L., Ru G., Sanaa M., Simmo- Herman L. 2018. Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 8: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2018. *EFSA Journal*, 16, 7: e05315, doi: 10.2903/j.efsa.2018.5315: 42 p.
- Salgado P.R., Di Giorgio L., Musso Y.S., Mauri A. N. 2021. Recent developments in smart food packaging focused on biobased and biodegradable polymers. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 5:630393.

- Smole Možina S., Kurinčič M., Klančnik A., Mavri A. 2011. *Campylobacter* and its multi-resistance in the food chain. *Trends in Food Science & Technology*, 22: 91-98
- Smole Možina S., Perko M., Vozlič D., Schara K., Šimunović K., Podgoršek M., Tumpej T., Čremožnik N., Pukmajster J., Svetelj G. 2015. Identifikacija in obvladovanje tveganja mikrobiološke kontaminacije proizvodnega okolja: končno poročilo o izvedenih projektnih aktivnostih: projekt Po kreativni poti do praktičnega znanja, Javni sklad Republike Slovenije za razvoj kadrov in štipendije, za obdobje od 1. 2. 2015 do 31. 7. 2015. Ljubljana: Biotehniška fakulteta Univerze v Ljubljani, 2015
- Smole Možina S., Klančnik A., Kovač, J., Jeršek B., Bucar, F. 2018a. Antimicrobial natural products against *Campylobacter*. V: Merillon, J. M. (ur.), Riviere, C. (ur.). *Natural antimicrobial agents*. Cham: Springer, 2018. Str. 3-30. *Sustainable development and biodiversity*, Vol. 19. ISBN 978-3-319-67043-0.
- Smole Možina S. 2018b. Sveže, obstojno, varno in varovalno živilo - izziv za živilskega tehnologa. V: Raspor, P. (ur.). [Hrana, prehrana, zdravje]: naša dela so naša prihodnost: Ljubljana: Mednarodni inštitut ECPD za trajnostni razvoj, prostorsko načrtovanje in okoljske študije, 2018. str. 21-32.
- Smole Možina, S. 2021. Mikrobiološki kvar hrane in priprava varnih živil. V: Kobal, T. (ur.), Gumzej, Š. (ur.). *Vsestranska uporabnost mikroorganizmov: Poletna šola Biotehniške fakultete*, 27.-30. september 2021: zbornik. Elektr. izd. Ljubljana: Biotehniška fakulteta: Študentski svet Biotehniške fakultete, 2021. str. 26-27
- Smole Možina S., Malin V., Mežnar E., Kaloper S., Sterniša M., Skroza D., Čagalj M., Šimat V., Fras Zemljič L. 2022a. Plant polyphenol formulations for bioactive chitosan-based coatings of food packaging foils. *Food Micro Congress Athens*, Sept. 2022 (poslano v recenzijo).
- Smole Možina S., Šimunović K., Erega A., Ramič D., Kunčič, A., Bucar F., Zhang Q., Mandić Mulec I., Klančnik, A. 2022b. Biocontrol of *Campylobacter jejuni* - cell-to-cell signalling inhibition and inter-species interaction as options. *FEMS 2022 Cogress*, Belgrade, June30-July 2 2022 (Sprejeto vabljen predavanje).
- Smole Možina S., Klančnik A. 2022. V: Zbornik Biotehniške fakultete ob njeni 75-letnici (Sepčič K., Brus R., Kunej T., Matjašec D. (ur.) (v tisku).
- Šimunović K., Abramovič H., Lilek N., Angelova M., Podržaj L., Smole Možina, S. 2019. Microbiological quality, antioxidative and antimicrobial properties of Slovenian bee pollen. *Agrofor*, 4, 1, 82-92, ilustr. ISSN 2490-3434. DOI: 10.7251/AGRENG1901082S.
- Šimunović K. 2020a. Medcelične interakcije bakterije *Campylobacter jejuni*: doktorska disertacija = Intercellular interactions of *Campylobacter jejuni*: doctoral dissertation. Ljubljana, 2020, XIII, 86 str.
- Šimunović K., Sahin O., Kovač J., Shen Z., Klančnik A., Zhang Q., Smole Možina S. 2020b. (-)-[alpha]-Pinene reduces quorum sensing and *Campylobacter jejuni* colonization in broiler chickens. *PloS one*. 2020, vol. 15, iss. 4, str. 1-16, e0230423. DOI: 10.1371/journal.pone.0230423.
- Šimunović K., Ramič D., Xu, C., Smole Možina S. 2020c. Modulation of *Campylobacter jejuni* motility, adhesion to polystyrene surfaces, and invasion of INT407 cells by quorum-sensing inhibition. *Microorganisms*, 8, 1, 1-14, <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010104>
- Šimunović K., Smole Možina S., Mandić-Mulec I. 2022a. Kin discrimination between *Campylobacter jejuni* isolates (V recenziji v reviji *mSpectrum*).
- Šimunović K., Štefanič P., Klančnik A., Erega A., Mandić-Mulec I., Smole Možina S. 2022b. *Bacillus subtilis* PS-216 antagonistic activities against *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 are modulated by temperature, oxygen, and growth medium. *Microorganisms*, 10, 2, 1-14
- Šimunović K., Sahin O., Erega A., Štefanič P., Zhang Q., Mandić-Mulec I., Smole Možina S., Klančnik A. 2022c. *Bacillus subtilis* PS-216 spores supplemented in broiler chicken drinking water reduce *Campylobacter jejuni* colonization and increases weight gain (V recenziji v reviji *Frontiers in Microbiology*).
- Šoronja Simović D., Šereš Z., Maravić N. R., Smole Možina S., Zahorec J., Pajin B. 2019. Iskoriščenje sporednih proizvoda industrije šečera u izradi prehrambenih proizvoda u trendu = Sugar industry by-products for transferring traditional foods into trendy ones. V: *Živilstvo in prehrana med tradicijo in inovacijo = Food science, technology and nutrition between tradition and innovation* : 30. Bitenčevi živilski dnevi 2019 = 30th Food Technology Days 2019 dedicated to Prof. F. Bitenc: 19. junij 2019, Ljubljana. 30. Bitenčevi živilski dnevi 2019 Ljubljana. 1. elektronska izd. Ljubljana: Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2019. Str. 183-193.

- Šoronja Simović D., Zahorec J., Šereš Z., Griz A., Sterniša M., Smole Možina S. 2022. The food industry by-products in bread making: single and combined effect of carob pod flour, sugar beet fibers and molasses on dough rheology, quality and food safety. *Journal of Food Science and Technology*. Apr. 2022, vol. 59, no. 4, str. 1429–1439, ilustr. ISSN 0022-1155. DOI: 10.1007/s13197-021-05152-y.
- Šoronja Simović D., Zahorec J., Šereš Z., Maravić N. R., Smole Možina S., Luskar L., Luković J. 2021. Challenges in determination of rheological properties of wheat dough supplemented with industrial by-products carob pod flour and sugar beet fibers. *Journal of food measurement and characterization*. 2021, vol. 15, str. 914–922, ilustr. ISSN 2193-4126. DOI: 10.1007/s11694-020-00686-9.
- Šporin M., Avbelj M., Kovač B., Smole Možina S. 2018. Quality characteristics of wheat flour dough and bread containing grape pomace flour. *Food science and technology international*. 2018, 24, 3, 251-263 DOI: 10.1177/1082013217745398.
- Suštar M., Horvat N., Kranjc T., Samec T., Lilek N., Kandolf Borovšak A., Smole Možina S. 2020. Protimikrobna aktivnost slovenskega medu različnega porekla. V: Jamnikar Ciglencečki U.(ur.), Kušar D. (ur.). 8. kongres Slovenskega mikrobiološkega društva: knjiga povzetkov: 23.-25. 9. 2020: kongres SMD, 23.-25. 9. 2020: virtualni kongres. Ljubljana: Slovensko mikrobiološko društvo, 2020. str. 94.
- Truchado P., Larrosa M., Castro-Ibáñez I., Allende A. 2015. Plant food extracts and phytochemicals: Their role as quorum sensing inhibitors. *Trends in Food Science and Technology*, 43: 189-204
- Tyagi P., Salem K. S., Hubbe M. A., Pal L. 2021. Advances in barrier coatings and film technologies for achieving sustainable packaging of food products – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 115, 461–485, doi: 10.1016/J.TIFS.2021.06.036
- Vidrih R., Bohinc K., Jeršek B., Zlatič E., Mahnič N., Jamnik, P., Štrukelj, R., Trebše, P., Bavcon Kralj, M., Malin, V., Sterniša, M., Fras Zemljič, L., Šimat, V., Smole Možina S. 2021. Modulacija polifenolnega profila v sadju s trajnostnimi fizikalnimi poobiralnimi postopki in ohranjanje kakovosti z bioaktivnimi premazi. V: Raspor, P. (ur.). Boljša proizvodnja, boljša prehrana, boljše okolje in boljše življenje: Konferenca Hrana, prehrana, zdravje Ljubljana: Evropska mreža deklaracije za hrano, tehnologijo, prehrano za zdravje, 2021. str. 323-330
- Vozlič D. 2016. Fermentacija cvetnega prahu: diplomski seminar. Ljubljana: V, 23 str. Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana, Diplomski seminar univerzitetnega študija - 1. st. Živilstvo in prehrana, 292.
- Wang J., Euring M., Ostendorf K., Zhang K. 2022. Biobased materials for food packaging. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 7, 1: 1–13, doi:10.1016/J.JOBAB.2021.11.004

KETONSKA TELESA V FIZIOLOŠKIH IN PATOFIZIOLOŠKIH RAZMERAH

Sergej PIRKMAJER¹

Povzetek: Diete z (zelo) nizko vsebnostjo ogljikovih hidratov, še zlasti ketogena dieta, že dolgo časa vzbujajo veliko zanimanja, ker se jim pripisujejo različni bolj ali manj dokazani zdravilni učinki. Ketogena dieta oziroma njene različice so na primer popularne tako za obvladovanje sladkorne bolezni kot za zmanjševanje telesne mase, ker naj bi bile pri tem učinkovitejše od drugih diet oziroma ker naj bi imele še posebej ugodne presnovne učinke, ki jih druge diete nimajo. Kljub njeni popularnosti je dolgoročna učinkovitost ketogene diete vprašljiva; študije namreč večkrat pokažejo koristne kratkoročne presnovne učinke, ki sčasoma izzvenijo. Poleg tega žal tudi v primerih, ko je ketogena dieta dokazano koristna, kot na primer pri določenih oblikah epilepsije, mehanizmi, prek katerih doseže takšne učinke, niso jasno opredeljeni. Ketogena dieta v telesu spodbudi sintezo ketonskih teles in druge presnovne procese, ki so podobni tistim pri dolgotrajnem stradanju. Ketogeneza, ki je pri stradanju fiziološka in z vidika preživetja tudi pomembna presnovna prilagoditev, se lahko v določenih okoliščinah, kot na primer v nosečnosti, zaplete z razvojem ketoacidoze. Ketoacidoza lahko nastane tudi zaradi uživanja velikih količin alkohola (alkoholna ketoacidoza) in pri akutnem poslabšanju sladkorne bolezni (diabetična ketoacidoza). Tem, že dolgo poznanim primerom ketoacidoze se je v zadnjem času pridružila še evglikemična diabetična ketoacidoza, ki nastane zaradi zdravljenja sladkorne bolezni z zaviralci prenašalca SGLT2.

Ključne besede: ketonska telesa, ketogeneza, evglikemična ketoacidoza, diabetična ketoacidoza, alkoholna ketoacidoza

KETONE BODIES IN PHYSIOLOGICAL AND PATHOPHYSIOLOGICAL CONDITIONS

Abstract: Diets with (very) low carbohydrate content, especially ketogenic diet, have been in the focus of interest for a long time, not least due to their supposed health-promoting or even curative effects. Ketogenic diet and its variants have been popular for the management of diabetes mellitus as well as for inducing weight loss because they are supposed to be more effective than other diets and/or because they are thought to have specific beneficial metabolic effects that cannot be achieved with other diets. Despite its popularity, the long-term efficacy of ketogenic diet in management of metabolic disorders is questionable; while many studies show short-term metabolic benefits of ketogenic diet compared with other diets, these benefits do not seem to persist over a longer period. Furthermore, even in cases, where ketogenic diet is beneficial, such as some forms of epilepsy, the mechanisms by which it leads to clinical improvement are incompletely defined. Ketogenic diet stimulates production of ketone bodies and other metabolic adaptations which mimic those in the long-term starvation. Ketogenesis, which is not only physiological, but also prolongs survival in starvation, may, under certain conditions, lead to severe pathology, such as starvation-induced euglycaemic ketogenesis in pregnancy. Ketoacidosis may also occur due to excessive consumption of alcohol (alcoholic ketoacidosis) or in the context of acute exacerbation of diabetes mellitus (diabetic ketoacidosis). Euglycaemic diabetic ketoacidosis is another, more recently described form of ketoacidosis, which may occur in those treated with SGLT2 inhibitors.

Key words: ketone bodies, ketogenesis, euglycaemic ketoacidosis, diabetic ketoacidosis, alcoholic ketoacidosis

¹ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, Ljubljana, e-mail: sergej.pirkmajer@mf.uni-lj.si

1 UVOD

Diete z nizko vsebnostjo ogljikovih hidratov, še zlasti ketogena dieta, ki vodi v porast koncentracije ketonskih teles v krvi, že dolgo časa vzbujajo veliko zanimanja, predvsem ker se jim pripisujejo različni posebni zdravilni učinki. Ketogeno dieto so na primer uporabljali za zdravljenje sladkorne bolezni pred odkritjem inzulina leta 1921. Takšna dieta oziroma njene različice ostajajo popularne tako za obvladovanje sladkorne bolezni kot za zmanjševanje telesne mase, ker naj bi bile pri tem učinkovitejše od drugih diet oziroma ker naj bi imele ugodne presnovne učinke, ki jih druge diete nimajo. Pri tem je dolgoročna učinkovitost ketogene diete vprašljiva; študije namreč večkrat pokažejo koristne kratkoročne učinke, ki pa sčasoma izzvenijo. Medtem ko je ketogena dieta kljub napredku farmakoterapije v posameznih primerih, kot so na primer nekatere oblike epilepsije pri otrocih, v medicini še danes koristna, njena vsestranska uporabnost za preprečevanje ali celo zdravljenje bolezni ni dokazana. Poleg tega žal tudi v primerih, ko je ketogena dieta dokazano koristna, kot na primer pri določenih oblikah epilepsije, mehanizmi, prek katerih doseže takšne učinke, niso jasno opredeljeni.

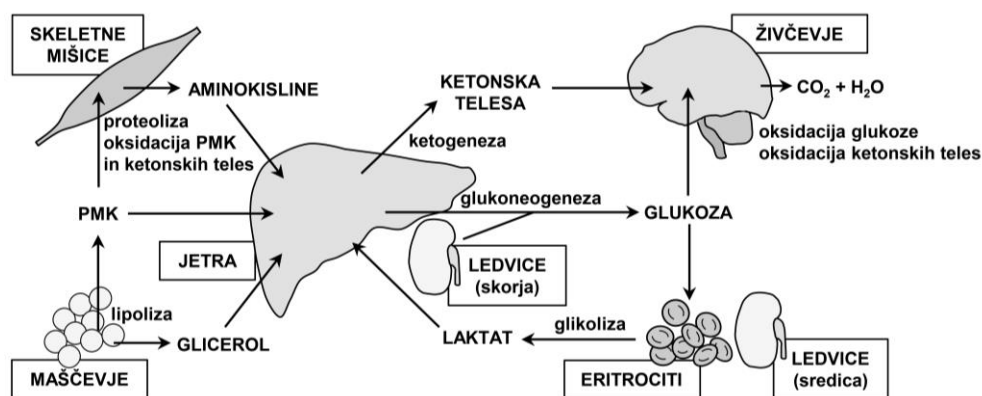
Zagovorniki prehranjevanja z majhnimi količinami ogljikovih hidratov večkrat izpostavljajo, da je takšen način prehranjevanja za človeka bolj zdrav, saj naj bi bil bolj naraven, ker je domnevno podoben prehrani, ki so jo imeli naši predniki v starejši kameni dobi. Obremenjenost današnjega človeka s kroničnimi nenalezljivimi boleznimi naj bi tako izvirala iz spremembe prehranjevanja, ki ga je prineslo poljedelstvo v mlajši kameni dobi. Ena izmed osrednjih zdravstvenih težav naj bi bila prehrana, ki vsebuje preveč ogljikovih hidratov. Ob tem velja poudariti, da velik vnos ogljikovih hidratov sam po sebi ni nujno škodljiv; v različnih delih sveta so namreč opisali populacije (npr. ljudstvo Tsimane in prebivalce Kitave ter Okinave), ki večinski delež energije tradicionalno zaužijejo v obliki ogljikovih hidratov (~60–85 %), pa vendar imajo v starosti manj težav s kroničnimi nenalezljivimi boleznimi kot povprečen zahodnjak. Ketogena dieta torej zanesljivo ni “edina prava” ali celo nekakšna panacea za odpravljanje zdravstvenih težav sodobnega človeka.

Ketogena dieta temelji na zelo nizkem vnosu ogljikovih hidratov, kar v praksi pomeni manj kot ~20–50 g/dan oziroma manj kot 10 % celokupnega dnevnega vnosa energije. Tako nizek vnos ogljikovih hidratov spodbudi sintezo ketonskih teles in druge presnovne procese, ki so podobni tistim pri dolgotrajnem stradanju. V prispevku so zato najprej opisane presnovne prilagoditve na preprosto stradanje. Ketogeneza zaradi stradanja, ki je načeloma fiziološka, se lahko v določenih okoliščinah, kot na primer v nosečnosti, zaplete z razvojem evglikemične ketoacidoze. Ketoacidoza lahko nastane tudi zaradi uživanja velikih količin alkohola (alkoholna ketoacidoza) in pri akutnem poslabšanju sladkorne bolezni (diabetična ketoacidoza). Tem, že dolgo poznanim primerom ketoacidoze se je v zadnjem času pridružila še evglikemična diabetična ketoacidoza, ki nastane zaradi zdravljenja z zaviralci prenašalca SGLT2, kar je zajeto v zaključnem delu prispevka.

2 FIZIOLOŠKI POMEN KETONSKIH TELES PRI STRADANJU

V normalnih razmerah živčevje za pridobivanje energije uporablja predvsem plazemsko glukozo, ki jo oksidira do ogljikovega dioksida in vode ($\text{glukoza} + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$). Drugi viri energije so v takšnih razmerah zaradi nizke koncentracije v plazmi (npr. laktat, ketonska telesa) ali omejene zmožnosti prehajanja krvno-možganske pregrade (npr. proste maščobne kisline) kvantitativno manj pomembni in ne morejo nadomestiti glukoze. Tudi zaloge glikogena v živčevju niso dovolj velike, da bi lahko nadomestile izpad glukoze, zato je za nemoteno delovanje možganov potreben konstanten dotok glukoze s krvjo. Pomembno je tudi, da je glukosa v krvi prisotna v ustrezni koncentraciji. Transport glukoze iz krvi v celice živčevja namreč poteka z olajšano difuzijo (prek prenašalcev GLUT1 in GLUT3), kar pomeni, da je odvisen od koncentracijskega gradienta med krvjo in znotrajcelično tekočino. Kadar se koncentracija glukoze v krvi spusti prenizko ($< 3 \text{ mmol/L}$), živčevje ne dobi dovolj glukoze, kar se pokaže z motnjami v njegovem delovanju, ki se lahko stopnjujejo od blagih kognitivnih motenj vse do kome in krčev.

Med stradanjem predstavlja odvisnost živčevja od glukoze poseben presnovni izziv. V telesu sta namreč le dva procesa, ki prispevata glukozo v kri: glikogenoliza v jetrih ter glukoneogeneza v jetrih in ledvicah (slika 1). Jetrni glikogen je pomemben, ker je neposreden vir glukoze, vendar ga je v primerjavi s potrebami (samo živčevje dnevno porabi $\sim 100\text{--}140 \text{ g}$ glukoze) malo ($\sim 70\text{--}200 \text{ g}$) in ga zmanjka v $\sim 12\text{--}24$ urah po zadnjem obroku (to je odvisno od stanja prehranjenosti). Glukoneogeneza je zato edini proces, ki pri stradanju omogoča dotok glukoze v kri. Kot vir glukoze je glikogen pomemben v t.i. postabsorptivnem obdobju, ki se konča približno 12 ur po zadnjem obroku. Ko glikogena v jetrih postopno zmanjkuje, je glukoneogeneza, ki sicer glukozo v kri prispeva že v postabsorptivnem obdobju, vedno večji in na koncu edini vir glukoze v telesu, s čimer postabsorptivno obdobje preide v t.i. obdobje kratkotrajnega stradanja, ki traja približno teden dni po zadnjem obroku.



Slika 1. Presnovni procesi med stradanjem.

Obligatorni porabniki glukoze so živčevje, ki glukozo oksidira do ogljikovega dioksida in vode, ter glikolitična tkiva, kot so eritrociti, sredica ledvic in bela mišična vlakna (na sliki niso posebej prikazana), ki glukozo presnavljajo do laktata. Ledvice so mesto nastanka (glukoneogeneza v skorji) in porabe (glikoliza v sredici) glukoze. Proste maščobne kisline in ketonska telesa se oksidirajo tudi v drugih tkivih, kar zaradi preglednosti oziroma poenostavitve na sliki ni

prikazano. PMK – proste maščobne kisline.

Substrati za glukoneogenezo so laktat, glicerol in aminokisline, kot je na primer alanin. Proste maščobne kisline s sodim številom ogljikovih atomov (pri človeku je to velika večina maščobnih kislin) se v β -oksidaciji presnovijo do acetil-CoA, iz katerega ni mogoče sintetizirati glukoze. Trigliceridi so kot vir substratov za glukoneogenezo torej omejenega pomena: v glukoneogenezo lahko vstopa predvsem glicerol, ki se sprosti iz trigliceridov med lipolizo. Kljub temu so za glukoneogenezo pomembni posredno; za sintezo glukoze *de novo* je namreč potreben ATP, ki v jetrih nastane pri oksidaciji maščobnih kislin. Ključni izziv stradanja je torej v tem, da maščoba, ki je največja zaloga energije v telesu (12–15 kg oziroma 110.000–141.000 kcal), ni neposredno uporabna kot vir substratov za možgane in le delno uporabna kot vir substratov za glukoneogenezo (glicerol).

Tudi drugi substrati za glukoneogenezo imajo svoje pomanjkljivosti. Laktat, ki nastaja v glikolitičnih celicah oziroma tkivih, kot so eritrociti in sredica ledvic, namreč nastane iz glukoze. To pomeni, da sinteza glukoze iz laktata predstavlja predvsem način obnavljanja oziroma recikliranja glukoze, ki se delno presnovi do laktata (cikel Corijeveh¹), in ne nastajanje nove glukoze *sensu stricto*. Ker živčevje glukozo oksidira do ogljikovega dioksida in vode, iz katerih ponovna sinteza glukoze seveda ni mogoča in je torej v tem primeru dokončno izgubljena, je med stradanjem glukozo potrebno ves čas tvoriti *de novo* tudi iz drugih substratov in sicer iz glicerola in glukogenih aminokislin, kot je alanin. Med stradanjem so vir aminokislin za glukoneogenezo endogeni proteini. Teh je v telesu sicer veliko (~10–12 kg oziroma ~40.000–48.000 kcal) in torej teoretično predstavljajo bogat vir substratov za glukoneogenezo. Čeprav s pretvorbo glukogenih aminokislin v glukozo telo omogoči preskrbo živčevja, je takšna presnovna ureditev z vidika dolgoročnega preživetja problematična. Medtem ko so trigliceridi in glikogen predvsem zaloga energije, ki jo celice lahko porabijo brez pomembnih funkcijskih posledic, pravih zalog proteinov ali aminokislin telo nima. Razgradnja proteinov torej pomeni izgubo strukturnih in drugih elementov celic in torej izgubo funkcijsko pomembnih molekul. Dlje kot traja proteoliza, večji bo funkcijski upad. Če bi glukoneogeneza vseskozi potekala tako hitro kot na začetku stradanja, bi bilo preživetje omejeno na približno tri ali štiri tedne.

Da lahko brez hrane preživimo ~40–60 dni, sta pomembni dve presnovni prilagoditvi. Prva je zmanjšanje intenzitete bazalne presnove, ki lahko upade za približno 20–25 %. Ker bazalna presnova predstavlja večinski delež celokupne dnevne porabe energije, gre za pomemben prihranek, ki omogoči, da se substrati, ki so shranjeni v telesnih zalogah, porabljajo počasneje. Drugi mehanizem je ketogeneza, pri kateri v jetrih iz acetil-CoA, ki se sprosti pri β -oksidaciji maščobnih kislin, nastajata ketonski telesni acetoacetat in β -hidroksibutirat. Z dekarboksilacijo acetoacetata v telesu nastaja tudi tretje ketonsko telo, aceton, ki pa ne predstavlja vira energije in je pomemben predvsem v klinični diagnostiki, ker ga je mogoče zavohati v izdihanem zraku. Po zadnjem obroku koncentracija acetoacetata in β -hidroksibutirata v krvi, ki je v običajnih razmerah izredno nizka (< 0,2 mmol/L), postopno poraste in v nekaj dnevih doseže milimolarno

¹ Cikel, ki ga včasih imenujemo tudi Corijev cikel, je dobil ime po zakonih Cori (po Gerty Theresi Radnitz Cori in Carlu Ferdinandu Cori), dobitnikih Nobelove nagrade za medicino ali fiziologijo (1947).

območje. Ko je njuna koncentracija v krvi dovolj visoka, se acetoacetat in β -hidroksibutirat v živčevju postopno oksidirata v vedno večjih količinah. Ko postanejo ketonska telesa pomemben vir energije za živčevje, nastopi obdobje dolgotrajnega stradanja, kar se zgodi v približno enem tednu po zadnjem obroku.

Oksidacija ketonskih teles v živčevju delno nadomesti oksidacijo glukoze za pridobivanje ATP, kar ima dve pomembni funkcijski posledici. Prva je, da s prehodom na oksidacijo ketonskih teles možgani v večji meri uporabljajo največjo zalogo energije v telesu – tj. maščobo. Druga, najpomembnejša pa je, da se ob tem upočasni poraba glukoze. Če stradanje traja več tednov, ketonska telesa priskrbijo več kot polovico (do dve tretjini) energijskih potreb živčevja, kar pomeni pomembno zmanjšanje dnevne porabe glukoze. Ker se poraba glukoze zmanjša, se zmanjšata tudi glukoneogeneza in izguba telesnih proteinov, kar podaljša ohranjanje telesnih funkcij in s tem preživetje organizma.

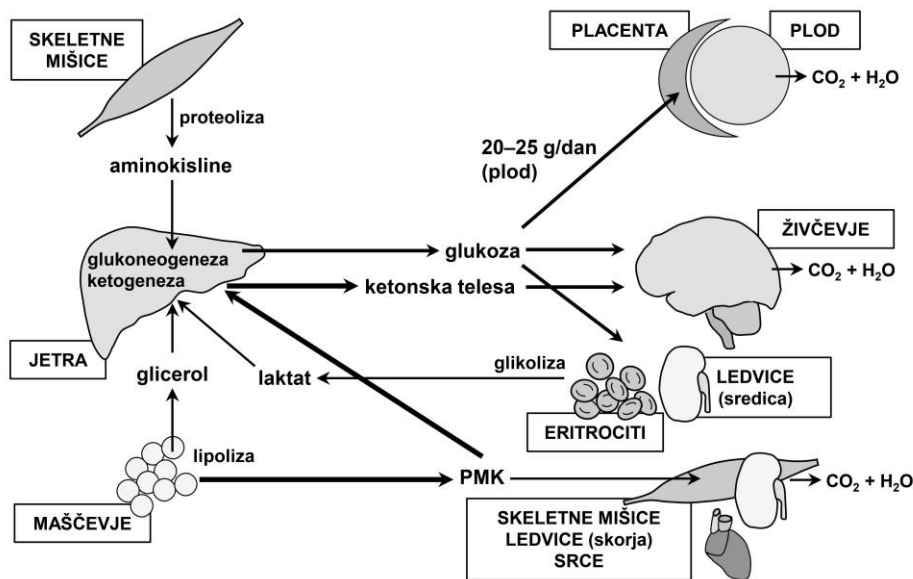
Za stradanje, pri katerem se koncentracija ketonskih teles zvečuje postopoma, acidoza ni značilna. Ledvice namreč zvečajo izločanje ionov H^+ (v obliki NH_4^+), kar prispeva k ohranjanju acido-baznega ravnovesja. Na elegantno povezanost med uravnavanjem presnovnega in acido-baznega ravnovesja kaže tudi mehanizem nastanka NH_4^+ v ledvicah. Ta namreč nastaja iz glutamina (reakcija z glutaminazo) oziroma glutamata (reakcija z glutamat dehidrogenazo), ki jih ledvična skorja lahko nato uporabi za glukoneogenezo. Čeprav ketoacidoza pri stradanju ni tipična, možnost njenega nastanka ni izključena. Znani so namreč primeri, ko se je pri osebah, ki so za vzdrževanje telesne mase uporabljali strogo ketogeno dieto, razvila ketoacidoza, ki je zahtevala bolnišnično zdravljenje.

3 POSPEŠENO STRADANJE IN EVGLIKEMIČNA KETOACIDOZA V NOSEČNOSTI

Ketogeneza je med stradanjem pomemben fiziološki prilagoditveni mehanizem, vendar lahko v določenih okoliščinah postane škodljiva. Za drugo polovico nosečnosti in zlasti zadnje trimesečje je značilna fiziološka inzulinska rezistenca, ki doseže približno enako stopnjo kot pri osebah s sladkorno boleznijo tipa 2. Inzulinsko rezistenco kompenzira večje izločanje inzulina, ki se glede na stanje pred nosečnostjo poveča za dvakrat do trikrat. Kljub večjemu izločanju inzulina je pri nosečnici po obroku porast koncentracije glukoze v krvi večji kot pri ženski, ki ni noseča. Ob tem je zaradi potreb placente in ploda zvečana celokupna poraba glukoze, kar se v obdobjih med obroki kaže z večjim oziroma hitrejšim padcem koncentracije glukoze v krvi, ki je zato pri nosečnici na tešče kljub inzulinski rezistenci tipično nižja kot pred nosečnostjo. Zaradi inzulinske rezistence in večje porabe glukoze nosečnica hitreje preide iz postabsorptivnega obdobja v obdobje stradanja, kar se med drugim kaže s hitrejšim porastom ketonskih teles v krvi.

Pospešitev ketogeneze pri nosečnici je posledica pospešenega sproščanja prostih maščobnih kislin iz maščevja in presnovnih razmer v jetrih (slika 2). V maščevju je lipoliza pospešena zaradi inzulinske rezistence, znižanja krvne koncentracije inzulina na tešče in učinkov lipolitičnih hormonov placente. Proste maščobne kisline se v jetrih v procesu β -oksidacije presnovijo do acetyl-CoA, ki zaradi aktivacije glukoneogeneze v manjši meri vstopa v Krebsov

cikel in se preusmeri v sintezo ketonskih teles acetoacetata in β -hidroksibutirata (slika 2). Njena koncentracija med stradanjem v nosečnosti narašča od dvakrat do trikrat hitreje kot običajno; po 36 urah stradanja lahko koncentracija acetoacetata doseže 0,6 mmol/L in β -hidroksibutirata 2 mmol/L, kar se sicer zgodi šele pri večdnevem stradanju. Zgodnejša aktivacija ketogeneze je fiziološko smiselna, ker ketonska telesa kot alternativni vir energije omogočijo varčevanje z glukozo, ki jo za pridobivanje energije potrebujejo živčevje, plod in placenta. Hitro vzpostavitev mehanizmov, ki so značilni za stradanje, so v nosečnosti poimenovali »pospešeno stradanje« (angl. *accelerated starvation*).



Slika 2. Presnovni procesi med stradanjem v nosečnosti.

Pri nosečnici presnovni procesi med stradanjem potekajo podobno kot pri ženski, ki ni noseča. Zaradi večje porabe glukoze in inzulinske rezistence je prehod iz postabsorptivnega obdobja (glikogenoliza, glukoneogeneza) v obdobje stradanja (glukoneogeneza in ketogeneza) hitrejši. Če nosečnica strada, ker bruha, se ob spremljajoči dehidraciji, ki spodbudi izločanje kateholaminov in glukokortikoidov, lipoliza in ketogeneza lahko stopnjujeta vse do prave ketoacidoze. Ketonska telesa se oksidirajo tudi v drugih tkivih, kar zaradi preglednosti oziroma poenostavitve na sliki ni prikazano. PMK – proste maščobne kisline.

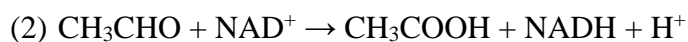
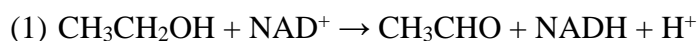
Pri nosečnici, ki strada, se v redkih primerih ketogeneza tako pospeši, da nastane ketoacidoza. Drugače kot pri diabetični ketoacidozi, ki jo značilno spremlja izrazita hiperglikemija, koncentracija glukoze pri nosečnici, ki nima sladkorne bolezni, ni zvečana, zato takšno ketoacidozo označujejo kot evglikemično ketoacidozo. Tveganje zanjo je največje v tretjem trimesečju, ker sta za to obdobje značilni izrazita inzulinska rezistenca in največja poraba glukoze. Če nosečnica zaradi slabosti in bruhanja več kot 24 ur ne zaužije hrane oziroma zaužito izbruha, v presnovnem smislu strada, ob tem pa se zaradi izgube tekočine razvije tudi dehidracija. Koncentracija glukoze v krvi se znižuje, zaradi česar upade tudi koncentracija inzulina. Zaradi zniževanja koncentracije glukoze se izločajo antagonisti inzulina, kot je na primer glukagon. K izločanju antagonistov inzulina, kot so kateholamini in glukokortikoidi, prispeva tudi dehidracija. Kombinacija inzulinske rezistence, znižane koncentracije inzulina

med stradanjem in zvečane koncentracije antagonistov inzulina spodbudi glukoneogenezo, lipolizo in ketogenezo (slika 2). V takšnih razmerah je ketogeneza lahko tako pospešena, da se razvije huda ketoacidoza, ki ogroža nosečnico in plod.

Ketoacidoza v nosečnosti bi se lahko pojavila tudi zaradi neustrezne prehrane. Ker so potrebe po ogljikovih hidratih zvečane (plod, placenta) in so ženske v drugi polovici nosečnosti že v normalnih razmerah nagnjene k hipoglikemiji na tešče, pred čemer jih ščitijo inzulinska rezistenca, zvečana glukoneogeneza, hitra mobilizacija maščobnih zalog in ketogeneza, ni presenetljivo, da stroga ketogena dieta, zlasti če ni izvedena pod strokovnim nadzorom, lahko povzroči ketoacidozo. Opisan je primer, ko je nosečnica, ki je sicer imela sladkorno bolezen tipa 1, ob strogi ketogeni dieti razvila ketoacidozo s hipoglikemijo, čeprav bi glede na njeno temeljno bolezen ob poslabšanju pričakovali ketoacidozo in hiperglikemijo. Po drugi strani pa poročajo, da ketogena dieta, če je ta strokovno utemeljena in nadzorovana, ob ustreznih prilagoditvah tudi v nosečnosti ne povzroči akutnih presnovnih zapletov.

4 ALKOHOLNA KETOACIDOZA

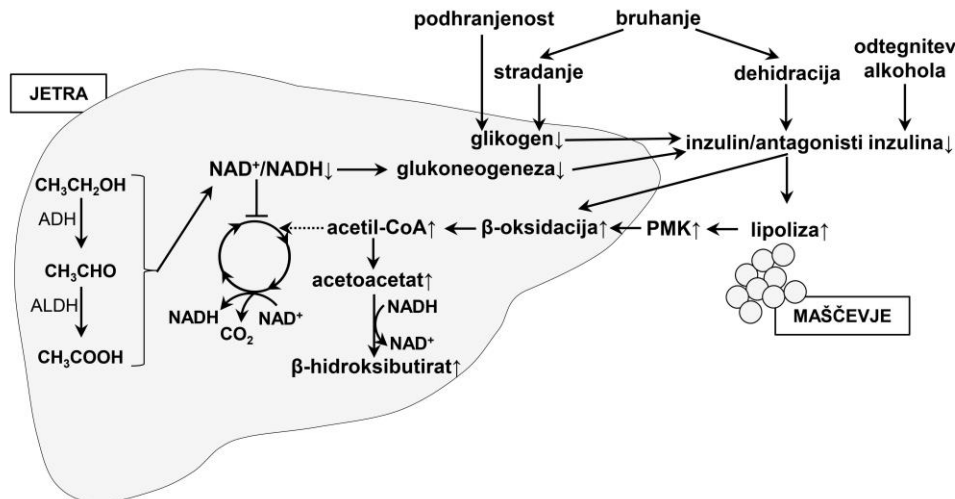
Alkoholna ketoacidoza je akutni presnovni zaplet, ki je značilen za alkoholizem. Večkrat gre za alkoholika, ki je popival, nato pa ga je zaradi z alkoholom povzročene gastritisa ali pankreatitisa začelo boleti v trebuhu, postalo mu je slabo in začel je bruhati. Ker zaradi bolečin, slabosti in bruhanja ne uživa hrane, v presnovnem smislu strada. Ob tem se zaradi izgube tekočine razvije tudi dehidracija. V teh razmerah je sproščanje inzulina zmanjšano, sproščanje antagonistov inzulina pa je zaradi stradanja in dehidracije zvečano (slika 3). V jetrih, kjer po večdnevem pitju in bruhanju primanjkuje glikogena, poteka glukoneogeneza. V maščevju pospešeno poteka lipoliza, zaradi česar se v kri sproščajo proste maščobne kisline, ki v jetrih vstopajo v β -oksidacijo. V jetrih so zaradi predhodnega pitja alkohola presnovne razmere drugačne kot pri navadnem stradanju. Etanol se namreč v jetrih presnavlja v dehidrogenacijskih reakcijah, ki ju katalizirata alkohol dehidrogenaza (1) in aldehyd dehidrogenaza (2):



Za oksidacijo 1 mol etanola (46 g) do očetne kisline sta potrebna 2 mol NAD^+ oziroma kar ~1,3 kg NAD^+ (masa jeter je 1–1,5 kg), zaradi česar je hitrost presnove etanola v jetrih omejena s količino razpoložljivega NAD^+ . Pri zaužitju velikih količin etanola regeneracija NAD^+ ni dovolj hitra in razmerje NAD^+/NADH se zmanjša (slika 3).

Zmanjšanje razmerja NAD^+/NADH ima pomembne posledice za presnovo acetyl-CoA in delovanje Krebsovega cikla. V teh razmerah se ravnovesje med malatom in oksalacetatom premakne v smeri malata ($\text{oksalacetat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{malat} + \text{NAD}^+$), upočasnijo pa se tudi druge dehidrogenacijske reakcije Krebsovega cikla. Ker je na voljo manj oksalacetata oziroma ker je Krebsov cikel zavrt, acetyl-CoA, ki pospešeno nastaja v β -oksidaciji maščobnih kislin, težje vstopa v Krebsov cikel ($\text{acetyl-CoA} + \text{oksalacetat} \rightarrow \text{citrat} + \text{CoA}$) in se zato preusmeri v sintezo acetoacetata in β -hidroksibutirata (slika 3). Nizko razmerje NAD^+/NADH ima zaviralen

učinek tudi na glukoneogenezo, kar skupaj s pomanjkanjem glikogena prispeva k znižanju koncentracije glukoze v plazmi, zaradi česar alkoholiku v teh razmerah grozi hipoglikemija, ki se razvije v približno četrtini primerov. Razmerje koncentracij inzulina/antagonisti inzulina je v takšnih presnovnih razmerah znižano tudi zaradi aktivacije simpatiko-adrenergičnega sistema oziroma izločanja kateholaminov, k čemur pri alkoholiku prispeva tudi odtegnitev od etanola.



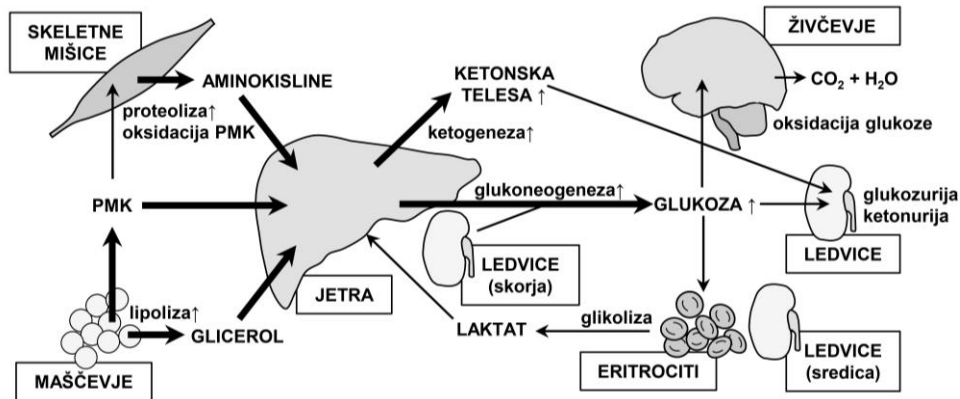
Slika 3. Presnovni procesi pri alkoholni ketoacidozi.

Pomanjkanje NAD^+ , ki nastane zaradi presnove etanola, zavre vstopanje acetil-CoA v Krebsov cikel, kar ob zvečanem dotoku prostih maščobnih kislin v jetra spodbudi ketogenezo. ADH – alkohol dehidrogenaza, ALDH – aldehyd dehidrogenaza, PMK – proste maščobne kisline.

Ob takšni hormonski konstelaciji zvečan dotok prostih maščobnih kislin v jetra vodi do nenadzorovane ketogeneze in ketoacidoze, ki je – podobno kot pri evglikemični ketoacidozi v nosečnosti – tipično ne spremlja hiperglikemija. Pri alkoholni ketoacidozi je v krvi zvečana predvsem koncentracija β -hidroksibutirata ($\text{acetoacetat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \beta\text{-hidroksibutirat} + \text{NAD}^+$) (slika 3). Za prekinitve patološkega dogajanja pacient potrebuje infuzijo tekočine in glukoze. Pri tem je treba upoštevati, da so alkoholiki pogosto slabo prehranjeni in jim med drugim lahko primanjkuje tiamina. Ker infuzija glukoze pri osebah, ki jim primanjkuje tiamina, lahko vodi v različne zaplete, je treba tiamin dodati pred glukozo.

5 DIABETIČNA KETOACIDOZA

Diabetična ketoacidoza je življenje ogrožajoče stanje presnovne iztirjenosti, ki nastane zaradi pomanjkanja učinkov inzulina in je kot akutni zaplet tipična za osebe s sladkorno boleznijo tipa 1. Zaradi opustitve zdravljenja z insulinom ali akutnega stresnega stanja (na primer okužbe), ki ga spremlja izločanje citokinov in stresnih hormonov, ki delujejo kot antagonisti inzulina, izrazito primanjkuje (učinkov) inzulina. V teh razmerah se zaradi pospešitve glukoneogeneze močno zveča izplavljanje glukoze iz jeter, kar ob nezadostnem vstopanju glukoze v tkiva, kot so skeletne mišice, vodi v izrazito hiperglikemijo (slika 4). Ob tem je zmožnost ledvičnih tubulov za reabsorpcijo glukoze presežena, zaradi česar se pojavi glukozurija.



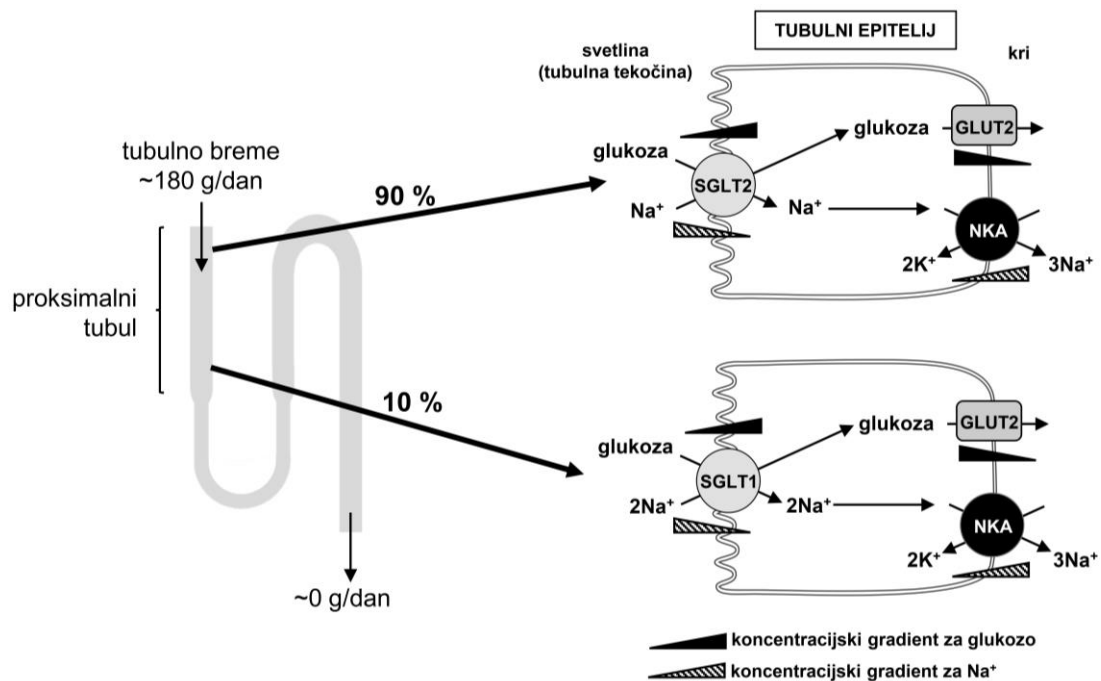
Slika 4. Presnovni procesi pri diabetični ketoacidozi.

Pri diabetični ketoacidozi so pospešeni enaki procesi kot med stradanjem, vendar v primerjavi s stradanjem, kjer sta ponudba in poraba hranil vseskozi usklajeni, potekajo neurejeno, kar se med drugim kaže s prevelikim nastajanjem glukoze in ketonskih teles. Poraba glukoze in ketonskih teles v tkivih kljub veliki ponudbi ni zvečana, zaradi česar poraste njihova koncentracija v krvi. Neustrezno velika tvorba glukoze tako vodi v izrazito hiperglikemijo in glukozurijo (zaradi česar se razvije tudi dehidracija), nenadzorovana ketogeneza pa v hudo ketoacidozo. PMK – proste maščobne kisline.

Izgube glukoze z urinom so lahko velike (npr. 100–200 g/dan), kar vodi v osmotsko diurezo in dehidracijo. Zaradi pospešene lipolize so jetra preplavljena s prostimi maščobnimi kislinami, ki se v procesu β -oksidacije presnovijo do acetil-CoA in nato v acetoacetat in β -hidroksibutirat (slika 4). Ob tem je – drugače kot pri stradanju – njuna poraba v tkivih celo zmanjšana. Ker sinteza acetoacetata in β -hidroksibutirata preseže njuno porabo in izločanje z urinom (ketonurijo), se njuna koncentracija v krvi v kratkem času močno zveča, ob čemer se razvije huda, življenje ogrožajoča, metabolična acidoza, ki jo spremlja kompenzacijska hiperventilacija (t.i. Kussmaulovo dihanje). V izdihanem zraku je mogoče zavohati aceton, ki nastaja z dekarboksilacijo acetoacetata. Patološko dogajanje se prekine z ustreznim nadomeščanjem insulina, vode in elektrolitov.

6 EVGLIKEMIČNA DIABETIČNA KETOACIDOZA PRI ZDRAVLJENJU Z ZAVIRALCI PRENAŠALCA SGLT2

V zadnjih nekaj letih so se za zdravljenje sladkorne bolezni uveljavili zaviralci prenašalca SGLT2 (angl. *sodium-glucose cotransporter 2*), ki omogoča kotransport ionov Na^+ in glukoze v proksimalnih tubulih v ledvicah. Za razliko od prenašalcev GLUT, ki omogočajo transport glukoze samo vzdolž koncentracijskega gradienta, prenašalec SGLT2 zaradi kotransporta z ioni Na^+ omogoča transport glukoze iz tubulne tekočine v tubulno celico proti koncentracijskemu gradientu (slika 5). Vstopanje ionov Na^+ v celico je namreč termodinamsko gledano spontan proces, pri katerem se energija sprošča, kar omogoči, da se glukoza transportira v celico proti gradientu, pri čemer se energija porablja. Prenos ionov Na^+ in glukoze poteka v razmerju 1:1. Prenašalec SGLT2 se izraža v začetnem delu proksimalnega tubula in je v fizioloških razmerah odgovoren za približno 90 % tubulne reabsorpcije glukoze (slika 5).



Slika 5. Mehanizem reabsorpcije glukoze v proksimalnih tubulih.

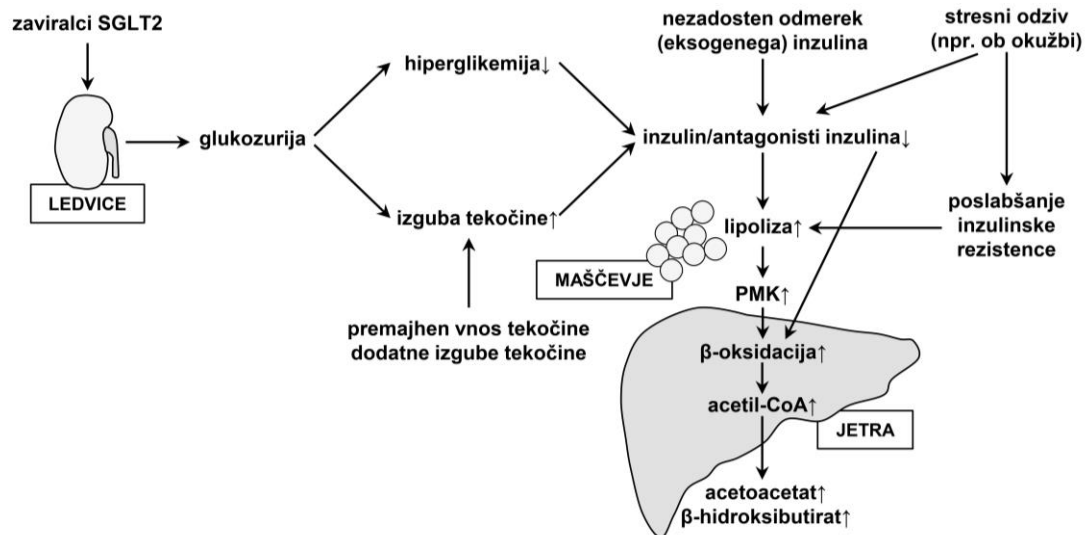
V fizioloških razmerah se glukoza popolno reabsorbira v proksimalnih tubulih. Prenašalec SGLT2, ki se izraža predvsem v začetnem delu proksimalnih tubulov in je odgovoren za 90 % reabsorpcije, prenaša glukozo in ione Na^+ v razmerju 1:1. Prenašalec SGLT1, ki se izraža predvsem v končnem delu proksimalnih tubulov in je odgovoren za 10 % reabsorpcije, prenaša glukozo in ione Na^+ v razmerju 1:2, kar omogoča transport glukoze proti večjemu koncentracijskemu gradientu. Prenašalec SGLT1 ima večjo afiniteto do glukoze kot prenašalec SGLT2. NKA – Na^+, K^+ -črpalka (Na^+, K^+ -ATPaza).

Dnevno se filtrira približno 180 g glukoze, kar pomeni, da prenašalec SGLT2 reabsorbira približno 160 g glukoze. Preostanek glukoze reabsorbira prenašalec SGLT1 (angl. *sodium-glucose cotransporter 1*), ki ima večjo afiniteto do glukoze kot prenašalec SGLT2 in prenaša glukozo in ione Na^+ v razmerju 1:2 (slika 5). Takšna ureditev je fiziološko smiselna, saj je v končnem delu proksimalnega tubula, kjer se prenašalec SGLT1 pretežno izraža, koncentracija glukoze v tubulni tekočini nizka in koncentracijski gradient prek membrane tubulnih celic večji. Zdravila, ki zavirajo delovanje prenašalca SGLT2, zmanjšajo reabsorpcijo glukoze v proksimalnem tubulu in povzročijo glukozurijo (~50–80 g/dan) že pri normalni krvni koncentraciji glukoze. Glukozurija se sicer (brez zaviranja prenašalcev SGLT2) pojavi pri hiperglikemiji ($\geq \sim 11$ mmol/L). Ker ledvice vsak dan izločijo nekaj dodatne glukoze, je nadzor nad glikemijo pri uporabi zaviralcev prenašalca SGLT2 boljši. Med drugim to pripomore tudi k izgubi telesne mase, saj se z glukozo v urinu izgublja tudi kalorije. Zaradi presnovnih in drugih zaščitnih učinkov na srčno-žilni sistem in ledvice so zaviralci prenašalca SGLT2 klinično izredno uporabni, česar na tem mestu ne opisujemo.

Zdravljenje z zaviralci prenašalca SGLT2 lahko (redko) vodi v evglikemično diabetično ketoacidozo. Čeprav se imenuje evglikemična, koncentracija glukoze v krvi v tem primeru ni

normalna (normoglikemija), ampak je stopnja hiperglikemije manjša ($< 11,1\text{--}13,9$ mmol/L oziroma $200\text{--}250$ mg/dL), kot bi jo pričakovali pri klasični diabetični ketoacidozi (npr. $> \sim 20$ mM oziroma ~ 350 mg/dL). Pri zdravljenju z zaviralci prenašalca SGLT2 je torej kljub visoki koncentraciji ketonskih teles v krvi (β -hidroksibutirat > 3 mmol/L), hiperglikemija lahko sorazmerno blaga in ni dober pokazatelj stopnje presnovnega neravnovesja.

Opisanih je več mehanizmov, prek katerih zaviralci prenašalca SGLT2 lahko vodijo v ketoacidozo. Zaradi izgube glukoze z urinom se zniža njena koncentracija v krvi, kar zniža razmerje koncentracij inzulina/glukagon. Koncentracija inzulina je nižja, ker se zmanjša izločanje endogenega inzulina (pri osebah s sladkorno boleznijo tipa 2) oziroma ker je potreba po eksogenem inzulinu manjša (pri osebah, ki se zdravijo z inzulinom). Ob tem se zveča izločanje glukagona, kar bi (vsaj po nekaterih podatkih) lahko bila posledica spodbujevalnega učinka zaviralcev prenašalca SGLT2 in ne zgolj znižanja koncentracije glukoze v krvi.



Slika 6. Patofiziološki mehanizmi nastanka evglikemične diabetične ketoacidoze pri zdravljenju z zaviralci prenašalca SGLT2.

Zaviralci prenašalca SGLT2 zmanjšajo koncentracijo glukoze in s tem izločanje endogenega inzulina oziroma potrebo po eksogenem inzulinu. Razmerje koncentracij inzulina/glukagon se ob tem zmanjša, kar spodbudi lipolizo (zaradi zmanjšane delovanja inzulina) in β -oksidacijo oziroma ketogenezo v jetrih (učinek zmanjšane koncentracije inzulina in zvečane koncentracije glukagona). Ta mehanizem se pri nastanku ketoacidoze prepleta še z drugimi dejavniki, ki so lahko pomembni v različnih okoliščinah (dehidracija, nepravilno odmerjanje inzulina, okužba ipd.) in prav tako vodijo v zmanjšanje učinkov inzulina – zaradi izločanja njegovih antagonistov ali dejavnikov, ki povzročajo (poslabšajo) inzulinsko rezistenco. Zaradi farmakološko povzročene glukozurije, ki znižuje krvno koncentracijo glukoze, je hiperglikemija kljub nezadostnemu delovanju inzulina še zmerna, ko je ketogeneza že močno pospešena. PMK – proste maščobne kisline.

Zaradi zmanjšanih učinkov inzulina se lipoliza v maščevju pospeši, kar zveča dotok prostih maščobnih kislin do jeter, kjer se tudi zaradi nizkega razmerja koncentracij inzulina/glukagon v procesu β -oksidacije presnovijo do acetil-CoA, ki se nato usmeri v sintezo ketonskih teles. Če

se učinki inzulina dodatno zmanjšajo (npr. zaradi zmanjšanja odmerka inzulina ali stopnjevanja inzulinske rezistence ob akutnem stresnem odzivu), se ketogeneza lahko pospeši do te mere, da se razvije ketoacidoza. Ob slabšanju presnovnega stanja narašča tudi glukoza v krvi, vendar je ta porast manjši kot bi bil brez zaviranja prenašalcev SGLT2, ker se več glukoze izloči z urinom. Pri evglikemični diabetični ketoacidozi je torej zaradi zavore prenašalcev SGLT2 količina z urinom izločene glukoze lahko podobna kot pri klasični diabetični ketoacidozi, čeprav je hiperglikemija manj izražena. Glukozurija zaradi osmotske diureze lahko vodi v dehidracijo, kar spodbudi izločanje kateholaminov in glukokortikoidov, ki nato dodatno spodbudijo lipolizo in dotok prostih maščobnih kislin v jetra, kar spet prispeva h ketogenezi.

Zaradi potencialnega tveganja za nastanek ketoacidoze odsvetujejo uporabo zaviralcev prenašalca SGLT2 pri osebah na ketogeni dieti. Ketogena dieta je neugodna tudi, ker sama po sebi povzroči dvig koncentracije ketonskih teles v krvi, kar pri zdravljenju z zaviralci prenašalca SGLT2 otežuje odkrivanje (nastajajoče) ketoacidoze. Porast ketonskih teles v krvi je pri zdravljenju z zaviralci prenašalca SGLT2 namreč pomemben pokazatelj pospešitve ketogeneze, ker je koncentracija glukoze v krvi v tem primeru manj zanesljiva za oceno presnovnega stanja (gl. zgoraj).

7 ZAKLJUČEK

Sinteza ketonskih teles je esencialen fiziološki proces, ki omogoča preživetje med stradanjem. Tudi pri ketogeni dieti je ustrezna, ker prispeva k ohranjanju presnovnega ravnovesja kljub zelo nizkemu vnosu ogljikovih hidratov. Ena do temeljnih značilnost fiziološke ketogeneze je, da koncentracija ketonskih teles v krvi narašča postopno, kar omogoči ohranitev acido-baznega ravnovesja. V patofizioloških stanjih lahko sovpeade več dejavnikov (na primer bruhanje, stradanje, dehidracija in inzulinska rezistenca v nosečnosti ali bruhanje, stradanje, spremenjeno presnovno stanje v jetrih zaradi pitja alkohola), zaradi katerih se ketogeneza v relativno kratkem času neustrezno pospeši in koncentracija ketonskih teles v krvi (pre)hitro naraste. Podobno se zgodi pri sladkorni bolezni, ko zaradi nezadostnega izločanja ali odmerjanja inzulina oziroma dejavnikov, ki zmanjšujejo njegovo delovanje, izrazito prevladajo učinki antagonistov inzulina, kot so glukagon, adrenalin in kortizol. V takšnih primerih hitro zvečanje tvorbe ketonskih teles preseže kompenzacijske zmožnosti organizma in razvije se huda ketoacidoza.

8 VIRI

- Barski L., Eshkoli T., Brandstaetter E., Jotkowitz A. 2019. Euglycemic diabetic ketoacidosis. *Eur J Intern Med*, 63: 9-14.
- Bashir B., Fahmy A.A., Raza F., Banerjee M. 2021. Non-diabetic ketoacidosis: a case series and literature review. *Postgrad Med J*, 97: 667-671.
- Brouns F. 2018. Overweight and diabetes prevention: is a low-carbohydrate-high-fat diet recommendable? *Eur J Nutr*, 57: 1301-1312.
- Cahill G.F., Jr. 2006. Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr*, 26: 1-22.
- Chao E.C., Henry R.R. 2010. SGLT2 inhibition--a novel strategy for diabetes treatment. *Nat Rev Drug Discov*, 9: 551-559.
- Danne T., Garg S., Peters A.L., Buse J.B., Mathieu C., Pettus J.H., Alexander C.M., Battelino T., Ampudia-Blasco F.J., Bode B.W., Cariou B., Close K.L., Dandona P., Dutta S., Ferrannini E., Furlanos S.,

- Grunberger G., Heller S.R., Henry R.R., Kurian M.J., Kushner J.A., Oron T., Parkin C.G., Pieber T.R., Rodbard H.W., Schatz D., Skyler J.S., Tamborlane W.V., Yokote K., Phillip M. 2019. International Consensus on Risk Management of Diabetic Ketoacidosis in Patients With Type 1 Diabetes Treated With Sodium-Glucose Cotransporter (SGLT) Inhibitors. *Diabetes Care*, 42: 1147-1154.
- DeFronzo R.A., Norton L., Abdul-Ghani M. 2017. Renal, metabolic and cardiovascular considerations of SGLT2 inhibition. *Nat Rev Nephrol*, 13: 11-26.
- Dhatariya K.K., Glaser N.S., Codner E., Umpierrez G.E. 2020. Diabetic ketoacidosis. *Nat Rev Dis Primers*, 6: 40.
- Elia M., Stubbs R.J., Henry C.J. 1999. Differences in fat, carbohydrate, and protein metabolism between lean and obese subjects undergoing total starvation. *Obes Res*, 7: 597-604.
- Eshkoli T., Barski L., Faingelernt Y., Jotkowitz A., Finkel-Oron A., Schwarzfuchs D. 2022. Diabetic ketoacidosis in pregnancy - Case series, pathophysiology, and review of the literature. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 269: 41-46.
- Ferrannini E. 2017. Sodium-Glucose Co-transporters and Their Inhibition: Clinical Physiology. *Cell Metab*, 26: 27-38.
- Jaber J.F., Standley M., Reddy R. 2019. Euglycemic Diabetic Ketoacidosis in Pregnancy: A Case Report and Review of Current Literature. *Case Rep Crit Care*, 2019: 8769714.
- Kaplan H., Thompson R.C., Trumble B.C., Wann L.S., Allam A.H., Beheim B., Frohlich B., Sutherland M.L., Sutherland J.D., Stieglitz J., Rodriguez D.E., Michalik D.E., Rowan C.J., Lombardi G.P., Bedi R., Garcia A.R., Min J.K., Narula J., Finch C.E., Gurven M., Thomas G.S. 2017. Coronary atherosclerosis in indigenous South American Tsimane: a cross-sectional cohort study. *Lancet*, 389: 1730-1739.
- Kraft T.S., Stieglitz J., Trumble B.C., Martin M., Kaplan H., Gurven M. 2018. Nutrition transition in 2 lowland Bolivian subsistence populations. *Am J Clin Nutr*, 108: 1183-1195.
- Larroumet A., Camoin M., Foussard N., Alexandre L., Mesli S., Redonnet I., Baillet-Blanco L., Rigalleau V., Mohammedi K. 2020. Euglycemic ketoacidosis induced by therapeutic fasting in a non-diabetic patient. *Nutrition*, 72: 110668.
- Lindeberg S., Ahren B., Nilsson A., Cordain L., Nilsson-Ehle P., Vessby B. 2003. Determinants of serum triglycerides and high-density lipoprotein cholesterol in traditional Trobriand Islanders: the Kitava Study. *Scand J Clin Lab Invest*, 63: 175-180.
- Lucero P., Chapela S. 2018. Euglycemic Diabetic Ketoacidosis in the ICU: 3 Case Reports and Review of Literature. *Case Rep Crit Care*, 2018: 1747850.
- Owen D., Little S., Leach R., Wyncoll D. 2008. A patient with an unusual aetiology of a severe ketoacidosis. *Intensive Care Med*, 34: 971-972.
- Palmer B.F., Clegg D.J. 2017. Electrolyte Disturbances in Patients with Chronic Alcohol-Use Disorder. *N Engl J Med*, 377: 1368-1377.
- Palmer B.F., Clegg D.J. 2021. Starvation Ketosis and the Kidney. *Am J Nephrol*, 52: 467-478.
- Perry R.J., Shulman G.I. 2020. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors: Understanding the mechanisms for therapeutic promise and persisting risks. *J Biol Chem*, 295: 14379-14390.
- Scheen A.J. 2020. Sodium-glucose cotransporter type 2 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 16: 556-577.
- Shan Z., Guo Y., Hu F.B., Liu L., Qi Q. 2020. Association of Low-Carbohydrate and Low-Fat Diets With Mortality Among US Adults. *JAMA Intern Med*, 180: 513-523.
- Sondhi V., Agarwala A., Pandey R.M., Chakrabarty B., Jauhari P., Lodha R., Toteja G.S., Sharma S., Paul V.K., Kossoff E., Gulati S. 2020. Efficacy of Ketogenic Diet, Modified Atkins Diet, and Low Glycemic Index Therapy Diet Among Children With Drug-Resistant Epilepsy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr*, 174: 944-951.
- Tanner H.L., Dekker Nitert M., Callaway L.K., Barrett H.L. 2021. Ketones in Pregnancy: Why Is It Considered Necessary to Avoid Them and What Is the Evidence Behind Their Perceived Risk? *Diabetes Care*, 44: 280-289.

- van der Louw E.J., Williams T.J., Henry-Barron B.J., Olieman J.F., Duvekot J.J., Vermeulen M.J., Bannink N., Williams M., Neuteboom R.F., Kossoff E.H., Catsman-Berrevoets C.E., Cervenka M.C. 2017. Ketogenic diet therapy for epilepsy during pregnancy: A case series. *Seizure*, 45: 198-201.
- Willcox B.J., Willcox D.C., Todoriki H., Fujiyoshi A., Yano K., He Q., Curb J.D., Suzuki M. 2007. Caloric restriction, the traditional Okinawan diet, and healthy aging: the diet of the world's longest-lived people and its potential impact on morbidity and life span. *Ann N Y Acad Sci*, 1114: 434-455.
- Willcox D.C., Scapagnini G., Willcox B.J. 2014. Healthy aging diets other than the Mediterranean: a focus on the Okinawan diet. *Mech Ageing Dev*, 136-137: 148-162.
- Yaron M., Shalit R., Kreiser D., Cukierman-Yaffe T., Yoeli R. 2020. Very restricted carbohydrate (ketogenic) diet: A rare cause of a recurrent hypoglycemic-euglycemic diabetic ketoacidosis in the pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 248: 257-258.

PREHRANA ZA ZDRAVE MOŽGANE: Poudarek na prehranskih polifenolih

Rui F.M. SILVA¹ in Lea POGAČNIK²

Povzetek: Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) ocenjuje, da na svetu z demenco živi več kot 55 milijonov ljudi in da jih za to boleznijo vsako leto na novo zboli še dodatnih 10 milijonov. Demenca zaseda med boleznimi sedmi najpogostejši vzrok smrti in zato prinaša velike ekonomske in socialne posledice. Z demenco povezani skupni stroški so bili za leto 2019 ocenjeni na 1,3 bilijon USD, do leta 2030 pa naj bi preseгли 2,8 milijard USD. Žal še vedno ne poznamo zdravila za glavne oblike demence, ki so posledica neurodegenerativnih bolezni (npr. Alzheimerjeva in Parkinsonova bolezen). Ena izmed ključnih težav pri tej obliki obolenj je, da se bolezenske spremembe kot posledica odmiranja nevronov pojavljajo postopoma skozi celotno življenje, veliko preden se pojavijo prvi klinični znaki. Zato so vsi trenutni terapevtski pristopi večinoma namenjeni zgolj upočasnitvi napredovanja bolezni. Cilj novejših raziskav pa je dejansko upočasniti ali celo preprečiti nastanek bolezni in so zato usmerjene predvsem v zaščito nevronov. Eden izmed takšnih pristopov temelji na uporabi naravnih polifenolov iz različnih živil. Raziskave kažejo, da je ravno naravna prehrana, med katere sodi npr. tudi sredozemska dieta, cenovno ugoden in obetaven pristop. V eni izmed naših raziskav smo pokazali, da epigallocatehin galat (EGCG), pomembna sestavina čaja, lahko doseže možgane in zaščiti nevrone pred oksidativnimi poškodbami, kar kaže na to, da bi njegova vključitev v prehrano lahko bila eden izmed načinov preprečevanja nastanka neurodegenerativnih bolezni. Poleg tega je bilo pred kratkim dokazano, da lahko EGCG in ekstrakti zelenega čaja preprečujejo agregacijo amiloida beta (A β), pri čemer niso opazili pomembnih stranskih učinkov, ne glede na zaužito količino. Nove strategije preprečevanja oz. premagovanja neurodegeneracije, med katere sodi tudi prehrana, bogata s polifenoli, lahko dolgoročno povečajo zdravje možganov in/ali zmanjšajo tveganje za neurodegeneracijo, kar ima pomemben vpliv ne le na posameznika, ampak tudi na celotno družbo.

Ključne besede: polifenoli, neurodegeneracija, zaščita nevronov

NUTRITION FOR HEALTHY BRAIN: FOCUS ON DIETARY POLYPHENOLS

Abstract: The most recent WHO worldwide estimations consider that more than 55 million people live with dementia, and that each year 10 million new cases emerge. Dementia is the 7th cause of death among all diseases, with a high economic burden and social impact. The estimated total global societal cost of dementia for 2019 was US\$ 1.3 trillion, and these costs are expected to surpass US\$ 2.8 trillion by 2030. There is still no cure for the major forms of dementia that results from neurodegenerative diseases (e.g. Alzheimer's, Parkinson's). One of the key dilemmas regarding neurodegenerative diseases is that onset of disease and neuronal death occurs progressively along lifetime, much before the first clinical manifestations occur. As so, the current therapies are mostly designed to slow disease progression. Importance has recently been given to any strategy that can delay or prevent the onset of the disease, conveying neuroprotection. One of such strategies relies on the use of polyphenols from natural dietary-rich foods. In fact, the use of natural products in diet, like the Mediterranean diet, seems to be an affordable and promising neuroprotective strategy. In this regard we previously found that epigallocatechin gallate (EGCG), an important component from tea, is apparently able to reach the brain and protect neurons from oxidative damage, suggesting that their dietary inclusion may provide an affordable mean to reduce the impact of neurodegenerative diseases. Furthermore, it was recently shown that EGCG and green tea extracts are able to

¹ prof. dr., Instituto de Investigação do Medicamento; Departamento de Ciências Farmacêuticas e do Medicamento, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisbon, Portugal, e-mail: rfmsilva@ff.ulisboa.pt

² izr. prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: lea.pogacnik@bf.uni-lj.si

disrupt amyloid beta (A β) aggregation, without any relevant secondary effects for human consumption, across a wide range of intakes and concentrations. In conclusion, new strategies to prevent or to overcome neurodegeneration, like a polyphenol-rich diet, may increase long term health of the brain or reduce the risk of neurodegeneration, having a have great impact, not only socially but also economically.

Key words: polyphenols, neurodegeneration, neuroprotection

1 UVOD

Nevrodegenerativne bolezni so običajno opišemo kot patološka stanja, pri katerih so nekatere skupine nevronov poškodovane ali popolnoma odmrle, kar preprečuje normalno delovanje centralnega živčnega sistema. To vodi do zmanjšanja kognitivnih zmožnosti, motoričnih funkcij ali obojega. Mnoge od teh bolezni so običajno povezane s staranjem, vendar študije kažejo, da se nevrodegeneracija v subklinični obliki razvija skozi leta, pri čemer pride do odmiranja nevronov postopoma tekom življenja in že veliko preden so opazni prvi klinični znaki (Noble in Burns, 2010). Eden najpogostejših simptomov nevrodegeneracije je demenca. Zanja je značilna splošna in progresivna odpoved kognitivnih sposobnosti z izgubo spomina, mišljenja in razuma, kar lahko sčasoma povzroči popolno odvisnost od zunanje pomoči za zadovoljevanje najosnovnejših življenjskih potreb (National Institute on Aging, 2021). Najpogostejši vzrok demence je Alzheimerjeva bolezen (približno 60-70 % vseh primerov), sledijo ji druge manj pogoste oblike, med katere sodijo vaskularna demenca, demenca z Lewyjevimimi telesci in druge nevrodegenerativne bolezni, kot sta Parkinsonova in Huntingtonova bolezen, ter amiotrofična lateralna skleroza. Opravljenih je bilo veliko raziskav na področju preučevanja celičnih mehanizmov, ki vodijo do nevrodegeneracije in posledično do omenjenih patoloških stanj, vendar zaenkrat še vedno ni na voljo učinkovitih terapij za njihovo zdravljenje.

V najnovejšem globalnem akcijskem načrtu Svetovne zdravstvene organizacije o odzivu javnega zdravja na demenco 2017–2025 (WHO, 2017) je zapisano, da je bilo na svetu v letu 2015 kar 47 milijonov pacientov z demenco, projekcije za leto 2030 kažejo na povečanje števila na približno 75 milijonov, do leta 2050 pa kar na 132 milijonov. Zato ugotavljajo, da bo v prihodnje demenca predstavljala glavni vzrok invalidnosti in nesamostojnosti med starejšimi odraslimi po vsem svetu. Te številke in njihova naraščajoča incidenca imajo in bodo imeli velik vpliv na človeško družbo na več ravneh, ne le na bolnike same, na njihove negovalce in družine, temveč bodo močno povečale državne stroške in zmanjšale produktivnost celotne družbe.

Prej omenjeni načrt WHO obsega sedem načel delovanja, katerih cilj je doseči svet z zmanjšano pojavnostjo demence, istočasno pa izboljšati pogoje, ki bodo vodili v izboljšano počutje bolnikov z demenco in njihovih skrbnikov. WHO je v nedavnem dokumentu (Cahill, 2020) analiziral načine za doseganje takšnih ciljev, predstavil pa je tudi izzive in priložnosti, ki so z njimi povezani. Zlasti zadnji ukrep vzpodbuja raziskave in inovacije, ki bi skupaj z drugimi ključnimi ukrepi čimbolj preprečili nastanek demence, pri čemer bi se predvsem morali osredotočiti na zmanjševanje tveganj za nastanek bolezni. Po drugi strani pa naj bi bile raziskave usmerjene v razvoj zdravil za uravnavanje simptomov bolezni ali celo njeno zdravljenje. Eden izmed možnih pristopov za uresničitev tega cilja je spremenjena prehrana celotne populacije, vključno s povečanim uživanjem snovi, ki lahko zaščitijo nevrone in posledično pozitivno vplivajo na homeostazo in zdravje možganov (Costa in sod., 2016; Pogacnik in sod., 2020; Solanki in sod., 2015). Pričakujemo, da bi redno uživanje takšnih snovi, tako v obliki vsakodnevne prehrane kot v obliki prehranskih dopolnil, omogočilo staranje z zdravimi možgani, saj bi s tem preprečili ali vsaj zmanjšali tveganje za nastanek s starostjo povezanih nevrodegenerativnih bolezni.

Že več let se omenja sredozemska prehrana kot tista, ki pripomore k zdravju in počasnejšemu

staranju (Godos in sod., 2018; Godos in sod., 2017), kar naj bi bilo posledica povečanega vnosa polifenolov iz sadja in zelenjave (Roman in sod., 2019). Številna živila, kot so sadje, zelenjava, zeleni čaj, kava in vino, so dejansko zelo bogat vir polifenolnih spojin, ki so v rastlinah prisotni kot naravni sekundarni metaboliti in imajo vlogo presnovnih intermediatov, reproduktivnih atraktantov, zaščitnih sredstev itd. Izkazalo se je, da so te molekule močni antioksidanti, imajo pa tudi več drugih za človeško zdravje pomembnih aktivnosti (Garcia-Conesa in Larrosa, 2020; Tresserra-Rimbau, 2020), med katerimi je zelo pomembno protivnetno delovanje (Singh in sod., 2008), pa tudi njihov potencial za modulacijo več pomembnih celičnih signalnih poti.

Pred kratkim je bil na to tematiko objavljen pregledni znanstveni članek (Bucciantini in sod., 2021), v katerem najdemo povzetek *in vitro* in *in vivo* antioksidativnih in protivnetnih lastnosti oljčnega olja, ki se zelo pogosto uporablja v sredozemski prehrani. Če poleg teh dveh lastnosti polifenolov dodamo še njihovo številčnost in količino, ki je prisotna v velikem številu živil, ki so del vsakodnevne človeške prehrane, ni presenetljivo, da se veliko študij, tako *in vitro* kot *in vivo*, ukvarja z njihovo potencialno vlogo pri preprečevanju in zdravljenju različnih patoloških stanj, povezanih z oksidativnim stresom in/ali vnetji, med katere sodijo rak, srčno-žilne in nevrodegenerativne bolezni. Študije na področju preprečevanja in/ali zdravljenja raka in nevrodegenerativnih bolezni so še posebej pomembne, saj njihovo učinkovito zdravljenje še vedno ni na voljo.

In nenazadnje, mnogo kliničnih študij je bilo zasnovanih z namenom ugotavljanja biodostopnosti in biološke učinkovitosti prehranskih polifenolov (Marino in sod., 2020), bodisi kot zaščitnih/profilaktičnih molekul ali kot terapevtskih učinkovin.

2 POLIFENOLI V ČLOVEŠKI PREHRANI

Polifenoli so vključeni v vsakodnevno človeško prehrano zaradi svoje pleiotropne prisotnosti v številnih živilih, kot so sadje, zelenjava in različni napitki, kot so čaj, sokovi in kava, uživamo pa jih tudi v obliki prehranskih dopolnil. Živila, ki vsebujejo polifenole, lahko uživamo surova ali kuhana, posamezne fenolne spojine pa tudi v obliki različnih ekstraktov, infuzij ali tablet. Skupna količina polifenolov, ki jih zaužijemo kot del sredozemske prehrane, je ocenjena na 500 do 1000 mg/dan (Godos in sod., 2017; Tresserra-Rimbau, 2020). Po zaužitju se polifenoli presnavljajo preko običajnih presnovnih procesov, ki modulirajo njihovo biološko razpoložljivost, absorpcijo in nenazadnje njihovo aktivnost (Lewandowska in sod., 2013). Zato se moramo zavedati, da lahko med biotransformacijo poleg osnovne molekule nastajajo metaboliti z nižjo in/ali višjo biološko aktivnostjo.

Eden izmed prvih opisov biološke aktivnosti polifenolov sega že v leto 1949 (Schraufstatter in Bernt, 1949), ko so bile nekatere antibakterijske lastnosti pripisane molekuli kurkumina. Kurkumin se je kasneje izkazal kot zelo pomembna molekula s številnimi farmakološkimi lastnostmi, ki so koristne pri preprečevanju in zdravljenju srčno-žilnih bolezni, bolezni prebavil in drugih bolezni, in sicer preko modulacije signalnih poti, kot so PI3K, Akt, mTOR, ERK5, AP-1, TGF- β , Wnt, b- κ atenin, Shh, PAK1, Rac1, STAT3, PPAR α , EBPA, NLRP3 inflamazom, p38MAPK, Nrf2, Notch-1, AMPK, TLR-4 in MyD-88 (Patel in sod., 2019).

Kljub vsem aktivnostim pa je zanimanje znanstvenikov v poznih 90. letih prejšnjega tisočletja pritegnila prav antioksidativna aktivnost polifenolov (Bravo, 1998), predvsem zaradi njihovega možnega vpliva na staranje, povezanim s tako imenovanim oksidacijskim postulatoma (Hano in Tungmunnithum, 2020). Zelo zanimiv je pregledni članek Brimson in sod. (2021), v katerem najdemo pregled možnih pozitivnih učinkov polifenolov na staranje kot tako, na s starostjo povezane bolezni in na rakava obolenja, in sicer v povezavi z modulacijo avtofagne celične aktivnosti, ki je eden izmed pomembnih celičnih procesov, ki skrbi za odstranjevanje neželenih ali nefunkcionalnih celičnih struktur.

Pred kratkim so znanstveniki odkrili še eno pomembno vlogo antioksidantov pri odstranjevanju reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS), ki nastajajo med procesom glikacije, in lahko vodijo do nastanka tako imenovanih končnih produktov pospešene glikacije (AGEs) (Gonzalez in sod., 2020). AGEs so skupina spojin, ki nastanejo pri neencimskih reakcijah med osnovnimi celičnimi strukturami, med katere sodijo beljakovine, lipidi ali nukleinske kisline, ki so zaradi prisotnosti reducirajočih sladkorjev glikirale. Molekule AGEs se nato lahko vežejo na RAGE (receptor za končne produkte pospešene glikacije), posledično pa lahko aktivacija tega receptorja povzroči vnetni odziv s škodljivimi učinki ob sočasni prisotnosti številnih bolezenskih stanj, kot so sladkorna bolezen, ateroskleroza, kronična ledvična bolezen in tudi nevrodegenerativne bolezni, kot je na primer Alzheimerjeva bolezen. Raziskave so pokazale, da je ob omenjenih patoloških stanjih povečano uživanje polifenolov zelo koristno, saj zmanjšujejo tvorbo AGEs ali pa modulirajo RAGE (Gonzalez in sod., 2020). Da se prepreči ali zmanjša nastanek AGEs, avtorji priporočajo obogatitev živil z naravnimi polifenoli ali pa uporabo prehranskih dodatkov (Spagnuolo in sod., 2021).

Polifenoli so našli pomembno vlogo tudi v povezavi z zdravljenjem rakavih obolenj, ki so močno razširjena, možnosti zdravljenja pa so omejene. Nedavno je bil objavljen pregledni znanstveni članek, v katerem so zbrani rezultati kliničnih študij na živalih o potencialu polifenolov za preprečevanje raka debelega črevesa. Predlaganih je več možnih pristopov, ki vključujejo uporabo flavonoidov (Afshari in sod., 2019). Mehanizmi delovanja pa daleč presegajo zgolj običajno opisano antioksidativno delovanje polifenolov. Zdi se, da so le-ti sposobni modulirati apoptotične dejavnike, kot so kaspaze ter Bax in Bcl2, ki vodijo do apoptotične smrti rakavih celic. Zmanjšajo pa tudi nekatere angiogene dejavnike, kot sta VEGF in bFGF, kar vpliva na vaskularizacijo tumorskega tkiva (Afshari in sod., 2019). Poleg tega lahko polifenoli zaradi svojih dokazanih protivnetnih lastnosti tudi spreminjajo potek raka debelega črevesa, saj se zdi, da lahko zmanjšajo aktivnost imunskih celic z znižanjem aktivnosti NF- κ B in posledično zmanjšajo sproščanje pro-vnetnih citokinov, med katere sodijo interleukina 6 in 1 β ter dejavnik tumorske nekroze alfa (TNF-alfa). Polifenoli pa imajo tudi sposobnost modulacije črevesnega mikrobioma (Long in sod., 2021).

Debelost je zlasti v najrazvitejših državah postala pomemben zdravstveni problem, predvsem zaradi povečanega tveganja za srčno-žilne bolezni, sladkorno bolezen in hipertenzijo. Izkazalo se je, da tudi v primeru debelosti lahko nekaterim polifenolom, kot sta epigalokatehin galat (EGCG) in kvercetin, pripišemo pozitivne učinke. Rezultati raziskav kažejo, da zmanjšujejo proliferacijo adipocitov *in vitro* in vgradnjo lipidov v adipocite ter zmanjšujejo telesno maso in maso maščobe pri živalskih modelih glodalcev. Raziskave na ljudeh pa so pokazale izboljšanje prehranskega statusa in nižjo raven vnetnih procesov (Carrasco-Pozo in sod., 2019). Po drugi strani pa je v nedavno objavljenem preglednem znanstvenem članku (Ohishi in sod., 2021), ki se osredotoča na raziskave učinkov polifenolov iz zelenega čaja, vina in curryja na debelost, opisanih nekaj nasprotujočih si rezultatov, saj več študij ni dokazalo pozitivnih rezultatov. Kot so poudarili avtorji, so potrebne bolj obsežne in dokončne študije, da bi ugotovili in potrdili vpliv polifenolov na razvoj/preprečevanje debelosti. Nekaj primerov vpliva polifenolov na določena obolenja in na tarčne molekule, ki so v te procese vključene, je prikazanih v preglednici 1.

Preglednica 1: Primeri delovanja polifenolov na tarčne molekule pri različnih bolezenskih stanjih

Bolezen	Polifenoli	Tarčne molekule	Vir
Diabetes	Kvercetin	TNF α , NFKB, AMPK, AKT in NRF2	(Yan in sod., 2022)
Diabetična bolezen ledvic	Polifenoli iz čaja	miR-126 in Akt-p53-p21	(Cao in sod., 2019)
Diabetična retinopatija	Različni	Preprečevanje poškodb BRB, protivnetno delovanje, preprečevanje tanjšanja mrežnice	(Matos in sod., 2020)
Skeletna mišična atrofija	Različni	Preprečevanje mitohondrijske disfunkcije	(Salucci in Falcieri, 2020)
Rak	Večinoma flavonoidi Kurkumin, EGCG, resveratrol idr.	Pomožna sredstva pri kemoterapiji Metastatska inhibicija Proliferacija celic Staranje celic	(Montane in sod., 2020) (Mitra in Bhattacharya, 2020) (Bian in sod., 2020)
Srčno-žilne bolezni/debelost	borovnice maline	NADPH-oksidaža, katalaza, SOD2, TLR4, NF-kB	(Najjar in sod., 2022)

3 POLIFENOLI IN MOŽGANI

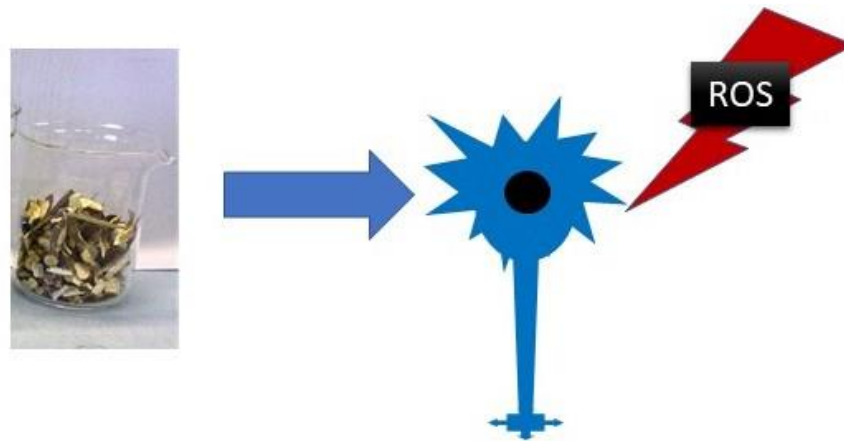
Neuroaktivni in neuroprotektivni potencial polifenolov je v preteklosti verjetno pritegnil veliko pozornost raziskovalcev zaradi tako imenovanega "francoskega paradoksa", ki je povezoval uživanje rdečega vina v Franciji z nizko incidenco srčno-žilnih bolezni (Burr, 1995). Ta pojav bi lahko razložili z antioksidativnimi lastnostmi polifenolov, še posebej resveratrola, saj je bil ugotovljen zaščitni učinek le-tega na nevrone ob sočasnemu uživanju etanola (Sun in sod., 2002). Raziskovalci po celem svetu so se kasneje lotili tudi ugotavljanja povezave med zmernim uživanjem rdečega vina in zmanjšano pojavnostjo nevrodegenerativnih bolezni, kot sta Alzheimerjeva bolezen in demenca. Rdeče vino je namreč bogat vir polifenola resveratrola, za katerega se je izkazalo, da ima neuroprotektivne lastnosti, saj preprečuje nevronske vnetje, izzvano z mikroglijo (Capiralla in sod., 2012), kar ščiti možgane pred hipoksično-ishemično poškodbo in posledično izboljša kognitivne funkcije v modelu AD (Granzotto in Zatta, 2014;

Sun in sod., 2002; West in sod., 2007; Zhang in sod., 2013).

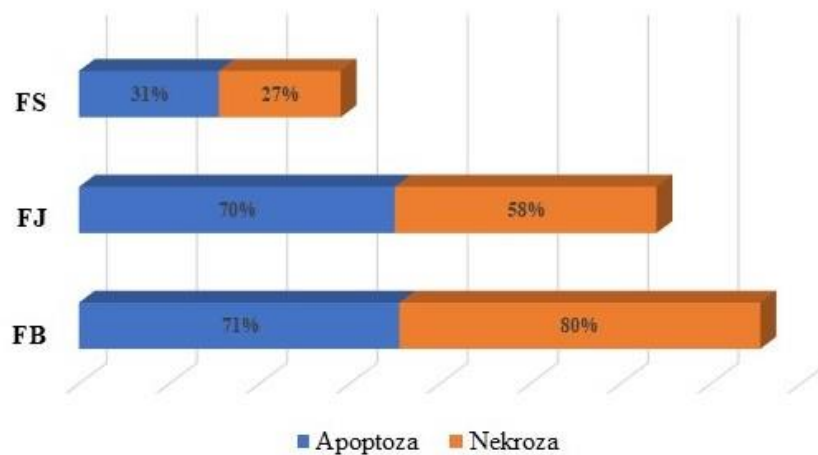
Z nevroprotektivnimi funkcijami resveratrola je povezanih več mehanizmov, kot je modulacija SIRT1, za katero se zdi, da med drugimi pomembnimi funkcijami modulira rast dendritov in aksonov, kar zmanjšuje starostno upadanje kognitivnih sposobnosti in izboljša kognitivno funkcijo (Cao in sod., 2018). Zanimivo je, da dolgotrajno sočasno uživanje resveratrola in fizična aktivnost kaže na izrazito izboljšanje vnetnih markerjev in upočasnitev propadanja nevronov, na mišjem modelu AD pa je prišlo tudi do zmanjšanja toksičnih zvrsti amiloida beta (A β) (Broderick in sod., 2020). Izkazalo se je tudi, da resveratrol lahko cepi toksične A β peptide na manjše fragmente, kar posledično pripelje do slabše agregacije amiloidnega peptida (Al-Edresi in sod., 2020). V *in vivo* študiji je, kot kažejo rezultati, do tega procesa prišlo zaradi treh dejavnikov, in sicer povečanje aktivnosti encima neprisilina, zmanjšanje BACE1, glavnega encima, povezanega z tvorbo A β , in povečanja aktivnosti celičnega proteolitičnega mehanizma (Corpas in sod., 2019).

Nevroprotektivni učinki resveratrola presegajo njegov neposredni vpliv osrednji živčni sistem, saj se zdi, da zmanjša tudi nevrovnetje, ki ga modulira NF κ B, in stres endoplazemskega retikuluma v ishemijsko-reperfuzijskem modelu periferne nevropatije. To stanje nastane zaradi zamašitve krvnih žil, ki oskrbujejo periferne živce, kot posledica vnetja in je lahko povezano z nevropatsko bolečino (Pan in sod., 2019). Tudi protein kinaza C gama je bil opisan kot mogoča tarča resveratrola, in sicer naj bi šlo za je njegovo aktivacijo kot posledico zaščite nevronov (Menard in sod., 2013). Resveratrol naj bi bil koristen tudi pri preprečevanju Parkinsonove bolezni (PD), drugi najbolj razširjeni neurodegenerativni bolezni, takoj za AD. Nedavno objavljeni pregledni znanstveni članek povzema številne predlagane nevroprotektivne mehanizme, povezane z resveratrolom, začevši z dobro poznanimi antioksidativnimi lastnostmi. Opisuje pa tudi nekaj bolj specifičnih aktivnosti, kot sta stimulacija avtofagije in modulacija mitohondrijske aktivnosti (Kung in sod., 2021).

Resveratrol se poleg grozdja in drugih vrst sadja nahaja tudi v drugih rastlinah, kot je na primer dresnik. Dresniki, ki vključujejo tri taksone, in sicer *Fallopia japonica* (FJ), *F. sachalinensis* (FS) in *F. x bohemica* (FB), so visoko invazivne rastline s hitrim agresivnim širjenjem, odporne pa so na odstranjevanje iz naravnih ekosistemov. Za življenjski prostor tekmujejo z avtohtonimi rastlinami, kar vodi do zmanjšanja biotske pestrosti in posledično do velike ogroženosti lokalnega kmetijstva in gozdarstva. Njihova rast v urbanih območjih povzroča uničenje pločnikov, cest in železnic, njihovo odstranjevanje pa prinaša veliko gospodarsko breme, zato bi lahko imela njihova uporaba v alternativne namene velik potencial (Pogačnik in sod., 2015). Zanimivo je, da so dresniki bogat vir resveratrola in polidatina (glikozilirana oblika resveratrola), polifenolnih molekul z znano biološko aktivnostjo (Lachowicz in Oszmianski, 2019). Vemo tudi, da se FJ že od antičnih časov uporablja v tradicionalni kitajski medicini za zdravljenje različnih vrst obolenj (npr. vnetne bolezni, hepatitis, tumorji, opekline in hiperlipidemija).



Zaščita pred celično smrtjo



Slika 1: Nevroprotektivni učinki izvlečkov dresnika (0,01 mg suhega ekstrakta/mL) v diferencirani nevronske celične liniji SH-SY5. FJ, *Fallopia japonica*; FS, *Fallopia sachalinensis*; FB, *Fallopia x bohemica*; ROS, reaktivne kisikove zvrsti.

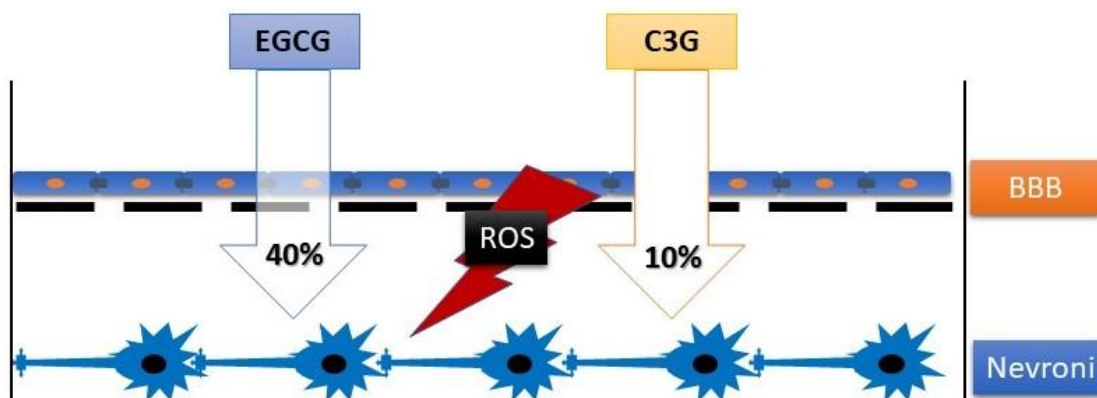
Preliminarni rezultati naše študije, ki je preučevala izvlečke korenin vseh treh taksonov dresnikov, kažejo, da lahko le-ti zaščitijo celično kulturo nevronov pred oksidativnimi poškodbami (slika 1), imajo pa tudi antidiabetično aktivnost, saj uspešno inhibirajo encim α -amilazo, ki sodeluje pri razgradnji škroba (Pogačnik in sod., 2020).

Rezultati različnih študij kažejo, da bi bila vključitev fenolnih spojin (npr. resveratrola) v vsakodnevno prehrano ali njihova uporaba v obliki prehranskih dopolnil, nutracevtikov (Virmani in sod., 2013) ali kot farmakološka zdravila obetaven pristop pri preprečevanju različnih neurodegenerativnih bolezni (Oppedisano in sod., 2020). Raziskave na tem področju pa so zapletene zaradi različne biološke dostopnosti teh molekul (Di Lorenzo in sod., 2021; Gerardi in sod., 2020; Lewandowska in sod., 2013; Pandareesh in sod., 2015), zato so študije, ki zasledujejo pot teh snovi in njihove pretvorbe v telesu, preden dosežejo ciljno tkivo (v primeru neurodegenerativnih bolezni so to možgani), izjemnega pomena (Carecho in sod., 2021).

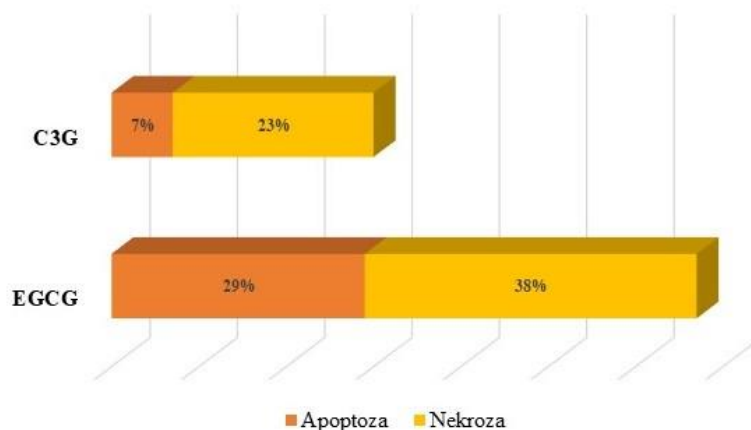
Z uporabo celičnega modela *in vitro*, ki temelji na uporabi mikrovaskularnih endotelijskih celic človeških možganov (HBMEC), smo v naši predhodni študiji (Pogacnik in sod., 2016)

posnemali krvno-možgansko pregrado (BBB). Rezultati so pokazali, da sta EGCG in cianidin-3-glukozid (C3G) z različno kinetiko dosegla "možganski" predel, pri čemer je bila hitrost prehajanja za molekulo C3G veliko manjša (10 % učinkovitost transporta po 6 h) kot za molekulo EGCG (40 % učinkovitost po 1 uri). V isti študiji je bilo tudi pokazano, da obe molekuli učinkovito ščitita nevrone pred apoptotično in nekrotično celično smrtjo, ki jo povzročajo ROS (slika 2). Ugotovljeno bilo tudi, da EGCG in izvleček zelenega čaja podobno kot resveratrol kažeta sposobnost zaviranja agregacije A β peptidov (Zhan in sod., 2020; Zhang in sod., 2013), kar bi lahko prispevalo k zmanjšanju kognitivnih motenj (Rezai-Zadeh in sod., 2008).

Nedavno je bilo tudi dokazano, da EGCG spodbuja tvorbo netoksičnih α -sinukleinskih oligomerov, ki imajo potencialni profilaktični ali terapevtski učinek pri PD (Yang in sod., 2017). Podobno kot resveratrol in EGCG ima lahko tudi kurkumin koristne učinke na PD, saj zmanjšuje kopičenje α -sinukleina in spodbuja avtofagijo (He in sod., 2022). V nedavnem preglednem znanstvenem članku so zbrani rezultati najpomembnejših predkliničnih študij *in vitro* in *in vivo* o vplivu polifenolnih spojin na PD (Giuliano in Cerri 2021). Pred kratkim so bili objavljeni tudi rezultati študij, ki so preučevale potencialne profilaktične in terapevtske učinke polifenolov na razvoj in potek drugih nevrodegenerativnih bolezni, kot so amiotrofična lateralna skleroza (Novak in sod., 2021) in ishemična možganska kap (Subedi in Gaire, 2021; Zhou in sod., 2021).



Zaščita pred celično smrtjo



Slika 2: Razpoložljivost za možgane in zaščita nevronov za molekuli epigalokatehin galat (EGCG) in cianidin-3-glukozid (C3G). BBB, model krvno-možganske pregrade; ROS, reaktivne kisikove zvrsti.

Kljub številnim študijam, ki so se osredotočile na ugotavljanje pomena različnih virov polifenolnih spojin, kot so vsakodnevna prehrana, prehranska dopolnila ali zdravila (Poti in sod., 2019; Silva in Pogacnik, 2020), ki lahko zaščitijo nevrone (Anwar in sod., 2021; Bobadilla in sod., 2021; Costa in sod., 2016; Pontifex in sod., 2021; Robinson in sod., 2021; Solanki in sod., 2015; Uddin in sod., 2020) in druge tarče polifenolov (Jazvinscak Jembrek in sod., 2021), ki zmanjšajo naše kognitivne zmožnosti (Caruso in sod., 2022a; Caruso in sod., 2022b; Jurcau, 2021), še vedno ni znano, ali lahko ti izdelki naravno povečajo našo notranjo obrambo možganov in s tem preprečijo ali vsaj zmanjšajo začetne poškodbe možganov, kar vodi v nevrodegenerativni proces. Mogoča je tudi povezava med prehrano in proliferacijo v nevrogenih področjih (Perez-Martin in sod., 2016) ter povezava med okvaro nevrogeneze in nevroinflamacijo (Fan in Pang, 2017). Kot inovativna terapija za nevrodegenerativne bolezni poteka tudi preučevanje matičnih celic. Zdi se, da kombinacija te terapije z dodajanjem polifenolnih spojin izboljša preživetje in diferenciacijo teh celic, kar povečuje možno terapevtsko uporabo (Rodriguez-Vera in sod., 2022).

Vse več raziskav poteka tudi na področju ugotavljanja epigenetske modulacije kot posledice uživanja prehranskih polifenolov (Grinan-Ferre in sod., 2021), in sicer kot modulacija pro- in protivnetnih mikroRNA (Tili in Michaille, 2016) ter metilacija DNA in histonov (Boyanapalli in Tony Kong, 2015). Te ugotovitve nam dajejo upanje, da lahko z modulacijo nevronskih prekursorjev zmanjšamo upad kognitivnih zmožnosti, povezanih z naravnim staranjem ali z nevrodegenerativnimi boleznimi, in predstavljajo obetavno področje nadaljnjih raziskav.

4 ZAKLJUČEK

Veliko dokazov govori v prid pozitivnim učinkom prehranskih polifenolov na več kroničnih človeških obolenj, povezanih z oksidativnim stresom, vnetjem ali agregacijo peptidov, od raka in srčno-žilnih bolezni do nevrodegenerativnih bolezni. Te molekule so prisotne v številnih prehranskih virih, še posebej v sadju in zelenjavi, in jih lahko zaužijemo kot del redne prehrane ali v obliki prehranskih dopolnil, nutracevtikov in/ali zdravil. Kljub številnim dosedaj znanim mehanizmom delovanja polifenolnih spojin so potrebne nadaljnje raziskave, ki bodo odgovorile na vprašanja o različni biološki razpoložljivosti polifenolov, o sinergističnih učinkih različnih fenolnih spojin v istem živilu in o različni vsebnosti polifenolov v enakih ali podobnih živilih. Potrebni je tudi več kliničnih raziskav, ki bodo raziskale učinkovitost posameznih polifenolnih spojin glede na zaužit odmerke in njihovo dejansko učinkovitost pri posameznih bolezenskih stanjih. In nenazadnje, vejamemo, da bo prehrana, ki bo v prihodnje vsebovala več s polifenoli bogatih živil, po vsej verjetnosti izboljšala zdravje splošne svetovne populacije in bo vplivala na zakasnitev ali celo na preprečevanje pojava nevrodegeneracije.

5 VIRI

- Afshari K., Haddadi N. S., Haj-Mirzaian A., Farzaei M. H., Rohani M. M. in sod. 2019. Natural flavonoids for the prevention of colon cancer: A comprehensive review of preclinical and clinical studies. *J Cell Physiol*, 234, 21519-21546
- Al-Edresi S., Alsalahat I., Freeman S., Aojula H., Penny J. 2020. Resveratrol-mediated cleavage of amyloid beta1-42 peptide: potential relevance to Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 94, 24-33

- Anwar H. M., Georgy G. S., Hamad S. R., Badr W. K., El Raey M. A. in sod. 2021. A Leaf Extract of *Harrisonia abyssinica* Ameliorates Neurobehavioral, Histological and Biochemical Changes in the Hippocampus of Rats with Aluminum Chloride-Induced Alzheimer's Disease. *Antioxidants (Basel)*, 10, 6: 947
- Bian Y., Wei J., Zhao C., Li G. 2020. Natural Polyphenols Targeting Senescence: A Novel Prevention and Therapy Strategy for Cancer. *Int J Mol Sci*, 21, 2: 684
- Bobadilla M., Garcia-Sanmartin J., Martinez A. 2021. Natural Food Supplements Reduce Oxidative Stress in Primary Neurons and in the Mouse Brain, Suggesting Applications in the Prevention of Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants (Basel)*, 10, 1: 46
- Boyanapalli S. S., Tony Kong A. N. 2015. "Curcumin, the King of Spices": Epigenetic Regulatory Mechanisms in the Prevention of Cancer, Neurological, and Inflammatory Diseases. *Curr Pharmacol Rep*, 1, 2: 129-139
- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*, 56, 11: 317-33
- Brimson J. M., Prasanth M. I., Malar D. S., Thitilertdecha P., Kabra A. in sod. 2021. Plant Polyphenols for Aging Health: Implication from Their Autophagy Modulating Properties in Age-Associated Diseases. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14, 10: 982
- Broderick T. L., Rasool S., Li R., Zhang Y., Anderson M. in sod. 2020. Neuroprotective Effects of Chronic Resveratrol Treatment and Exercise Training in the 3xTg-AD Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*, 21, 19: 7337
- Bucciantini M., Leri M., Nardiello P., Casamenti F., Stefani M. 2021. Olive Polyphenols: Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties. *Antioxidants (Basel)*, 10, 7: 1044
- Burr M. L. 1995. Explaining the French paradox. *Journal of the Royal Society of Health*, 115, 4: 3
- Cahill S. 2020. WHO's global action plan on the public health response to dementia: some challenges and opportunities. *Aging Ment Health*, 24, 2: 197-199
- Cao D., Zhao M., Wan C., Zhang Q., Tang T. in sod. 2019. Role of tea polyphenols in delaying hyperglycemia-induced senescence in human glomerular mesangial cells via miR-126/Akt-p53-p21 pathways. *Int Urol Nephrol*, 51, 6: 1071-1078
- Cao W., Dou Y., Li A. 2018. Resveratrol Boosts Cognitive Function by Targeting SIRT1. *Neurochem Res*, 43, 9: 1705-1713
- Capiralla H., Vingtdoux V., Zhao H., Sankowski R., Al-Abed Y. in sod. 2012. Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and Abeta-mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF-kappaB/STAT signaling cascade. *J. Neurochem.*, 120, 3: 461-472
- Carecho R., Figueira I., Terrasso A. P., Godinho-Pereira J., de Oliveira Sequeira C. in sod. 2021. Circulating (Poly)phenol Metabolites: Neuroprotection in a 3D Cell Model of Parkinson's Disease. *Mol Nutr Food Res*, e2100959
- Carrasco-Pozo C., Cires M. J., Gotteland M. 2019. Quercetin and Epigallocatechin Gallate in the Prevention and Treatment of Obesity: From Molecular to Clinical Studies. *J Med Food*, 22, 8: 753-770
- Caruso G., Godos J., Privitera A., Lanza G., Castellano S. in sod. 2022a. Phenolic Acids and Prevention of Cognitive Decline: Polyphenols with a Neuroprotective Role in Cognitive Disorders and Alzheimer's Disease. *Nutrients*, 14, 4: 819
- Caruso G., Torrisi S. A., Mogavero M. P., Currenti W., Castellano S. in sod. 2022b. Polyphenols and neuroprotection: Therapeutic implications for cognitive decline. *Pharmacol Ther*, 232, 108013
- Corpas R., Grinan-Ferre C., Rodriguez-Farre E., Pallas M., Sanfeliu C. 2019. Resveratrol Induces Brain Resilience Against Alzheimer Neurodegeneration Through Proteostasis Enhancement. *Mol Neurobiol*, 56, 2: 1502-1516

- Costa S. L., Silva V. D., Dos Santos Souza C., Santos C. C., Paris I. in sod. 2016. Impact of Plant-Derived Flavonoids on Neurodegenerative Diseases. *Neurotox Res*, 30, 1: 41-52
- Di Lorenzo C., Colombo F., Biella S., Stockley C., Restani P. 2021. Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients*, 13, 1: 273
- Fan L. W., Pang Y. 2017. Dysregulation of neurogenesis by neuroinflammation: key differences in neurodevelopmental and neurological disorders. *Neural Regen Res*, 12, 3: 366-371
- Garcia-Conesa M. T., Larrosa M. 2020. Polyphenol-Rich Foods for Human Health and Disease. *Nutrients*, 12, 2: 400
- Gerardi G., Cavia-Saiz M., Rivero-Perez M. D., Gonzalez-SanJose M. L., Muniz P. 2020. The dose-response effect on polyphenol bioavailability after intake of white and red wine pomace products by Wistar rats. *Food Funct*, 11, 2: 1661-1671
- Godos J., Castellano S., Ray S., Grosso G., Galvano F. 2018. Dietary Polyphenol Intake and Depression: Results from the Mediterranean Healthy Eating, Lifestyle and Aging (MEAL) Study. *Molecules*, 23, 5: 999
- Godos J., Marventano S., Mistretta A., Galvano F., Grosso G. 2017. Dietary sources of polyphenols in the Mediterranean healthy Eating, Aging and Lifestyle (MEAL) study cohort. *Int J Food Sci Nutr*, 68, 6: 750-756
- Gonzalez I., Morales M. A., Rojas A. 2020. Polyphenols and AGEs/RAGE axis. Trends and challenges. *Food Res Int*, 129, 108843
- Granzotto A., Zatta P. 2014. Resveratrol and Alzheimer's disease: message in a bottle on red wine and cognition. *Front Aging Neurosci*, 6: 95
- Grinan-Ferre C., Bellver-Sanchis A., Izquierdo V., Corpas R., Roig-Soriano J. in sod. 2021. The pleiotropic neuroprotective effects of resveratrol in cognitive decline and Alzheimer's disease pathology: From antioxidant to epigenetic therapy. *Ageing Res Rev*, 67, 101271
- Hano C., Tungmunnithum D. 2020. Plant Polyphenols, More than Just Simple Natural Antioxidants: Oxidative Stress, Aging and Age-Related Diseases. *Medicines (Basel)*, 7, 5: 26
- He H. J., Xiong X., Zhou S., Zhang X. R., Zhao X. in sod. 2022. Neuroprotective effects of curcumin via autophagy induction in 6-hydroxydopamine Parkinson's models. *Neurochem Int*, 155, 105297
- Jazvinscak Jembrek M., Orsolic N., Mandic L., Sadzak A., Segota S. 2021. Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Effects of Flavonols: Targeting Nrf2, NF-kappaB and p53 Pathways in Neurodegeneration. *Antioxidants (Basel)*, 10, 10: 1628
- Jurcau A. 2021. The Role of Natural Antioxidants in the Prevention of Dementia-Where Do We Stand and Future Perspectives. *Nutrients*, 13, 2: 282
- Kung H. C., Lin K. J., Kung C. T., Lin T. K. 2021. Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Neuroprotection of Polyphenols with Respect to Resveratrol in Parkinson's Disease. *Biomedicines*, 9, 8: 918
- Lachowicz S., Oszmianski J. 2019. Profile of Bioactive Compounds in the Morphological Parts of Wild *Fallopia japonica* (Houtt) and *Fallopia sachalinensis* (F. Schmidt) and Their Antioxidative Activity. *Molecules*, 24, 7: 1436
- Lewandowska U., Szweczyk K., Hrabec E., Janecka A., Gorlach S. 2013. Overview of metabolism and bioavailability enhancement of polyphenols. *J Agric Food Chem*, 61, 50: 12183-99
- Long J., Guan P., Hu X., Yang L., He L. in sod. 2021. Natural Polyphenols as Targeted Modulators in Colon Cancer: Molecular Mechanisms and Applications. *Front Immunol*, 12, 635484
- Marino M., Del Bo' C., Martini D., Porrini M., Riso P. 2020. A Review of Registered Clinical Trials on Dietary (Poly)Phenols: Past Efforts and Possible Future Directions. *foods*, 9, 11: 1606
- Matos A. L., Bruno D. F., Ambrosio A. F., Santos P. F. 2020. The Benefits of Flavonoids in Diabetic Retinopathy. *Nutrients*, 12, 10: 3169

- Menard C., Bastianetto S., Quirion R. 2013. Neuroprotective effects of resveratrol and epigallocatechin gallate polyphenols are mediated by the activation of protein kinase C gamma. *Front Cell Neurosci*, 7: 281
- Mitra T., Bhattacharya R. 2020. Phytochemicals modulate cancer aggressiveness: A review depicting the anticancer efficacy of dietary polyphenols and their combinations. *J Cell Physiol*, 235, 11:7696-7708
- Montane X., Kowalczyk O., Reig-Vano B., Bajek A., Roszkowski K.in sod. 2020. Current Perspectives of the Applications of Polyphenols and Flavonoids in Cancer Therapy. *Molecules*, 25, 15: 3342
- Najjar R. S., Knapp D., Wanders D., Feresin R. G. 2022. Raspberry and blackberry act in a synergistic manner to improve cardiac redox proteins and reduce NF-kappaB and SAPK/JNK in mice fed a high-fat, high-sucrose diet. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, in press
- National National Institute on Aging 2021. Basics of Alzheimer's Disease and Dementia; What is Dementia? Symptoms, Types, And Diagnosis. <https://www.nia.nih.gov/health/what-is-dementia> (24. 5. 2022)
- Noble W., Burns M. P. 2010. Challenges in neurodegeneration research. *Frontiers in Psych.*, 1, 7: 1-2
- Novak V., Rogelj B., Zupunski V. 2021. Therapeutic Potential of Polyphenols in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia. *Antioxidants (Basel)*, 10, 8: 1328
- Ohishi T., Fukutomi R., Shoji Y., Goto S., Isemura M. 2021. The Beneficial Effects of Principal Polyphenols from Green Tea, Coffee, Wine, and Curry on Obesity. *Molecules*, 26, 2: 453
- Oppedisano F., Maiuolo J., Gliozzi M., Musolino V., Carresi C.in sod. 2020. The Potential for Natural Antioxidant Supplementation in the Early Stages of Neurodegenerative Disorders. *Int J Mol Sci*, 21, 7: 2618
- Pan P. T., Lin H. Y., Chuang C. W., Wang P. K., Wan H. C.in sod. 2019. Resveratrol alleviates nuclear factor-kappaB-mediated neuroinflammation in vasculitic peripheral neuropathy induced by ischemia-reperfusion via suppressing endoplasmic reticulum stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 46, 8:770-779
- Pandareesh M. D., Mythri R. B., Srinivas Bharath M. M. 2015. Bioavailability of dietary polyphenols: Factors contributing to their clinical application in CNS diseases. *Neurochem Int*, 89, 198-208
- Patel S. S., Acharya A., Ray R. S., Agrawal R., Raghuvanshi R.in sod. 2019. Cellular and molecular mechanisms of curcumin in prevention and treatment of disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1-53
- Perez-Martin M., Rivera P., Blanco E., Lorefice C., Decara J.in sod. 2016. Environmental Enrichment, Age, and PPARalpha Interact to Regulate Proliferation in Neurogenic Niches. *Front Neurosci*, 10: 89
- Pogačnik L., Ota A., Ulrich N. P. 2020. An Overview of Crucial Dietary Substances and Their Modes of Action for Prevention of Neurodegenerative Diseases. *Cells*, 9, 3: 576
- Pogačnik L., Pirc K., Palmela I., Skrt M., Kim K. S.in sod. 2016. Potential for brain accessibility and analysis of stability of selected flavonoids in relation to neuroprotection in vitro. *Brain Res*, 1651, 17-26
- Pogačnik L., Rogelj A., Ulrich N. P. 2015. Chemiluminescence Method for Evaluation of Antioxidant Capacities of Different Invasive Knotweed Species. *Analytical Letters*, 49, 3: 350-363
- Pogačnik L. B., T.; Skrt, M.; Ulrich, N.P.; Viktorová, J.; Ruml, T. 2020. In vitro comparison of bioactivities of Japanese and Bohemian knotweed ethanol extracts. *Foods*, 9: 12
- Pontifex M. G., Malik M., Connell E., Muller M., Vauzour D. 2021. Citrus Polyphenols in Brain Health and Disease: Current Perspectives. *Front Neurosci*, 15, 640648
- Poti F., Santi D., Spaggiari G., Zimetti F., Zanotti I. 2019. Polyphenol Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Disorders: A Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*, 20, 2: 351

- Rezai-Zadeh K., Arendash G. W., Hou H., Fernandez F., Jensen M. in sod. 2008. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces beta-amyloid mediated cognitive impairment and modulates tau pathology in Alzheimer transgenic mice. *Brain Res*, 1214, 177-87
- Robinson J. L., Yanes J. A., Reid M. A., Murphy J. E., Busler J. N. in sod. 2021. Neurophysiological Effects of Whole Coffee Cherry Extract in Older Adults with Subjective Cognitive Impairment: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Cross-Over Pilot Study. *Antioxidants (Basel)*, 10, 2: 144
- Rodriguez-Vera D., Abad-Garcia A., Vargas-Mendoza N., Pinto-Almazan R., Farfan-Garcia E. D. in sod. 2022. Polyphenols as potential enhancers of stem cell therapy against neurodegeneration. *Neural Regen Res*, 17, 10: 2093-2101
- Roman G. C., Jackson R. E., Gadhia R., Roman A. N., Reis J. 2019. Mediterranean diet: The role of long-chain omega-3 fatty acids in fish; polyphenols in fruits, vegetables, cereals, coffee, tea, cacao and wine; probiotics and vitamins in prevention of stroke, age-related cognitive decline, and Alzheimer disease. *Rev Neurol (Paris)*, 175, 10: 724-741
- Salucci S., Falcieri E. 2020. Polyphenols and their potential role in preventing skeletal muscle atrophy. *Nutr Res*, 74, 10-22
- Schraufstatter E., Bernt H. 1949. Antibacterial action of curcumin and related compounds. *Nature*, 164, 4167: 456
- Silva R. F. M., Pogacnik L. 2020. Polyphenols from Food and Natural Products: Neuroprotection and Safety. *Antioxidants (Basel)*, 9, 1: 61
- Singh M., Arseneault M., Sanderson T., Murthy V., Ramassamy C. 2008. Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 13: 4855-4873
- Solanki I., Parihar P., Mansuri M. L., Parihar M. S. 2015. Flavonoid-Based Therapies in the Early Management of Neurodegenerative Diseases. *Adv Nutr*, 6, 1: 64-72
- Spagnuolo L., Della Posta S., Fanali C., Dugo L., De Gara L. 2021. Antioxidant and Antiglycation Effects of Polyphenol Compounds Extracted from Hazelnut Skin on Advanced Glycation End-Products (AGEs) Formation. *Antioxidants (Basel)*, 10, 3: 424
- Subedi L., Gaire B. P. 2021. Neuroprotective Effects of Curcumin in Cerebral Ischemia: Cellular and Molecular Mechanisms. *ACS Chem Neurosci*, 12, 14: 2562-2572
- Sun A. Y., Simonyi A., Sun G. Y. 2002. The "French Paradox" and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radic. Biol. Med.*, 32, 4: 314-318
- Tili E., Michaille J. J. 2016. Promiscuous Effects of Some Phenolic Natural Products on Inflammation at Least in Part Arise from Their Ability to Modulate the Expression of Global Regulators, Namely microRNAs. *Molecules*, 21, 9: 1263
- Tresserra-Rimbau A. 2020. Dietary Polyphenols and Human Health. *Nutrients*, 12, 9: 2893
- Uddin M. S., Al Mamun A., Kabir M. T., Ahmad J., Jeandet P. in sod. 2020. Neuroprotective role of polyphenols against oxidative stress-mediated neurodegeneration. *Eur J Pharmacol*, 886, 173412
- Virmani A., Pinto L., Binienda Z., Ali S. 2013. Food, nutrigenomics, and neurodegeneration--neuroprotection by what you eat! *Mol Neurobiol*, 48, 2: 353-62
- West T., Atzeva M., Holtzman D. M. 2007. Pomegranate polyphenols and resveratrol protect the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury. *Dev. Neurosci.*, 29, 4-5: 363-372
- Yan L., Vaghari-Tabari M., Malakoti F., Moein S., Qujeq D. in sod. 2022. Quercetin: an effective polyphenol in alleviating diabetes and diabetic complications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1-24
- Yang J. E., Rhoo K. Y., Lee S., Lee J. T., Park J. H. in sod. 2017. EGCG-mediated Protection of the Membrane Disruption and Cytotoxicity Caused by the 'Active Oligomer' of alpha-Synuclein. *Sci Rep*, 7, 1: 17945

- Zhan C., Chen Y., Tang Y., Wei G. 2020. Green Tea Extracts EGCG and EGC Display Distinct Mechanisms in Disrupting Abeta42 Protofibril. *ACS Chem Neurosci*, 11, 12: 1841-1851
- Zhang F., Wang H., Wu Q., Lu Y., Nie J. in sod. 2013. Resveratrol protects cortical neurons against microglia-mediated neuroinflammation. *Phytother Res*, 27, 3: 344-9
- Zhang T., Zhang J., Derreumaux P., Mu Y. 2013. Molecular mechanism of the inhibition of EGCG on the Alzheimer Abeta(1-42) dimer. *J Phys Chem B*, 117, 15: 3993-4002
- Zhou Y., Zhang S., Fan X. 2021. Role of Polyphenols as Antioxidant Supplementation in Ischemic Stroke. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 5471347

HRANA, NAČIN PREHRANJEVANJA IN DUŠEVNO ZDRAVJE

Borče MICEV¹

Povzetek: Duševne motnje predstavljajo globalni javnozdravstveni problem, predvsem zaradi obsežnega vpliva na zdravje in kakovost življenja posameznika, vplivajo pa tudi na njegovo funkcionalnost in življenjsko produktivnost. Na globalni ravni beležimo naraščanje pojavnosti duševnih motenj v vseh starostnih obdobjih, kar potrjuje dejstvo, da je potrebno posvetiti še več pozornosti različnim dejavnikom nastajanja in vzdrževanja motenj ter razviti še bolj celosten pristop pri krepitvi duševnega zdravja. V splošni populaciji že od nekdaj velja prepričanje o povezanosti med načinom prehranjevanja s počutjem in duševnim zdravjem, kar pa pogosto nima trdega znanstvenega ozadja. Na podlagi dosedanjih študij težko dokažemo vzročne povezave med hrano in razvijanjem duševnih bolezni in si tako tudi težko razložimo natančne mehanizme. Šele v zadnjem času narašča število kakovostno zastavljenih in obsežnih raziskav, ki opozarjajo na pomembno povezanost med hrano, načinom prehranjevanja na preprečevanje duševnih bolezni, ter pod določenimi pogoji tudi možnost zdravljenja določenih duševnih motenj v vseh starostnih obdobjih. Najbolj raziskana je povezanost med vplivom hrane na razpoloženje in depresivne razpoloženske motnje, opisane so tudi povezave z drugimi duševnimi motnjami, ki pa so zaenkrat manj prepričljive. Kljub temu, da je področje nutricionistične psihiatrije še v povojih, vseeno predstavlja pomembno osnovo za nadaljnjo raziskovanje, ki je vedno bolj usmerjeno k razumevanju posameznih mehanizmov vpliva hrane in prehranjevanja na možganske funkcije. Vse to odpira nove možnosti za implementacijo različnih, z dokazi podprtih intervencij, ki bi lahko pomembno prispevale k celostnem pristopu preprečevanja in zdravljenja duševnih bolezni, lahko pa nova dognanja služijo tudi kot izhodišče za urejanje javnozdravstvenih strategij za krepitev duševnega zdravja populacije.

Ključne besede: duševno zdravje, prehrana, mikrobiota, nutricionistična psihiatrija, depresija

FOOD, DIET, AND MENTAL HEALTH

Abstract: The burden of mental health disorders grows with a significant impact on an individual's health and productivity and the quality of living. The increasing prevalence of mental health problems at any age might be a call for new approaches for straightening mental health and preventing severe psychiatric disorders. There are common beliefs about the health effects of certain foods and diets on well-being and mental health that are not necessarily supported by solid scientific evidence. Current data do not provide information about causality but there is an increasing number of scientific evidence between nutrition and mental health disorders, especially depressive disorder. That might be a start of a new era that can add new possibilities in the prevention or even treatment of mental illnesses. The emerging field of nutritional psychiatry offers promise for further development of quality scientific evidence for understanding the influence of nutrition on brain function and mental health and provide new possibilities for developing novel, evidence-based interventions in the future that might help the prevention and treatment of the mental health disorders that can be used on individual level or can influence prevention programs and food policy for improving the health of the population.

Key words: mental health, diet, microbiota, nutritional psychiatry, depression

¹ dr.med, Služba za otroško psihiatrijo, Pediatrična klinika, Bohoričeva ulica 20 Ljubljana, Univerzitetni klinični center Ljubljana, e-mail: borce.micev@kclj.si

1 UVOD

Opažanja, da imata hrana in način prehranjevanja pomemben vpliv na zdravje človeka, lahko zasledimo že v zapisih iz antične Grčije. Razvoj, struktura in funkcioniranje vsake celice in organskih sistemov je odvisen od dostopnosti in kakovosti hranil (Georgieff in sod., 2018). Povezava med načinom prehranjevanja in fiziološkimi oziroma patofiziološkimi procesi v telesu postaja vedno bolj pomembna. Danes vemo, da lahko s točno določeno dieto pomembno vplivamo, morda preprečimo, omejimo, ali celo zdravimo, določeno bolezen (Downer in sod., 2020).

V zadnjem času je tudi vedno več podatkov o vlogi hrane pri nastajanju ali preprečevanju duševnih motenj v vseh starostnih obdobjih (Adan in sod., 2019; Generoso in sod., 2021). V splošni javnosti prevladuje prepričanje, da hrana, oziroma način prehranjevanja, pomembno vplivata na človekovo počutje, razpoloženje in kognitivno funkcioniranje. Ob povečanem zanimanju in številnih objavah v strokovnih in poljudnih revijah, lahko dobimo vtis, da je prepričanje utemeljeno s trdnimi znanstvenimi dokazi (Adan in sod., 2019). Kljub porastu zanimanja za to področje in napredku pri razumevanju nastajanja duševnih motenj, še naprej ostaja izziv dokazati vzročnost in povezanost med hrano in načinom prehranjevanja ter razvojem duševnih motenj (Adan in sod., 2019; Marx in sod., 2017). Od tod izhaja tudi jasna potreba po nadaljnem kakovostnem raziskovanju tega zelo obetavnega področja. Tako je postopoma začela nastajati nutricionistična psihiatrija (Sarris, 2019), ki si je kot primarni cilj zadala ureditev področja in zastavljanja kakovostne znanstvene baze, ki bi prinašala preverjena znanja in odpirala možnosti za nadaljnje raziskave in nenazadnje tudi implementacijo pridobljenih znanj pri obravnavi duševnih motenj v vseh starostih (Jacka, 2017; Sarris, 2019). V zadnjem času so začele nastajati prospektivne in intervencijske študije, ki potrjujejo povezanost in vpliv hrane na duševne motnje (Marx in sod., 2017). Imamo vedno več dokazov, da je lahko način prehranjevanja pomemben varovalni in preventivni dejavnik predvsem pred nastankom depresivnih razpoloženskih motenj. In kljub temu, da je še prezgodaj govoriti o hrani, kot integriranem delu zdravljenja večino duševnih motenj, smo morda na začetku novega obdobja, ki bo v prihodnosti prinesel še bolj celovit in integriran pristop h krepitvi duševnega zdravja posameznika in družbe (Adan in sod., 2019; Marx in sod., 2017).

To je še posebej pomembno v času, ko beležimo pospešen trend naraščanja pojavnosti duševnih motenj v vseh starostnih obdobjih (WHO, 2019). Duševne motnje so veliko breme, tako za posameznika kot za družbo. Poleg neznosnega bremena bolezni, ki pomembno zmanjšuje kakovost življenja in funkcionalnost posameznika in povečuje verjetnost nastajanja pridruženih bolezenskih procesov, duševne motnje že sedaj spadajo med pomembnejše javnozdravstvene probleme na globalnem nivoju. Posledice duševnih motenj močno obremenjujejo družbo in zmanjšujejo njeno učinkovitost in razvoj (Chisholm in sod., 2016; Whiteford in sod., 2015).

Iz tega je tudi jasna potreba, da moramo kot družba posvetiti več pozornosti prepoznavanju, zdravljenju in predvsem preventivi duševnih motenj v vseh starostih, še posebej v zgodnjem obdobju. In če sedaj vemo, da so pri nastajanju duševnih motenj praviloma vpleteni številni dejavniki, je povsem logično in upravičeno vlaganje v raziskovanje vpliva okoljskih dejavnikov. Še posebej na področju prehranjevanja, kjer je veliko potenciala za razvoj

učinkovitih intervencij, ki so lahko namenjene posameznikom ali pa tudi širši populaciji preko javnozdravstvenih ukrepov. Na takšen način je mogoče prispevati k izboljšanju duševnega zdravja in preprečevanju hujših duševnih motenj.

Napredek na področju razumevanja možgansko-črevesne povezave z mikrobioto in zapletenih medsebojnih interakcij in mehanizmov vpliva hrane (Cryan in sod., 2019) vpliva upanje, da bomo v bližji prihodnosti, v njihovo celostno obravnavo vključevali še z dokazi podprte prehranske intervencije.

2 MOŽGANSKO-ČREVESNA POVEZAVA IN VPLIV MIKROBIOTE

Na področju psihiatrije je dolgo časa veljalo prepričanje, da v večini primerov psihiatrične motnje nastanejo zaradi patofizioloških sprememb izključno v možganih. Na takšen način se je v veliki meri zanemarjala pomembnost ostalih telesnih sistemov pri nastajanju motnje. V zadnjem času je vedno več raziskav, ki potrjujejo in opozarjajo na enotnost telesa in kompleksnost povezave možganov z drugimi sistemi. Pri tem veliko pozornosti pritegne ravno povezava in komunikacija med živčnim sistemom in prebavili (Bastiaanssen in sod., 2019). Govorimo o dvosmerni komunikaciji, ki poteka tako preko nevrološke povezave kot tudi bolj posredno, preko nevroendokrinoloških, vnetnih in imunoloških sprememb (Breit in sod., 2018). Nevrološka povezava med črevesjem in možgani v večji meri poteka preko vagusnega živca, ki je del parasimpatičnega živčnega sistema in predstavlja najbolj neposredno povezavo, ki ima tako aferentni kot eferentni del (Breit in sod., 2018). Po drugi strani pa poteka tudi posredna, aferentna komunikacija preko imunskih mediatorjev, črevesnih hormonov ter mikrobiotnimi metaboliti. Obratno možgani komunicirajo in pošiljajo signale preko eferentnih poti simpatičnega in parasimpatičnega sistema ter preko nevroendokrinološke aktivacije hipotalamusno – hipofizno - adrenalne osi (Farzi in sod., 2018).

V tej kompleksni povezovalni zanki dodatno kompleksnost prinašajo še živi mikroorganizmi, ki so prisotni praktično od rojstva, naseljeni so na površino človekovih prebavil in gradijo sistem, ki ga poimenujemo mikrobiota. Gre za veliko število, približno 10^{14} mikroorganizmov, ki vključuje tako bakterijske kot tudi virusne in mikroevkariotske kulture (Gilbert in sod., 2018; Sekirov in sod., 2010). Mikrobiota se aktivno prepleta in na določen način tudi modulira interakcijo med prebavili in možgani, preko več različnih metabolnih, nevromodulatornih in vnetnih poti (Generoso in sod., 2021). Kljub temu, da še vedno niso poznani natančni mehanizmi delovanja osi mikrobiota – črevesje – možgani, se predvideva, da ima mikrobiota pomembno vlogo pri razvoju nevropsihiatričnih motenj (Generoso in sod., 2021). Lahko rečemo, da različni dejavniki vplivajo na strukturo mikrobiote pri posamezniku (Cryan in sod., 2019).

3 POTENCIALNI MEHANIZMI VPLIVA HRANE NA MOŽGANSKE FUNKCIJE IN DUŠEVNE MOTNJE

Še vedno ne poznamo točnih mehanizmov kako določena hranila ali način prehranjevanja vplivajo na določene možganske funkcije, ki so pomembne pri nastajanju duševnih ali razvojnih motenj (Marx in sod., 2017). Na podlagi dosedanjih ugotovitev se predpostavlja, da se v

etiogenezi prepleta več različnih poti. Med njimi so zagotovo najbolj raziskani vnetni procesi, vloga oksidativnega stresa ter vpliv hrane na neurogenezo (Mörkl in sod., 2020; Schwingshackl in Hoffmann, 2014). Način prehranjevanja in diete lahko predstavljajo pomemben dejavnik, ki lahko vpliva na razvoj kroničnega, vendar »tihega« in neintenzivnega vnetnega procesa, ki se pogosto pojavlja pri številnih duševnih motnjah (Berk in sod., 2013; Estruch, 2010; Kiecolt-Glaser, 2010; Schwingshackl in Hoffmann, 2014; Watzl in sod., 2005). Oksidativni in nitrosativni stres ter zmanjšane koncentracije antioksidantov, so se izkazale kot možni mehanizmi, ki lahko vplivajo na možganske funkcije in vodijo do nastanka več duševnih motenj (Black in sod., 2015; Liu in sod., 2015; Moylan in sod., 2014). Pri tem je pomemben tudi vpliv hrane na neurogenezo, bodisi preko možganskega nevtrofičnega faktorja bodisi preko protivnetnih in antioksidativnih učinkov določenih hranil (Marx in sod., 2017). Pomemben je tudi mehanski učinek hrane, kar lahko vpliva na integriteto in prepustnost gastrointestinalnih celic, to pa lahko pripomore k začetku nastajanja vnetnih in oksidativnih procesov (Maes in sod., 2013). Pri tem je potrebno poudariti, da so verjetno prisotni še številni drugi mehanizmi, ki se med seboj prepletajo in vplivajo na razvoj možganskih povezav (Fernandez-Real in sod., 2015).

Postopoma spoznavamo tudi pomembno vlogo mikrobiote pri nastajanju številnih obolenj. Gastrointestinalna mikrobiota se povezuje in vpliva na razvoj psihiatrične simptomatike preko različnih mehanizmov, ima vpliv na imunske funkcije (Hooper in sod., 2012) in serotoninško neurotransmisijo (O'Mahony in sod., 2015) ter preko hipotalamično hipofizne stresne zanke (Dinan in Cryan, 2012). Številne raziskave kažejo na povezanost med mikrobioto in razvojem možganov in možganskih funkcij (Dinan in sod., 2015; Fernandez-Real in sod., 2015; Sarkar in sod., 2018). Še posebej zanimiv je vpliv mikrobiote, tako prenatalno kot tudi postnatalno, na povezavo s povečanim tveganjem za razvoj duševnih motenj kasneje (Codagnone in sod., 2019). Mikrobiota ima pomemben vpliv pri odgovoru na stres, kognitivne funkcije ter pogostejše duševne motnje, kot so anksiozno-depresivne motnje (Bastiaanssen in sod., 2019; Mörkl in sod., 2020; Noble in sod., 2017), pa tudi nekatere razvojne motnje, kamor štejemo motnje aktivnosti in pozornosti (Cassidy-Bushrow in sod., 2022; Cenit in sod., 2017) ter spektroavtistične motnje (Ly in sod., 2017). Raziskuje se tudi povezanost med mikrobioto in restriktivno obliko motnje hranjenja, kot je anoreksija nervoza (Ghenciulescu in sod., 2020; Herpertz-Dahlmann in sod., 2017).

Na sestavo mikrobiote vplivata posameznikovo genetsko ozadje in vpliv okolice. Hrana in način prehranjevanja sta najbolj pomembna okoljska dejavnika, ki lahko neposredno spreminjata mikrobioto (Mörkl in sod., 2020; Rhee in sod., 2009) in preko različnih mehanizmov vplivata na možgane in določene možganske funkcije (Cryan in sod., 2019).

4 DOSTOPNOST HRANIL IN POMEMBNOST PREHRANJEVANJA V ZGODNJEM RAZVOJNEM OBDOBJU

Razvoj človeških možganov predstavlja zelo dinamičen proces, ki se začne intrauterino in sicer zelo zgodaj, že v tretjem gestacijskem tednu (Stiles in Jernigan, 2010). Od samega začetka razvoja, pa vse do tretjega leta po rojstvu, teče najbolj intenzivno in dinamično obdobje, ko potekajo številni vzporedni in zaporedni genetsko pogojeni procesi, ki so v stalni interakciji in

so odvisni od določenih okoljskih dejavnikov (Prado in Dewey, 2014; Stiles in Jernigan, 2010). To je kritično in hkrati ranljivo obdobje, saj se razvijajo možganske povezave in strukture, ki imajo zelo pomembno vlogo pri nadaljnjem razvoju (Wachs in sod., 2014). Dostopnost in kakovost hranil v tem obdobju spada med najbolj pomembne dejavnike okolja, ki vplivajo na razvoj možganov (Prado in Dewey, 2014). Nedostopnost in pomanjkanje ustreznih hranil lahko negativno vplivata na razvoj določenih funkcij in povzročata dolgotrajnejše posledice (Dimov in sod., 2021; Georgieff in sod., 2018). Številne raziskave opozarjajo na zmanjšanje kognitivnih funkcij, težave s pozornostjo in koncentracijo, šibkejšo kontrolo impulzov ter pogostejše vedenjske težave pri otrocih, pri katerih je bila omejena dostopnost makro in mikrohranil (Nyaradi in sod., 2013; Pollitt in sod., 1995; Prado in Dewey, 2014). Dolgoročno to vodi v slabše akademske dosežke in slabšo socialno vpetost, pogostejše zdravstvene težave ter nižje zadovoljstvo s kakovostjo življenja, kar ima tudi širši vpliv na razvoj družbe kot celote. Glede na vse značilnosti zgodnjega obdobja razvoja možganov, pri katerem so hranila med pomembnejšimi dejavniki, se odpira priložnost za učinkovitejše prehranske intervencije v času nosečnosti in v prvih letih življenja (Schwarzenberg in sod., 2018) To bi predstavljalo še dodaten pomemben korak naprej na področju krepitve zdravja.

Preglednica 1: Pomembna hranila pri zgodnjem možganskem razvoju (prirejeno po Georgieff in sod., 2018)

makrohranila	mikrohranila
Beljakovine	Cink
Glukoza	Baker
Dolgoverižne maščobne kisline	Iod
	Železo
	Selen
	Vitamin B6 in B12
	Vitamin A,
	Vitamin K
	Folat
	Holin

5 VPLIV HRANE NA DEPRESIVNE MOTNJE RAZPOLOŽENJA

Depresivna motnja razpoloženja trenutno predstavlja enega izmed najpomembnejših globalnih javnozdravstvenih problemov. Za bremenom, ki ga prinaša bolezen, se skriva pomemben vzrok za upad funkcionalnosti in kakovosti življenja posameznikov, slabšo psihosocialno vključenost in zmanjšano produktivnost (GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators, 2018; Kang in sod., 2015; Moussavi in sod., 2007; Wang in sod., 2007). V veliki meri prispeva k razvoju suicidalnosti, ki spada med najpogostejše vzroke smrti pri mladostnikih (Pelkonen in Marttunen, 2003). Če torej upoštevamo razširjenost bolezni in trend naraščanja pojavnosti motnje, izhaja jasna potreba po nadaljnjem raziskovanju številnih dejavnikov, ki prispevajo k nastanku motnje, kar bi lahko prispevalo k razvoju celovitejše obravnave. Pri tem moramo ostati previdni in razlikovati med vplivom hrane na počutje posameznika od vpliva na simptomatiko klinične oblike depresije.

Ravno na tem področju je prepričljivo največ raziskav in dokazov, ki povezujejo hrano in način prehranjevanja z depresivno razpoložensko motnjo. Metaanalitične študije kažejo na konsistentno povezavo med dieto in depresivno motnjo razpoloženja v različnih starostnih

obdobjih (Marx in sod., 2017). Izkazalo se je, da uživanje diete, ki temelji, na večjih količinah sadja, zelenjave, polnovrednih žit, rib in omega 3 maščobnih kislin, pomembno zmanjšuje verjetnost razvoja klinične depresije pri posamezniku (Lai in sod., 2014; Li in sod., 2017). Takšne analize vključujejo tudi večjo število kohortnih študij, ki kažejo, da je mediteranska dieta pomemben varovalni dejavnik pri razvoju depresije pri odraslih (Fresán in sod., 2019; Lassale in sod., 2019; Psaltopoulou in sod., 2013). Kljub temu, da so med študijami prisotne majhne razlike pri opredelitvi diete, je za tovrstno dieto značilno, da temelji predvsem na večjem vnosu zelenjave, sadja, hrani bogati s polnovrednimi žita in oreščki ter zmerno uživanje rib, olivno olje ter drugih virov nenasičenih maščobnih kislin, ter uživanje minimalne količine rdečega vina in v določenih primerih tudi rdečega mesa (Appleton in sod., 2010; Psaltopoulou in sod., 2013). Uživanje t.i. procesirane hrane ali hrane, ki vsebuje večjo količino dodanega sladkorja in nasičenih maščobnih kislin, lahko pripomore k poslabšanju razpoloženja in vodi v razvoj depresivne motnje, še posebej pri otrocih in mladostnikih (O'Neil in sod., 2014).

Randomizirane kontrolirane raziskave poročajo o učinkovitosti prehranskih intervencij pri zmanjševanju posameznih simptomov depresije (Firth in sod., 2019; Jacka in sod., 2017; Opie in sod., 2015). Kljub relativno majhnemu številu intervencijskih študij se postopoma odpirajo možnosti za razvoj adjuvantne prehranske intervencijske oblike pomoči, ki se lahko vključijo kot dodaten način zdravljenja k standardiziranem načinu zdravljenja depresivne motnje (Marx in sod., 2017; Opie in sod., 2015). Cilj je povečati uspešnost zdravljenja in zmanjšati intenzivnost simptomatike (Freeman in sod., 2006; Gertsik in sod., 2012). Pacienti, ki so bili v času farmakoterapevtske ali psihoterapevtske obravnave vključeni v prehransko svetovanje, ki je temeljilo na uvedbi mediteranske diete so imeli boljši izid zdravljenja v primerjavi s kontrolno skupino (Jacka in sod., 2017).

Na podlagi trdnih dokazov lahko rečemo, da način prehranjevanja postopoma pridobiva svojo vlogo pri preprečevanju razvoja depresije in adjuvantnem pristopu zdravljenja v vseh starostih. Pri tem je jasno, da multidisciplinarni pristop in medsebojno sodelovanje strokovnjakov predstavlja pogoj za nadaljnji napredek na tem področju.

6 VPLIV HRANE NA OSTALE DUŠEVNE IN RAZVOJNE MOTNJE

V primerjavi z depresivno motnjo je pri ostalih duševnih in razvojnih motnjah bistveno manj dokazov o vplivu hrane in načinu prehranjevanja na njihov razvoj (Adan in sod., 2019; Marx in sod., 2017; Mörkl in sod., 2020). Kljub temu, da na podlagi dosedanjih dokazov ne moremo govoriti o vzročni povezavi, z gotovostjo lahko rečemo, da gre za obetavno področje, ki v zadnjem času pritegne veliko zanimanja in znanstvene pozornosti, kar postopoma prinaša uporabna znanja za klinično obravnavo.

Že več desetletij se raziskuje vpliv hrane na motnje aktivnosti in pozornosti pri otrocih in mladostnikih. Metaanalize kažejo na minimalno do zmerno izboljšanje simptomatike ob uvedbi striktne izključitvene diete (Nigg in sod., 2012). Izkazalo se je, da hrana bogata z dodanim sladkorjem in nasičenimi maščobnimi kislinami, lahko poslabša simptomatiko motnje. Nasprotno pa, hrana bogata z zelenjavo, sadjem in omega tri maščobam, v določeni meri lahko zmanjša intenzivnost simptomatike (Bloch in Qawasmi, 2011; Del-Ponte in sod., 2019). Kljub

temu, da povezava ni tako prepričljiva in da je zaradi značilnosti motnje v veliki meri omejeno izvajanje prehranske intervencije, ostajata hrana in način prehranjevanja še naprej kot možnost adjuvantne oblike pomoči, ob sočasnem standardiziranem načinu zdravljenja. Prav tako je že veliko časa usmerjena pozornost na morebiten vpliv hrane na razvoj in potek spektroavtistične motnje. Kljub temu, da gre za področje, ki se že nekaj časa intenzivno raziskuje, lahko zaključimo, da trenutno nimamo dokazov, ki bi lahko pojasnili vpliv hrane na to kompleksno razvojno motnjo (Ly in sod., 2017).

V primeru, da je način prehranjevanja suboptimalen, to lahko privede do sprememb pri razvoju kognitivnih sposobnosti v obdobju odraščanja in tudi kasneje v odraslosti (Nyaradi in sod., 2013; Pollitt in sod., 1995; Prado in Dewey, 2014). To je lahko samo po sebi pomemben dejavnik tveganja za kasnejši nastanek duševne motnje. Nekatere raziskave opozarjajo na pomembnost hrane pri preprečevanju kognitivnih upadov v odraslosti (Smyth in sod., 2015). Po drugi strani pa vse kaže na to, da uživanje uravnotežene hrane, ki je podobna mediteranski, lahko ugodno vpliva na kognitivne funkcije, ob tem pa tudi prispeva k preprečevanju vaskularnih ali endokrinoloških obolenj (Martín-Peláez in sod., 2020; Morris in sod., 2015). Način prehranjevanja vpliva na anksioznost posameznika, do določene mere jo lahko tudi zmanjšuje, kar je dobro izhodišče za raziskovanje in razvoj prehranskih intervencij tudi v primeru anksioznih motenj (Aucoin in sod., 2021).

Omega 3 maščobne kisline imajo lahko pomembno vlogo pri preprečevanju in zmanjševanju akutne psihoze in shizofrenije (Hsu in sod., 2020). Še posebej to velja pri shizofreniji z zgodnjim začetkom in pri mladostnikih, ki spadajo v ranljivo skupino za razvoj psihoze ali shizofrenije. Raziskave kažejo, da je njihova uporaba še posebej upravičena v prodromalnem stadiju bolezni (Chen in sod., 2015), ko se lahko v določeni meri celo prepreči razvoj akutne psihotične epizode (Amminger in sod., 2010, 2015). Opisan je tudi ugoden učinek na zmanjševanje intenzivnosti psihotične simptomatike pri pacientih s prvo epizodo psihoze (Hsu in sod., 2020; Pawełczyk in sod., 2016). Pri tem je ključno, da se z intervencijami in adjuvantnem zdravljenjem prične zelo zgodaj, preden začnejo nastajati manj reverzibilne nevrobiološke spremembe, ki so za značilne za to bolezen (Chen in sod., 2015; Sommer in sod., 2016). Njihova uporaba v kronični fazi bolezni pa ni več priporočena (Chen in sod., 2015).

Klinična slika psihotične motnje ali shizofrenije močno vpliva na življenjski slog posameznika, kar vključuje tudi način prehranjevanja. Zaradi tega so bolniki nagnjeni k razvoju pridruženih telesnih zapletov in bolezni. Vključevanje v prehransko svetovanje je smiselno in upravičeno, saj lahko prepreči ali vsaj upočasni razvoj pridruženih motenj, kljub temu, da je to v praksi oteženo zaradi slabšega sodelovanjega bolnika pri zdravljenju (Aucoin in sod., 2020; Firth in sod., 2019; Peet, 2008).

Pri restriktivni obliki motnje hranjenja, kot je anoreksija nervoza, je vnos hrane v osnovi omejen zaradi same narave motnje, ki med drugim vključuje tudi izrazit strah pred vnosom hrane in posledično radikalno zmanjševanje količine in vsebine hranil. Po eni strani pride pri osebah z anoreksijo do spremembe mikrobiote zaradi podhranjenosti, po drugi strani pa obstaja možnost, da je ravno disbioza možen predispozicijski dejavnik za razvoj motnje, kar lahko odpira možnosti za različne terapevtske intervencije v prihodnosti (Ghenciulescu in sod., 2020;

Herpertz-Dahlmann in sod., 2017).

7 ZAKLJUČEK

V času, ko pojavnost duševnih motenj narašča in že predstavlja globalni javnozdravstveni problem, se kaže vedno večja potreba po raziskovanju novih strategij za učinkovitejšo krepitev duševnega zdravja posameznika in celotne populacije. Pri tem je potrebno temeljito pristopiti k različnim dejavnikom, ki lahko pripomorejo k preprečevanju in zdravljenju duševnih motenj.

Lahko rečemo, da že imamo zadostne znanstvene dokaze, da sta hrana in način prehranjevanja med pomembnimi dejavniki, ki vplivajo na celotno zdravje posameznika. Napredek na področju nutricionistike in razumevanje vpliva prebavil in mikrobiote na možgane ter obratno, odpirata nove poti razumevanju številnih patofizioloških procesov, ki so lahko pomembni tudi pri različnih možganskih funkcijah in nastajanju duševnih motenj. Razvija se obetavno področje nutricionistične psihiatrije, ki bi moralo postati znanstvena baza za nadaljnjo raziskovanje in razvijanje učinkovite metode, ki bi lahko pripomogla k celovitejši obravnavi duševnih motenj v vseh starostih. Znanja iz tega področja bi lahko imela še širši družbeni učinek, še posebej, če se v prihodnosti uporabijo pri izdelovanju javnozdravstvenih ukrepov za krepitev duševnega zdravja celotne populacije.

8 VIRI

- Adan R. A. H., van der Beek E. M., Buitelaar J. K., Cryan J. F., Hebebrand J., Higgs S., Schellekens H., Dickson S. L. 2019. Nutritional psychiatry: Towards improving mental health by what you eat. *European Neuropsychopharmacology. The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 29: 1321–1332
- Amminger, G. P., Schäfer, M. R., Papageorgiou, K., Klier, C. M., Cotton, S. M., Harrigan, S. M., Mackinnon, A., McGorry, P. D., Berger, G. E. 2010. Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: A randomized, placebo-controlled trial. *Archives of General Psychiatry*, 67: 146–154
- Amminger, G. P., Schäfer, M. R., Schlögelhofer, M., Klier, C. M., McGorry, P. D. 2015. Longer-term outcome in the prevention of psychotic disorders by the Vienna omega-3 study. *Nature Communications*, 6: 1-7
- Appleton, K. M., Rogers, P. J., Ness, A. R. 2010. Updated systematic review and meta-analysis of the effects of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on depressed mood. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91: 757–770
- Aucoin, M., LaChance, L., Cooley, K., Kidd, S. 2020. Diet and Psychosis: A Scoping Review. *Neuropsychobiology*, 79: 20–42
- Aucoin, M., LaChance, L., Naidoo, U., Remy, D., Shekdar, T., Sayar, N., Cardozo, V., Rawana, T., Chan, I., Cooley, K. 2021. Diet and Anxiety: A Scoping Review. *Nutrients*, 13: 4418
- Bastiaanssen, T. F. S., Cowan, C. S. M., Claesson, M. J., Dinan, T. G., Cryan, J. F. 2019. Making Sense of the Microbiome in Psychiatry. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 22: 37–52
- Berk, M., Williams, L. J., Jacka, F. N., O'Neil, A., Pasco, J. A., Moylan, S., Allen, N. B., Stuart, A. L., Hayley, A. C., Byrne, M. L., Maes, M. 2013. So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from? *BMC Medicine*, 11: 1-16
- Black, C. N., Bot, M., Scheffer, P. G., Cuijpers, P., Penninx, B. W. J. H. 2015. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 51: 164–175
- Bloch, M. H., Qawasmi, A. 2011. Omega-3 fatty acid supplementation for the treatment of children with attention-deficit/hyperactivity disorder symptomatology: Systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 50: 991–1000

- Breit, S., Kupferberg, A., Rogler, G., Hasler, G. 2018. Vagus Nerve as Modulator of the Brain-Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. *Frontiers in Psychiatry*, 9: 44
- Cassidy-Bushrow, A. E., Sitarik, A. R., Johnson, C. C., Johnson-Hooper, T. M., Kassem, Z., Levin, A. M., Lynch, S. V., Ownby, D. R., Phillips, J. M., Yong, G. J. M., Wegienka, G., Straughen, J. K. 2022. Early-life gut microbiota and attention deficit hyperactivity disorder in preadolescents. *Pediatric Research*, 1-10
- Cenit, M. C., Nuevo, I. C., Codoñer-Franch, P., Dinan, T. G., Sanz, Y. 2017. Gut microbiota and attention deficit hyperactivity disorder: New perspectives for a challenging condition. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 26: 1081–1092
- Chen, A. T., Chibnall, J. T., Nasrallah, H. A. 2015. A meta-analysis of placebo-controlled trials of omega-3 fatty acid augmentation in schizophrenia: Possible stage-specific effects. *Annals of Clinical Psychiatry: Official Journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists*, 27: 289–296
- Chisholm, D., Sweeny, K., Sheehan, P., Rasmussen, B., Smit, F., Cuijpers, P., Saxena, S. 2016. Scaling-up treatment of depression and anxiety: A global return on investment analysis. *The Lancet. Psychiatry*, 3: 415–424
- Codagnone, M. G., Spichak, S., O'Mahony, S. M., O'Leary, O. F., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., Cryan, J. F. 2019. Programming Bugs: Microbiota and the Developmental Origins of Brain Health and Disease. *Biological Psychiatry*, 85: 150–163
- Cryan, J. F., O'Riordan, K. J., Cowan, C. S. M., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., Codagnone, M. G., Cussotto, S., Fulling, C., Golubeva, A. V., Guzzetta, K. E., Jaggard, M., Long-Smith, C. M., Lyte, J. M., Martin, J. A., Molinero-Perez, A., Moloney, G., Morelli, E., Morillas, E., Dinan, T. G. 2019. The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiological Reviews*, 99: 1877–2013
- Del-Ponte, B., Quinte, G. C., Cruz, S., Grellert, M., Santos, I. S. 2019. Dietary patterns and attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): A systematic review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 252: 160–173
- Dimov, S., Mundy, L. K., Bayer, J. K., Jacka, F. N., Canterford, L., Patton, G. C. 2021. Diet quality and mental health problems in late childhood. *Nutritional Neuroscience*, 24: 62–70
- Dinan, T. G., Cryan, J. F. 2012. Regulation of the stress response by the gut microbiota: Implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*, 37: 1369–1378
- Dinan, T. G., Stilling, R. M., Stanton, C., & Cryan, J. F. 2015. Collective unconscious: How gut microbes shape human behavior. *Journal of Psychiatric Research*, 63: 1–9.
- Downer, S., Berkowitz, S. A., Harlan, T. S., Olstad, D. L., Mozaffarian, D. 2020. Food is medicine: Actions to integrate food and nutrition into healthcare. *The BMJ*, 369, m2482
- Estruch, R. 2010. Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: The experience of the PREDIMED study. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 69: 333–340
- Farzi, A., Fröhlich, E. E., Holzer, P. 2018. Gut Microbiota and the Neuroendocrine System. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 15: 5–22
- Fernandez-Real, J.-M., Serino, M., Blasco, G., Puig, J., Daunis-i-Estadella, J., Ricart, W., Burcelin, R., Fernández-Aranda, F., Portero-Otin, M. 2015. Gut Microbiota Interacts With Brain Microstructure and Function. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100: 4505–4513
- Firth, J., Marx, W., Dash, S., Carney, R., Teasdale, S. B., Solmi, M., Stubbs, B., Schuch, F. B., Carvalho, A. F., Jacka, F., Sarris, J. 2019. The Effects of Dietary Improvement on Symptoms of Depression and Anxiety: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Psychosomatic Medicine*, 81: 265–280
- Freeman, M. P., Hibbeln, J. R., Wisner, K. L., Davis, J. M., Mischoulon, D., Peet, M., Keck, P. E., Marangell, L. B., Richardson, A. J., Lake, J., Stoll, A. L. 2006. Omega-3 fatty acids: Evidence basis for treatment and future research in psychiatry. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 67: 1954–1967
- Fresán, U., Bes-Rastrollo, M., Segovia-Siapco, G., Sanchez-Villegas, A., Lahortiga, F., de la Rosa, P.-A., Martínez-Gonzalez, M.-A. 2019. Does the MIND diet decrease depression risk? A comparison with Mediterranean diet in the SUN cohort. *European Journal of Nutrition*, 58: 1271–1282
- GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. 2018. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet (London, England)*, 392: 1789–1858

- Generoso, J. S., Giridharan, V. V., Lee, J., Macedo, D., Barichello, T. 2021. The role of the microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric disorders. *Revista Brasileira De Psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)*, 43: 293–305
- Georgieff, M. K., Ramel, S. E., Cusick, S. E. 2018. Nutritional influences on brain development. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, 107: 1310–1321
- Gertsik, L., Poland, R. E., Bresee, C., Rapaport, M. H. 2012. Omega-3 fatty acid augmentation of citalopram treatment for patients with major depressive disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 32: 61–64
- Ghenciulescu, A., Park, R. J., Burnet, P. W. J. 2020. The Gut Microbiome in Anorexia Nervosa: Friend or Foe? *Frontiers in Psychiatry*, 11: 1463
- Gilbert, J. A., Blaser, M. J., Caporaso, J. G., Jansson, J. K., Lynch, S. V., Knight, R. 2018. Current understanding of the human microbiome. *Nature Medicine*, 24: 392–400
- Herpertz-Dahlmann, B., Seitz, J., Baines, J. 2017. Food matters: How the microbiome and gut-brain interaction might impact the development and course of anorexia nervosa. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 26: 1031–1041
- Hooper, L. V., Littman, D. R., Macpherson, A. J. 2012. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science (New York, N.Y.)*, 336: 1268–1273
- Hsu, M.-C., Huang, Y.-S., Ouyang, W.-C. 2020. Beneficial effects of omega-3 fatty acid supplementation in schizophrenia: Possible mechanisms. *Lipids in Health and Disease*, 19: 1–17
- Jacka, F. N. 2017. Nutritional Psychiatry: Where to Next? *EBioMedicine*, 17: 24–29
- Jacka, F. N., O’Neil, A., Opie, R., Itsiopoulos, C., Cotton, S., Mohebbi, M., Castle, D., Dash, S., Mihalopoulos, C., Chatterton, M. L., Brazionis, L., Dean, O. M., Hodge, A. M., Berk, M. 2017. A randomised controlled trial of dietary improvement for adults with major depression (the ‘SMILES’ trial). *BMC Medicine*, 15: 1–13
- Kang, H.-J., Kim, S.-Y., Bae, K.-Y., Kim, S.-W., Shin, I.-S., Yoon, J.-S., Kim, J.-M. 2015. Comorbidity of Depression with Physical Disorders: Research and Clinical Implications. *Chonnam Medical Journal*, 51: 8–18
- Kiecolt-Glaser, J. K. 2010. Stress, food, and inflammation: Psychoneuroimmunology and nutrition at the cutting edge. *Psychosomatic Medicine*, 72: 365–369
- Lai, J. S., Hiles, S., Bisquera, A., Hure, A. J., McEvoy, M., Attia, J. 2014. A systematic review and meta-analysis of dietary patterns and depression in community-dwelling adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99: 181–197
- Lassale, C., Batty, G. D., Baghdadli, A., Jacka, F., Sánchez-Villegas, A., Kivimäki, M., Akbaraly, T. 2019. Healthy dietary indices and risk of depressive outcomes: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Molecular Psychiatry*, 24: 965–986
- Li, Y., Lv, M.-R., Wei, Y.-J., Sun, L., Zhang, J.-X., Zhang, H.-G., Li, B. 2017. Dietary patterns and depression risk: A meta-analysis. *Psychiatry Research*, 253: 373–382
- Liu, T., Zhong, S., Liao, X., Chen, J., He, T., Lai, S., Jia, Y. 2015. A Meta-Analysis of Oxidative Stress Markers in Depression. *PloS One*, 10: e0138904
- Ly, V., Bottelier, M., Hoekstra, P. J., Arias Vasquez, A., Buitelaar, J. K., Rommelse, N. N. 2017. Elimination diets’ efficacy and mechanisms in attention deficit hyperactivity disorder and autism spectrum disorder. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 26: 1067–1079
- Maes, M., Kubera, M., Leunis, J.-C., Berk, M., Geffard, M., Bosmans, E. 2013. In depression, bacterial translocation may drive inflammatory responses, oxidative and nitrosative stress (O&NS), and autoimmune responses directed against O&NS-damaged neoepitopes. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 127: 344–354
- Martín-Peláez, S., Fito, M., Castaner, O. 2020. Mediterranean Diet Effects on Type 2 Diabetes Prevention, Disease Progression, and Related Mechanisms. A Review. *Nutrients*, 12: 2236
- Marx, W., Moseley, G., Berk, M., Jacka, F. 2017. Nutritional psychiatry: The present state of the evidence. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 76: 427–436
- Mörkl, S., Wagner-Skacel, J., Lahousen, T., Lackner, S., Holasek, S. J., Bengesser, S. A., Painold, A., Holl, A. K., Reininghaus, E. 2020. The Role of Nutrition and the Gut-Brain Axis in Psychiatry: A Review of the Literature. *Neuropsychobiology*, 79: 80–88
- Morris, M. C., Tangney, C. C., Wang, Y., Sacks, F. M., Barnes, L. L., Bennett, D. A., Aggarwal, N. T. 2015. MIND diet slows cognitive decline with aging. *Alzheimer’s & Dementia: The Journal of the Alzheimer’s Association*, 11: 1015–1022

- Moussavi, S., Chatterji, S., Verdes, E., Tandon, A., Patel, V., Ustun, B. 2007. Depression, chronic diseases, and decrements in health: Results from the World Health Surveys. *Lancet* (London, England), 370: 851–858
- Moylan, S., Berk, M., Dean, O. M., Samuni, Y., Williams, L. J., O’Neil, A., Hayley, A. C., Pasco, J. A., Anderson, G., Jacka, F. N., Maes, M. 2014. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 45: 46–62
- Nigg, J. T., Lewis, K., Edinger, T., Falk, M. 2012. Meta-Analysis of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder or Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Symptoms, Restriction Diet, and Synthetic Food Color Additives. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 51: 86-97
- Noble, E. E., Hsu, T. M., Kanoski, S. E. 2017. Gut to Brain Dysbiosis: Mechanisms Linking Western Diet Consumption, the Microbiome, and Cognitive Impairment. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11: 9
- Nyaradi, A., Li, J., Hickling, S., Foster, J., Oddy, W. H. 2013. The role of nutrition in children’s neurocognitive development, from pregnancy through childhood. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7: 97
- O’Mahony, S. M., Clarke, G., Borre, Y. E., Dinan, T. G., Cryan, J. F. 2015. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, 277: 32–48
- O’Neil, A., Quirk, S. E., Housden, S., Brennan, S. L., Williams, L. J., Pasco, J. A., Berk, M., Jacka, F. N. 2014. Relationship between diet and mental health in children and adolescents: A systematic review. *American Journal of Public Health*, 104: e31-42
- Opie, R. S., O’Neil, A., Itsiopoulos, C., Jacka, F. N. 2015. The impact of whole-of-diet interventions on depression and anxiety: A systematic review of randomised controlled trials. *Public Health Nutrition*, 18: 2074–2093
- Pawelczyk, T., Grancow-Grabka, M., Kotlicka-Antczak, M., Trafalska, E., Pawelczyk, A. 2016. A randomized controlled study of the efficacy of six-month supplementation with concentrated fish oil rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids in first episode schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, 73: 34–44
- Peet, M. 2008. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of schizophrenia. *The Israel Journal of Psychiatry and Related Sciences*, 45: 19–25
- Pelkonen, M., Marttunen, M. 2003. Child and adolescent suicide: Epidemiology, risk factors, and approaches to prevention. *Paediatric Drugs*, 5: 243–265
- Pollitt, E., Gorman, K. S., Engle, P. L., Rivera, J. A., Martorell, R. 1995. Nutrition in early life and the fulfillment of intellectual potential. *The Journal of Nutrition*, 125: 1111S-1118S
- Prado, E. L., Dewey, K. G. 2014. Nutrition and brain development in early life. *Nutrition Reviews*, 72: 267–284
- Psaltopoulou, T., Sergentanis, T. N., Panagiotakos, D. B., Sergentanis, I. N., Kostis, R., Scarmeas, N. 2013. Mediterranean diet, stroke, cognitive impairment, and depression: A meta-analysis. *Annals of Neurology*, 74: 580–591
- Rhee, S. H., Pothoulakis, C., Mayer, E. A. 2009. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 6: 306–314
- Sarkar, A., Harty, S., Lehto, S. M., Moeller, A. H., Dinan, T. G., Dunbar, R. I. M., Cryan, J. F., Burnet, P. W. J. 2018. The Microbiome in Psychology and Cognitive Neuroscience. *Trends in Cognitive Sciences*, 22: 611–636
- Sarris, J. 2019. Nutritional Psychiatry: From Concept to the Clinic. *Drugs*, 79: 929–934
- Schwarzenberg, S. J., Georgieff, M. K., 2018. Advocacy for Improving Nutrition in the First 1000 Days to Support Childhood Development and Adult Health. *Pediatrics*, 141: e20173716
- Schwingshackl, L., Hoffmann, G. 2014. Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: A systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD*, 24: 929–939
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., Finlay, B. B. 2010. Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*, 90: 859–904
- Smyth, A., Dehghan, M., O’Donnell, M., Anderson, C., Teo, K., Gao, P., Sleight, P., Dagenais, G., Probstfield, J. L., Mentz, A., Yusuf, S., ONTARGET and TRANSCEND Investigators. 2015. Healthy eating and reduced risk of cognitive decline: A cohort from 40 countries. *Neurology*, 84: 2258–2265
- Sommer, I. E., Bearden, C. E., van Dellen, E., Breetvelt, E. J., Duijff, S. N., Maijer, K., van Amelsvoort, T., de Haan, L., Gur, R. E., Arango, C., Díaz-Caneja, C. M., Vinkers, C. H., Vorstman, J. A. 2016. Early interventions in risk groups for schizophrenia: What are we waiting for? *NPJ Schizophrenia*, 2: 1-9
- Stiles, J., Jernigan, T. L. 2010. The Basics of Brain Development. *Neuropsychology Review*, 20: 327–348

- Wachs, T. D., Georgieff, M., Cusick, S., McEwen, B. S. 2014. Issues in the timing of integrated early interventions: Contributions from nutrition, neuroscience, and psychological research. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1308: 89–106
- Wang, P. S., Aguilar-Gaxiola, S., Alonso, J., Angermeyer, M. C., Borges, G., Bromet, E. J., Bruffaerts, R., de Girolamo, G., de Graaf, R., Gureje, O., Haro, J. M., Karam, E. G., Kessler, R. C., Kovess, V., Lane, M. C., Lee, S., Levinson, D., Ono, Y., Petukhova, M., ... Wells, J. E. 2007. Use of mental health services for anxiety, mood, and substance disorders in 17 countries in the WHO world mental health surveys. *Lancet* (London, England), 370: 841–850
- Watzl, B., Kulling, S. E., Möseneder, J., Barth, S. W., Bub, A. 2005. A 4-wk intervention with high intake of carotenoid-rich vegetables and fruit reduces plasma C-reactive protein in healthy, nonsmoking men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82: 1052–1058
- Whiteford, H. A., Ferrari, A. J., Degenhardt, L., Feigin, V., Vos, T. (2015). The Global Burden of Mental, Neurological and Substance Use Disorders: An Analysis from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLoS ONE*, 10: e0116820
- WHO. 2019. Mental disorders: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders> (18. 05. 2022)

THE LONGEVITY-PROMOTING SECRETS OF THE OKINAWAN DIET

Jan GRAŠIČ¹

Abstract: Okinawa is an island in the Japanese prefecture of the same name where its residents enjoy an above-average life expectancy. Due to its large number of centenarians, Okinawa has been the subject of many demographic studies aiming to uncover the main reasons for its elders' healthy and long lives. One of the main reasons is the traditional diet of its inhabitants, which, compared to the modern diet, is nutrient-dense and calorie poor. With the occupation of the American military after the Second World War and the resulting exposure to Western dietary habits, Okinawa started to lose its lead in the rankings of expected life expectancy at birth in Japan. According to recent surveys, Okinawa ranks 27. among the 47 Japanese prefectures, and its life expectancy has fallen below the Japanese average. This article will describe the main features of the traditional Okinawan diet that are suggested to affect longevity and the modern changes in dietary habits that are believed to cause a decrease in expected lifespan. With the abandonment of the traditional dietary practices, Okinawa may in the future lose its famous “blue zone” status, which was bestowed upon regions with an above-average number of centenarians. Furthermore, I will summarize the main beneficial effects of traditional Okinawan diet components. I will also describe an example of a future study that will attempt to uncover the effects of nobiletin on senescent cell survival. Despite the changes in dietary habits of the Okinawan people, the traditional Okinawan diet still promises many discoveries that will contribute to the understanding of the optimal human diet.

Keywords: Okinawa, longevity, nutrition, aging

SKRIVNOSTI DOLGOŽIVOSTI OKINAVSKE PREHRANE

Povzetek: Okinava je otok v istoimenski japonski prefekturi, ki se ponaša s prebivalci z nadpovprečno dolgo življenjsko dobo. Zaradi velikega števila stoletnikov je predmet številnih demografskih študij, ki skušajo ugotoviti glavne vzroke za dobro zdravje in dolgo življenje njenih starostnikov. Eden izmed najpomembnejših vzrokov je tradicionalna prehrana njenih prebivalcev, ki je v primerjavi s sodobno prehrano bogata s hranili in revna s kalorijami. Z okupacijo Američanov po drugi svetovni vojni in posledično z izpostavitvijo zahodnim prehranskim navadam je Okinava na lestvici pričakovane življenjske dobe ob rojstvu začela vztrajno drseti s prvega mesta navzdol. Med 47 japonskimi prefekturami se po zadnjih podatkih nahaja na 27. mestu in njena pričakovana življenjska doba je padla pod japonsko povprečje. V tem prispevku bom opisal glavne lastnosti tradicionalne okinavske prehrane, ki vplivajo na dolgoživost, in spremembe v prehranjevalnih navadah, ki se odražajo v nižanju pričakovane življenjske dobe. Z opustitvijo tradicionalnih prehrabnih navad, zna Okinava v prihodnosti izgubiti slavni status “modre cone”, ki je bil podeljen regijam z nadpovprečno velikim številom stoletnikov. Prav tako bom povzel pozitivne učinke glavnih komponent tradicionalne okinavske prehrane. Opisal bom tudi primer bodoče študije učinkov nobiletina na senescentne celice, katero bom izvedel v sklopu doktorata na Okinavi. Ne glede na bodoče spremembe prehranjevalnih navad prebivalcev Okinave, tradicionalna okinavska prehrana še vedno skriva veliko odkritij, ki bodo prispevala k razumevanju optimalne človeške prehrane.

Ključne besede: Okinava, dolgoživost, prehrana, staranje

¹ MSc, Okinawa Institute of Science and Technology (OIST), 1919-1 Tancha, Onna-son, Japan, e-mail: jan.grasic@oist.jp

1 INTRODUCTION

The Okinawan diet is well known for promoting long and healthy life, and it is one of the main factors contributing to the exceptional longevity of the Okinawan people. Okinawa is the southernmost Japanese prefecture situated on a chain of islands called the Ryukyu Islands. Its cuisine is unique even in Japan since Okinawa was an independent kingdom - the Ryukyu Kingdom - for most of its rich history, only being fully annexed by Japan at the end of the 19th century. For the most part, Okinawa retained most of its culinary tradition until today. However, western influence, coming mainly from the significant US military presence on the island, is slowly eroding traditional eating habits and diminishing the Okinawan people's longevity advantage. In this article, I will provide an overview of the changes in Okinawan dietary habits, ranging from the traditional pre-war diet to the modern diet influenced by mainland Japanese and Western cultures. Furthermore, I will summarize some of the current studies about common foods in the traditional Okinawan diet, which can indeed be called “superfoods” due to their high nutrient density and the presence of various beneficial phytochemicals. Lastly, I will describe a future study that will be conducted as part of my doctoral studies. I plan to explore the senolytic properties of nobiletin, an abundant flavonoid from *Citrus Depressa* or Shikuwasa, as they call it on Okinawa. Nobiletin is already known to possess anti-cancer properties, and its effects on pro-apoptotic pathways suggest that it might also be useful for senescent cell clearance.

2 OKINAWAN DIET - PAST, PRESENT, AND FUTURE

2.1 ORIGIN AND HISTORY OF THE OKINAWAN CUISINE

Geographically, Okinawa lies at the intersection of Chinese, Japanese, and Southeast Asian cultures. The Okinawan cuisine thus evolved through spice trade and political connections with its surrounding countries. Relations with China go back the furthest with Chinese envoys visiting the Ryukyu Kingdom during the enthronement ceremonies of the Ryukyu kings. Later, in the 17th century, Japanese influence in the region increased as the Ryukyu Kingdom became a puppet government of the Satsuma clan of southern Japan. The oldest public survey of Japanese daily diets originates from the year 1880 of the Meiji era. It revealed that in contrast to other Japanese regions, which consumed mainly rice and wheat, the sweet potato was the staple food in Okinawa, making up an astounding 93% of the daily carbohydrate intake. Sweet potato is nutritionally superior to rice containing more fiber, minerals, and vitamins B1, B2, and C. In addition, the Okinawan purple sweet potato variety contains high levels of anthocyanins, a class of plant flavonoids with potential health benefits. Overall, more than 90% of daily energy intake came from carbohydrates. Animal foods, such as pork, fish, and goat, high in fat and proteins, were consumed in larger amounts, mainly during abundant festivals throughout the year. Pork cuisine especially has an important place in the Okinawan meat-eating culture. They developed clever uses for all the parts of a pig, including the organs, feet, and head, leaving nothing behind. This is in stark contrast to modern eating habits where meat consumption mostly consists of muscle meats and fat. Unlike muscle meats, organs, skin, and cartilage contain high amounts of collagen and elastin and a specific amino acid content. Okinawan-based pork dishes also go through a special preparation process called *akunuki* which

reduces their saturated fat and energy content. Overall, most Okinawan pork dishes are considerably more nutrient-dense and lower in calories compared to Western pork dishes. Another staple ingredient in traditional dishes is *konbu* seaweed. It contains a variety of trace elements and essential omega-3 fatty acids (Sho, 2001). The general principles of the traditional Okinawan diet are summarized in Figure 1.

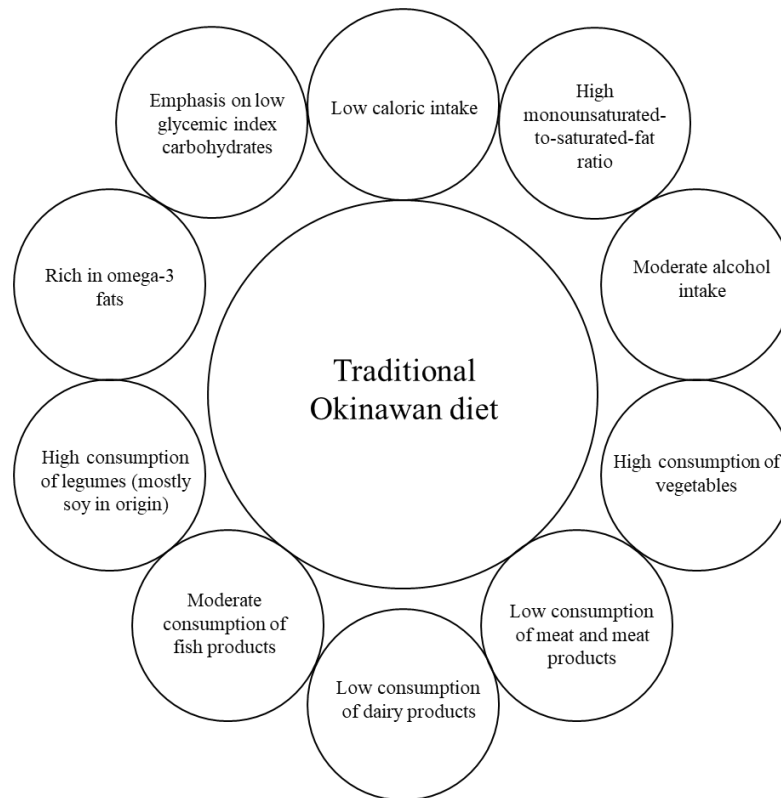


Figure 1: The hallmarks of the traditional Okinawan diet (according to Willcox et al., 2009)

Complementing their healthy diet, the Okinawans also have unique habits and philosophies regarding food. Influenced by the ancient Chinese traditions, they view their food as medicine and have a strong understanding of its health-promoting properties. One of the commonly used methods for creating traditional medicines was infusing carefully selected combinations of several foodstuffs and using the resulting broth to treat common ailments. For example, one of the most widely administered medicinal broths to this day is a concoction of pig's liver, yellow island carrot, and garlic. The idea behind this approach is similar to today's nutrient supplementation aimed at preventing or reversing deficiencies of essential nutrients. By carefully combining ingredients in the proper order, they could achieve additive and interactive effects of the various nutrients in the broth. Okinawans also have a potentially lifespan-promoting philosophy for their eating habits. Instead of eating until full, they tend to finish before then. Their saying goes, "*hara hachi bu*", meaning "eat until you are 8/10 full". This could mimic caloric restriction, a state of reduced overall caloric intake that extended the lifespan of several model organisms (Willcox et al., 2006). Another argument for the superior dietary practices in Okinawa are worse socioeconomic conditions compared to mainland Japan. Figures for annual income and number of doctors per capita have always been lower in Okinawa than the national average, meaning that lifestyle factors, such as diet and communal support,

may have a more significant impact on longevity. In this context, the social gradient theory of health and life expectancy does not apply to Japan if Okinawa is considered (Cockerham and Yamori, 2001).

2.2 THE DECLINE OF OKINAWAN LONGEVITY

The Okinawan longevity advantage started to decline steadily after World War II due to increased westernization originating from the US military occupation. In the pre-war era, the traditional Okinawan food culture was the predominant food culture. Later in the post-war period, Okinawa was occupied by the US from 1954 to 1972. Consequently, that led to sudden exposure to the US food culture, but life expectancy and the number of centenarians were still the highest among the prefectures in 1972 (Shirai, 2020). After 1972, Okinawa was reverted to the Japanese administration, and the mainland Japanese food culture gained more influence. Due to these sudden societal changes, the nutrition transition in Okinawa occurred more rapidly than in the rest of Japan. Growth in life expectancy has been slowing relative to other prefectures since 1985, and between 1995 and 2000, the growth rate for men was the lowest among the 47 prefectures. In 2004 the all-cause mortality rate was higher than the national average for the younger, post-war generations, while that of the older generation was lower, with about 55 being the age of the cross-over. The most prominent dietary changes occurred in terms of increased fat intake and a decreased role of sweet potato as the staple carbohydrate, which was substituted by rice, (white) bread, and noodles (Todoriki et al., 2004). For most of the 20th century, Okinawa prefecture was ranked 1st of all Japanese prefectures in life expectancy at birth (LEB) and the number of centenarians per capita. By 2000, the LEB for Okinawan men had already fallen to rank 26 among the 47 Japanese prefectures, while LEB for women, life expectancy at 65 years old, and the centenarian rate remained at the top. And by the year 2015, total LEB (for men and women) had plummeted to rank 27, below the Japanese average, with LEB for men dropping to the disreputable rank 36 (MHLW, 2015). Between the years 1990 and 2000, the standardized mortality ratio (SMR - ratio between the observed number of deaths in a study population and the number of deaths that would be expected in a standard population, in this case, the national average) increased for several diseases, including heart disease and cerebrovascular disease, and SMR of ischemic heart disease for men even rose above the national average. Not surprisingly, this period was accompanied by several dietary changes. Between the years 1988 and 1998, consumption of green and yellow vegetables, legumes, and Konbu seaweed decreased, and meat intake increased over 100 g/day, indicating a lowering in a variety of protein sources. Even though meat intake in Okinawa was higher than in mainland Japan in 1988, the incidences of many diseases were lower, which could be due to consuming different types of pork and the traditional preparation of meat dishes in the form of gelatin-rich and low-fat stews. A survey from 2002 showed that eating habits started changing drastically in the younger generation. Popular dishes in the older generation, such as various vegetable and tofu stir-fry dishes (champuru), were replaced by Japanese curry and rice dishes (Miyagi et al., 2003). The negative trends in Okinawa prefecture continued through the 21st century. In 2017, rates of obesity, metabolic syndrome, and mortality from alcohol-related liver disease were the highest in Japan. Okinawans between 40 and 65 years of age are now at a higher risk of premature death than people from mainland Japan (Shirai, 2020).

2.3 MY PERSPECTIVE ON THE FUTURE DIRECTION OF THE OKINAWAN DIET

Based on personal observations from living on Okinawa for the past two and a half years and exploring the majority of the island, I will share my perspectives on the current and future role of the Okinawan diet in its society. It is apparent that Okinawa adapted the Western and mainland Japanese convenience food culture. The modern, fast-paced lifestyle and mainland Japan's demanding work culture have now reached most of the urbanized parts of the island. However, the slow-paced village lifestyle still persists in the older generation, who preserves the fading traditional food culture.

There are three main streams of influence that are threatening the unique dietary tradition that once placed Okinawa at the forefront of longevity:

2.3.1 Westernization

Okinawa island bears a considerable US military presence with approximately 50,000 military personnel and their dependents. As a result, many food establishments cater to the American population, which strongly influences the younger Okinawan generation. Fast-food restaurants are commonplace around the urbanized south of the island and include big international corporations such as McDonald's and Domino's and Japanese brands like Mos Burger. Americans and younger Okinawans desire international food options, which incentivizes the opening of more restaurants offering foreign cuisines. These cuisines are not necessarily unhealthy, but they are gradually replacing traditional, family-owned Okinawan restaurants. Recently, partly due to limitations imposed by the COVID restrictions, several food delivery services like Uber Eats emerged on the island, substituting potentially healthier home-cooked meals and making fast-food options more accessible.

2.3.2 Mainland Japan

Arguably, the eating habits of the average Japanese person are still superior to those of the average American. We can find support for this in data showing lower obesity rates, lower incidence of many lifestyle diseases, and a longer expected lifespan of the Japanese people (Reynolds et al., 2008). However, as the lifestyle on Okinawa is becoming more similar to that of mainland Japan, so are the demands for quick and nutritionally inferior meals. This caused the proliferation of Japanese convenience food establishments offering dishes such as gyudon (Sukiya, Matsuya), bento (Hotto Motto), and ramen.

2.3.3 Tourism Industry

Tourism is one of the main economic drivers in Okinawa, most of it centered around large hotel resorts. Consequently, many restaurants around tourist hotspots are specialized to the tourist demographic and are usually not regularly visited by locals. Even the restaurants which are supposed to serve traditional Okinawan dishes have more or less adapted their ingredients, preparation methods, and flavors to cater to the visitor's taste. While the food can still be considered healthy, it diverges from the original Okinawan diet. For example, pork, which in the traditional diet includes organs, skin, and other non-muscle parts, is in touristic restaurants

often limited to fattier pork belly, ribs, cutlets, and other muscle meats. Therefore, the Okinawan culinary tradition is undoubtedly losing some of its variety and nutritional richness.

Based on the current trends, the future does not seem promising for preserving traditional dietary patterns. It will require dedicated conservation efforts to preserve its unique culinary tradition that has nurtured its remarkably healthy and long-lived practitioners. Otherwise, we might see a further decline in general health and life expectancy in the younger generation. The Okinawan ancestors have stumbled upon a dietary pattern that seems to be exceptionally beneficial for human health, and it would be a great loss to abandon it in the future.

3 A REVIEW OF OKINAWAN LONGEVITY-PROMOTING FOODS

This chapter will summarize studies that examine the health benefits of some common components of the traditional Okinawan diet. The common feature of many traditional foods is their nutrient density and caloric scarcity. This way, the traditional Okinawans enjoyed a relatively low caloric intake while obtaining a high amount of essential and other nutrients.

3.1 SWEET POTATO

The sweet potato is the most abundantly consumed food in the traditional Okinawan diet. Before the Second World War, the Okinawans obtained most of their carbohydrate intake from this starchy root vegetable. Especially famous for Okinawa is the local purple-colored variety called the Beni-imo. Its purple color comes from the same compounds that give color to blueberries and red cabbage. Not related to the ordinary potato as the name might suggest, the sweet potato is antioxidant-rich and has a low glycemic index. Its nutritional profile makes it superior to other staple carbohydrate sources, such as rice and wheat. It is especially rich in vitamin A in the form of beta-carotene and other antioxidant compounds, such as trypsin inhibitors, polyphenols, and anthocyanins in the purple-colored variety. Sweet potatoes are also a good source of B vitamins, especially vitamin B6, which participates in converting harmful homocysteine to the amino acid cysteine. The Okinawans have particularly low levels of homocysteine which can otherwise increase the risk for cardiovascular disease, stroke, and dementia. Recent studies have demonstrated remarkable health-promoting properties of the Okinawan purple sweet potato. For example, a study showed that purple sweet potato color, a natural anthocyanin, reduced oxidative stress in the kidneys of mice on a high-fat diet (Zheng et al., 2019). Oxidative stress plays a crucial role in the pathogenesis of diabetic kidney disease.

Furthermore, purple sweet potato color delayed endothelial cell senescence by increasing cellular autophagy and attenuating inflammasome activity in mice (Sun et al., 2019). Purple sweet potato color can also elevate Sirt1 levels in the livers of high-fat diet mice (Su et al., 2020). Sirt1 is a member of the sirtuin family of proteins known for their role in regulating the healthspan that remove acetyl groups from proteins (Houtkooper et al., 2012). Another prominent feature of sweet potato anthocyanins is its antitumor effect demonstrated in stomach, colon, rectal, and bladder cancers (Li et al., 2018). A direct association with lifespan extension has been shown with the fruit fly, a well-established model organism for aging studies (Han et al., 2021). After being fed purple sweet potato extracts in their culture medium, the flies lived

14.5% longer on average. In summary, the compounds responsible for the intense purple color of the Okinawan sweet potato have also been shown to have antioxidant, antidiabetic, anti-cancer, and anti-inflammatory activities, all contributing to the promotion of healthspan and lifespan (Mohanraj and Sivasankar, 2014).

3.2 GOYA (BITTER MELON)

Goya, also known as bitter melon outside of Okinawa, is one of the most famous vegetables in the traditional Okinawan diet. It has also been used as a food product and in traditional medicine in many parts of the world. It has a distinct, slightly bitter taste and it is most commonly used in *goya champuru*, the representative Okinawan stir-fry dish with eggs and tofu. Being so widely consumed in Okinawa, it is not surprising that it also confers considerable health benefits. Goya contains a variety of bioactive phytochemicals, such as cucurbitane type triterpenoids, cucurbitane type triterpene glycoside, phenolic acids, flavonoids, and essential oils. Previous studies have reported several biological activities of goya and its extracts, including antioxidant, anti-cancer, antidiabetic, anti-inflammatory, antiviral, hepatoprotective, and neuroprotective activities (Dandawate et al., 2016). Several recent studies have strengthened these findings. Researchers demonstrated a glucose-lowering effect of goya extract in one randomized, placebo-controlled study of patients with type 2 diabetes (Kim et al., 2020). Goya could therefore be a useful option as treatment support in patients with type 2 diabetes. Another study used a mouse model of spinal cord injury in which neuroinflammation negatively affects neuronal survival and consequently causes long-term disability. Goya extract demonstrated anti-inflammatory effects and a protective outcome in this mouse model (Kung et al., 2020). One of the most prominent properties of goya's bioactive molecules is their inhibitory effect on cancers. Many studies have demonstrated preventative and therapeutic effects of goya extracts on several cancers, including colon, liver, pancreatic, and brain (Sur and Ray, 2020). A recent study showed that goya extract could inhibit glycolysis and lipid metabolism and induce the death of oral cancer cells (Sur et al., 2019). The antiaging properties of goya constituents were directly demonstrated in a yeast study where ten isolated compounds increased yeast lifespan through their antioxidative ability and effects on gene regulation (Cao et al., 2018). Furthermore, naturally aged male and female mice fed goya extract three times per week exhibited decelerated skin and sexual organ aging (Hiramoto et al., 2020). Overall, goya consumption can help prevent and alleviate several age-related diseases and potentially affect the aging process.

3.3 SHIIKUWASA (*Citrus depressa*)

Another symbol of Okinawa is the Shiikuwasa, a small, green, and very sour citrus commonly turned into juice and other products. Shiikuwasa is native to the Ryukyu Islands and is primarily produced in the northern region of Okinawa Island. While it looks similar to many other smaller citrus fruits, like mandarins, it contains unique compounds with remarkable health benefits. The best-researched compound in terms of health benefits is nobiletin, a polymethoxylated flavone found in the peel of Shiikuwasa. It displays a wide range of biological activities, including anti-cancer, anti-inflammatory, antidiabetic, anti-obesity, and neuroprotective activity. For example, nobiletin was shown to exert a range of beneficial effects on the pathological hallmarks of

Alzheimer's disease and Parkinson's disease in multiple animal models (Nakajima and Ohizumi, 2019). Similarly, nobiletin restored the learning impairment and cognitive deficits caused by an NMDA receptor antagonist in mice via activation of ERK signaling (Nakajima et al., 2007). A study using human neuroblastoma cells showed that nobiletin could stimulate the expression of an amyloid- β protein degrading enzyme called neprilysin which could potentially delay or prevent the incidence of Alzheimer's disease (Fujiwara et al., 2014). Given the multitude of effects on brain cells, it would be interesting to test the effects of nobiletin in terms of cognitive enhancement, in other words, its role as a natural nootropic. In the context of metabolic dysfunctions, shiikuwasa peel extract was added to the high-fat diet, which induces obesity in mice (Lee et al., 2011). The group with the added extract had significantly reduced body weight gain and white adipose tissue weight and reduced expression of lipogenesis-related genes. This suggests that shiikuwasa peel extract can help maintain a healthy lipid profile in humans. Several studies have also demonstrated remarkable anti-cancer properties of nobiletin. For instance, nobiletin demonstrated antiproliferative effects on several human gastric cancer cell lines (Yoshimizu et al., 2004) and inhibited the metastatic potential of gastric cancer in a mouse model (Minagawa et al., 2001). Furthermore, nobiletin treatment resulted in reduced tumor volume and weight after transplantation of renal cancer cells into nude mice (Wei et al., 2019). Similar anti-cancer effects of nobiletin were found using a human fibrosarcoma cell line (Miyata et al., 2008) and non-small-cell lung carcinoma cell lines (Uesato et al., 2014). In other studies, nobiletin exerted hepatoprotective effects in rats during acute liver injury (Akachi et al., 2010) and ameliorated inflammation and photoaging in human keratinocytes and nude mice after exposure to ultraviolet B radiation (Tanaka et al., 2004). Taken together, regular consumption of shiikuwasa fruit and juice may prevent and delay several age-related diseases due to its bioactive components, such as nobiletin. Since nobiletin demonstrates potent pro-apoptotic mechanisms in cancer cells, it would be worthwhile to examine its effects on senescent cells, a known driver of aging.

3.4 KONNYAKU (KONJAC)

Konjac is an East and Southeast Asian plant with an edible corm (round tuberous root). In Japan, it is known by the name *konnyaku*, that usually refers to the gelatinous cake dish or noodles. Konnyaku mainly contains water, and the rest is glucomannan, a dietary fiber polysaccharide with several reported health benefits. They range from anti-obesity, antidiabetic, anti-inflammatory, and laxative and prebiotic activities (Devaraj et al., 2019). In a study with diabetic rats, treatment with a konnyaku-inulin extracts combination significantly decreased blood glucose and triglycerides levels and improved insulin production in islets (Gao et al., 2019). Similarly, glucomannan and its β -glucanase-degraded products caused hypoglycemic effects in type 2 diabetes mouse models through beneficial prebiotic effects on the gut microbiota (Wu et al., 2020). In a prospective, non-randomized intervention trial with obese individuals, treatment with 500 mg glucomannan twice a day for six months resulted in reduced weight and improved lipid and glucose blood profiles of the treated individuals (Maia-Landim et al., 2018). Metabolic profile modulating properties of glucomannan are further demonstrated by a meta-analysis of its effects on cholesterol levels. With an intake of 3 g of glucomannan daily, the subjects showed 10% and 7% reduced LDL cholesterol and non-HDL cholesterol

levels, respectively (Ho et al., 2017). Glucomannan can also help maintain healthy digestion and gut microbiota composition. In a mouse study of induced constipation, glucomannan significantly decreased total gut transit time and increased the number of beneficial *Bifidobacterium* in the gut (Hayeeawaema et al., 2020). Several studies also reported a positive effect of glucomannan and glycosylceramides, another component of konjac extract, on skin aging and health. Healthy human volunteers were supplemented with 100 mg/day of konjac extract containing 5 mg of glycosylceramides and showed significantly decreased skin dryness, redness, hyperpigmentation, itching, and oiliness (Heggar Venkataramana et al., 2020). Another study showed that glucomannan restored a normal skin environment after UV radiation-induced acute senescence and damage by promoting cell growth (Choi et al., 2020). In conclusion, consuming konnyaku or supplementing with its extract can provide various metabolic benefits and decelerate skin aging.

3.5 SHIITAKE MUSHROOM (*Lentinus edodes*)

Shiitake mushrooms are a common dietary staple in many parts of East Asia. They are also widespread in Okinawan cuisine, where they are often dried before use. They are high in protein, fiber, and vitamins, especially vitamin D. Mushrooms are the only nonfortified food source of vitamin D, and UV irradiating cultured mushrooms can further increase their nutritional content (Kamweru and Tindibale, 2016). They have immunomodulatory, lipid-lowering, and anti-cancer properties, the latter of which is due to a polysaccharide called lentinan (Willcox et al., 2009). The major bioactive component in lentinan is β -glucan which has immunostimulatory properties. The antitumor effect of lentinan has already been known since the 1960s. A paper summarizing lentinan-associated treatment cases from 135 independent studies in China over 12 years concluded that lentinan has a substantial effect on promoting the efficacy of chemotherapy and radiation therapy during cancer treatment (Zhang et al., 2019). One proposed mechanism of the antitumor effect of lentinan is related to its immunostimulatory activity. In a randomized human trial, the participants consumed 5 or 10 g of mushrooms daily for four weeks (Dai et al., 2015). Daily shiitake consumption improved T-cell and natural killer cell proliferation and increased antibody production. This effect was present under lower inflammatory conditions, as suggested by reduced C-reactive protein levels. Lentinan also possesses antioxidative and anti-inflammatory properties. This was demonstrated in a study with benzo(a) pyrene-treated human keratinocytes (Zi et al., 2020). Benzo(a)pyrene is a common environmental pollutant that can cause skin aging through oxidative stress and increased production of inflammatory mediators. Lentinan inhibited oxidative stress induced by benzo(a)pyrene and reduced the levels of inflammatory factors. In summary, shiitake mushroom consumption can improve immunity and blood lipid profile and confer anti-cancer benefits.

4 ELUCIDATING THE LONGEVITY-PROMOTING MECHANISMS OF NOBILETIN

In this chapter, I will briefly describe a future project concept that I aim to carry out as part of my doctoral studies at OIST. As described in the previous chapter, nobiletin suppresses cell viability and invasion via the AKT pathways in prostate cancer cells (Chen et al., 2014), gastric

adenocarcinoma cells (Lee et al., 2011), and renal carcinoma cells (Wei et al., 2019). I hypothesize that nobiletin can also reduce the viability of senescent cells. Senescent cells have been established as a factor influencing aging and the progression of several age-related diseases. Therefore, it is of interest to find bioactive molecules that can selectively remove senescent cells or inhibit their deleterious effects. These types of molecules are called senolytics if they kill senescent cells or senomorphics if they inhibit their functions (Song et al., 2020). Quercetin, a naturally occurring flavonoid, has been extensively used as a senolytic agent in previous studies. It has been shown to target senescent cell survival pathways and inhibit AKT activity (Zhu et al., 2015). An antiproliferative effect of quercetin has also been demonstrated in cancer cells via inhibition of the PI3K-AKT/PKB pathway. Due to a similar mechanism involving the AKT pathway, nobiletin could therefore also exhibit senolytic properties. Furthermore, the flavonoid procyanidin C1, a polyphenolic component of grape seed extract, has recently been identified as a senotherapeutic agent which alleviates age-related dysfunctions in naturally aged mice (Xu et al., 2021). Nobiletin and procyanidin C1 share a similar polyphenolic molecular structure which further supports the potential senotherapeutic activity of nobiletin. Nobiletin is only one example of the rich phytochemical diversity of the traditional Okinawan diet. Regularly consuming foods rich in various bioactive compounds could provide a synergistic effect that reduces the incidence of age-related diseases and increased longevity, as observed in the Okinawan centenarian population.

5 CONCLUSION

The traditional Okinawan diet shares many commonalities with other blue-zone diets, but it also has numerous unique aspects originating from its rich historical background. Okinawa was once the region with the longest living people on the planet. However, due to the transformative changes in dietary habits that took place in the last decades, it, unfortunately, lost this proud title. If the trends continue in the same direction, Okinawa could further fall in the Japanese prefecture ranking of life expectancy at birth. As the younger generations abandon the traditional dietary habits for westernized ones, the negative future projections could sadly come true. It is therefore vital that the Okinawa prefecture increases its efforts to preserve its culinary heritage. Nevertheless, the demographic studies conducted on its centenarian population offer valuable insights into what constitutes a healthy diet. Future studies will also uncover the mechanisms of the individual nutritional components, which will contribute to the understanding of the aging process.

6 REFERENCES

- Akachi, T., Shiina, Y., Ohishi, Y., Kawaguchi, T., Kawagishi, H., Morita, T., Mori, M., & Sugiyama, K. 2010. Hepatoprotective effects of flavonoids from shekwasha (*Citrus depressa*) against D-galactosamine-induced liver injury in rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 56(1): 60–67
- Cao, X., Sun, Y., Lin, Y., Pan, Y., Farooq, U., Xiang, L., & Qi, J. 2018. Antiaging of Cucurbitane Glycosides from Fruits of *Momordica charantia* L. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018
- Chen, J., Creed, A., Chen, A. Y., Huang, H., Li, Z., Rankin, G. O., Ye, X., Xu, G., & Chen, Y. C. 2014. Nobiletin suppresses cell viability through AKT pathways in PC-3 and DU-145 prostate cancer cells. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 15(1): 1-10

- Choi, K. H., Kim, S. T., Bin, B. H., & Park, P. J. 2020. Effect of Konjac Glucomannan (KGM) on the Reconstitution of the Dermal Environment against UVB-Induced Condition. *Nutrients*, 12(9): 2779
- Cockerham, W. C., & Yamori, Y. 2001. Okinawa: An exception to the social gradient of life expectancy in Japan. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 10(2): 154–158
- Dai, X., Stanilka, J. M., Rowe, C. A., Esteves, E. A., Nieves, C., Jr, Spaiser, S. J., Christman, M. C., Langkamp-Henken, B., & Percival, S. S. 2015. Consuming Lentinula edodes (Shiitake) Mushrooms Daily Improves Human Immunity: A Randomized Dietary Intervention in Healthy Young Adults. *Journal of the American College of Nutrition*, 34(6): 478–487
- Dandawate, P. R., Subramaniam, D., Padhye, S. B., & Anant, S. 2016. Bitter melon: A panacea for inflammation and cancer. *Chinese journal of natural medicines*, 14(2): 81–100
- Devaraj, R. D., Reddy, C. K., & Xu, B. 2019. Health-promoting effects of konjac glucomannan and its practical applications: A critical review. *International journal of biological macromolecules*, 126: 273–281
- Fujiwara, H., Kimura, J., Sakamoto, M., Yokosuka, A., Mimaki, Y., Murata, K., Yamaguchi, K., & Ohizumi, Y. 2014. Nobiletin, a flavone from Citrus depressa, induces gene expression and increases the protein level and activity of neprilysin in SK-N-SH cells. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 92(5): 351–355
- Gao, T., Jiao, Y., Liu, Y., Li, T., Wang, Z., & Wang, D. 2019. Protective Effects of Konjac and Inulin Extracts on Type 1 and Type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Research*, 2019
- Han, Y., Guo, Y., Cui, S. W., Li, H., Shan, Y., & Wang, H. 2021. Purple Sweet Potato Extract extends lifespan by activating autophagy pathway in male Drosophila melanogaster. *Experimental Gerontology*, 144: 111190
- Hayeewaema, F., Wichienchot, S., & Khuituan, P. 2020. Amelioration of gut dysbiosis and gastrointestinal motility by konjac oligo-glucomannan on loperamide-induced constipation in mice. *Nutrition*, 73: 110715
- Heggar Venkataramana, S., Puttaswamy, N., & Kodimule, S. 2020. Potential benefits of oral administration of AMORPHOPHALLUS KONJAC glycosylceramides on skin health—a randomized clinical study. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1): 1-9
- Hiramoto, K., Orita, K., Yamate, Y., & Kobayashi, H. 2020. Role of Momordica charantia in preventing the natural aging process of skin and sexual organs in mice. *Dermatologic Therapy*, 33(6): e14243
- Ho, H. V. T., Jovanovski, E., Zurbau, A., Blanco Mejia, S., Sievenpiper, J. L., Au-Yeung, F., Jenkins, A. L., Duvnjak, L., Leiter, L., & Vuksan, V. 2017. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of the effect of konjac glucomannan, a viscous soluble fiber, on LDL cholesterol and the new lipid targets non-HDL cholesterol and apolipoprotein B. *The American journal of clinical nutrition*, 105(5): 1239–1247
- Houtkooper, R. H., Pirinen, E., & Auwerx, J. 2012. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(4): 225–238
- Kamweru, P. K., & Tindibale, E. L. 2016. Vitamin D and Vitamin D from Ultraviolet-Irradiated Mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 18(3): 205–214
- Kim, S. K., Jung, J., Jung, J. H., Yoon, N., Kang, S. S., Roh, G. S., & Hahm, J. R. 2020. Hypoglycemic efficacy and safety of Momordica charantia (bitter melon) in patients with type 2 diabetes mellitus. *Complementary Therapies in Medicine*, 52: 102524
- Kung, W.-M., Lin, C.-C., Kuo, C.-Y., Juin, Y.-C., Wu, P.-C., & Lin, M.-S. 2020. Wild Bitter Melon Exerts Anti-Inflammatory Effects by Upregulating Injury-Attenuated C1SD2 Expression following Spinal Cord Injury. *Behavioural Neurology*, 2020
- L. Reynolds, S., Hagedorn, A., Yeom, J., Saito, Y., Yokoyama, E., & M. Crimmins, E. 2008. A Tale of Two Countries---the United States and Japan: Are Differences in Health Due to Differences in Overweight? *Journal of Epidemiology*, 18(6): 280–290
- Lee, Y.-C., Cheng, T.-H., Lee, J.-S., Chen, J.-H., Liao, Y.-C., Fong, Y., Wu, C.-H., & Shih, Y.-W. 2011. Nobiletin, a citrus flavonoid, suppresses invasion and migration involving FAK/PI3K/Akt and small GTPase signals in human gastric adenocarcinoma AGS cells. *Molecular and cellular biochemistry*, 347(1): 103–115

- Lee, Y.-S., Cha, B.-Y., Saito, K., Choi, S.-S., Wang, X. X., Choi, B.-K., Yonezawa, T., Teruya, T., Nagai, K., & Woo, J.-T. 2011. Effects of a Citrus depressa Hayata (shiikuwasa) extract on obesity in high-fat diet-induced obese mice. *Phytomedicine*, 18(8–9): 648–654
- Li, W.-L., Yu, H.-Y., Zhang, X.-J., Ke, M., & Hong, T. 2018. Purple sweet potato anthocyanin exerts antitumor effect in bladder cancer. *Oncology Reports*, 40(1): 73–82.
- Maia-Landim, A., Ramírez, J. M., Lancho, C., Poblador, M. S., & Lancho, J. L. 2018. Long-term effects of *Garcinia cambogia*/Glucomannan on weight loss in people with obesity, PLIN4, FTO and Trp64Arg polymorphisms. *BMC Complementary and alternative medicine*, 18(1): 1-9
- MHLW. 2015. Ministry of Health, Labour and Welfare Japan: Overview of life tables by prefecture in 2015. <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/life/tdfk15/index.html> (June 2022)
- Minagawa, A., Otani, Y., Kubota, T., Wada, N., Furukawa, T., Kumai, K., Kameyama, K., Okada, Y., Fujii, M., Yano, M., Sato, T., Ito, A., & Kitajima, M. 2001. The citrus flavonoid, nobiletin, inhibits peritoneal dissemination of human gastric carcinoma in SCID mice. *Japanese journal of cancer research*, 92(12): 1322–1328
- Miyagi, S., Iwama, N., Kawabata, T., & Hasegawa, K. 2003. Longevity and Diet in Okinawa, Japan: The Past, Present and Future. *Asia Pacific Journal of Public Health*, 15(1_suppl): S3–S9
- Miyata, Y., Sato, T., Imada, K., Dobashi, A., Yano, M., & Ito, A. 2008. A citrus polymethoxyflavonoid, nobiletin, is a novel MEK inhibitor that exhibits antitumor metastasis in human fibrosarcoma HT-1080 cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 366(1): 168–173
- Mohanraj, R., & Sivasankar, S. 2014. Sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam)—a valuable medicinal food: A review. *Journal of medicinal food*, 17(7): 733–741
- Nakajima, A., & Ohizumi, Y. 2019. Potential Benefits of Nobiletin, A Citrus Flavonoid, against Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(14): 3380
- Nakajima, A., Yamakuni, T., Matsuzaki, K., Nakata, N., Onozuka, H., Yokosuka, A., Sashida, Y., Mimaki, Y., & Ohizumi, Y. 2007. Nobiletin, a citrus flavonoid, reverses learning impairment associated with N-methyl-D-aspartate receptor antagonism by activation of extracellular signal-regulated kinase signaling. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 321(2): 784–790
- Shirai, K. 2020. Social Determinants of Health on the Island of Okinawa. *Health in Japan: Social Epidemiology of Japan since the 1964 Tokyo Olympics*, Oxford University Press: p297
- Sho, H. 2001. History and characteristics of Okinawan longevity food. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 10(2): 159–164
- Song, S., Lam, E. W.-F., Tchkonina, T., Kirkland, J. L., & Sun, Y. 2020. Senescent Cells: Emerging Targets for Human Aging and Age-Related Diseases. *Trends in Biochemical Sciences*, 45(7): 578–592
- Su, W., Zhang, C., Chen, F., Sui, J., Lu, J., Wang, Q., Shan, Q., Zheng, G., Lu, J., Sun, C., Fan, S., Wu, D., Zhang, Z., & Zheng, Y. 2020. Purple sweet potato color protects against hepatocyte apoptosis through Sirt1 activation in high-fat-diet-treated mice. *Food & Nutrition Research*, 64
- Sun, C., Diao, Q., Lu, J., Zhang, Z., Wu, D., Wang, X., Xie, J., Zheng, G., Shan, Q., Fan, S., Hu, B., & Zheng, Y. 2019. Purple sweet potato color attenuated NLRP3 inflammasome by inducing autophagy to delay endothelial senescence. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5): 5926–5939
- Sur, S., Nakanishi, H., Flaveny, C., Ippolito, J. E., McHowat, J., Ford, D. A., & Ray, R. B. 2019. Inhibition of the key metabolic pathways, glycolysis and lipogenesis, of oral cancer by bitter melon extract. *Cell Communication and Signaling*, 17(1): 1-13
- Sur, S., & Ray, R. B. 2020. Bitter Melon (*Momordica Charantia*), a Nutraceutical Approach for Cancer Prevention and Therapy. *Cancers*, 12(8): 2064
- Tanaka, S., Sato, T., Akimoto, N., Yano, M., & Ito, A. 2004. Prevention of UVB-induced photoinflammation and photoaging by a polymethoxy flavonoid, nobiletin, in human keratinocytes in vivo and in vitro. *Biochemical pharmacology*, 68(3): 433–439.
- Todoriki, H., Willcox, D. C., & Willcox, B. J. 2004. The Effects of Post-War Dietary Change on Longevity and Health in Okinawa. *Okinawa Journal of American Studies*, 1: 52–61

- Uesato, S., Yamashita, H., Maeda, R., Hirata, Y., Yamamoto, M., Matsue, S., Nagaoka, Y., Shibano, M., Taniguchi, M., Baba, K., & Ju-ichi, M. 2014. Synergistic antitumor effect of a combination of paclitaxel and carboplatin with nobiletin from *Citrus depressa* on non-small-cell lung cancer cell lines. *Planta medica*, 80(6): 452–457
- Wei, D., Zhang, G., Zhu, Z., Zheng, Y., Yan, F., Pan, C., Wang, Z., Li, X., Wang, F., Meng, P., Zheng, W., Yan, Z., Zhai, D., Lu, Z., & Yuan, J. 2019. Nobiletin Inhibits Cell Viability via the SRC/AKT/STAT3/YY1AP1 Pathway in Human Renal Carcinoma Cells. *Frontiers in Pharmacology*, 690
- Willcox, D. C., Willcox, B. J., Todoriki, H., Curb, J. D., & Suzuki, M. 2006. Caloric restriction and human longevity: What can we learn from the Okinawans? *Biogerontology*, 7(3): 173–177
- Willcox, D. C., Willcox, B. J., Todoriki, H., & Suzuki, M. 2009. The Okinawan Diet: Health Implications of a Low-Calorie, Nutrient-Dense, Antioxidant-Rich Dietary Pattern Low in Glycemic Load. *Journal of the American College of Nutrition*, 28(sup4): 500S-516S
- Wu, C.-Y., Zhou, J., Long, F., Zhang, W., Shen, H., Zhu, H., Xu, J.-D., & Li, S.-L. 2020. Similar hypoglycemic effects of glucomannan and its enzyme degraded products from *Amorphophallus albus* on type 2 diabetes mellitus in mice and potential mechanisms. *Food & Function*, 11(11): 9740–9751
- Xu, Q., Fu, Q., Li, Z., Liu, H., Wang, Y., Lin, X., He, R., Zhang, X., Ju, Z., Campisi, J., Kirkland, J. L., & Sun, Y. 2021. The flavonoid procyanidin C1 has senotherapeutic activity and increases lifespan in mice. *Nature Metabolism*, 3(12): 1706–1726
- Yoshimizu, N., Otani, Y., Saikawa, Y., Kubota, T., Yoshida, M., Furukawa, T., Kumai, K., Kameyama, K., Fujii, M., Yano, M., Sato, T., Ito, A., & Kitajima, M. 2004. Anti-tumour effects of nobiletin, a citrus flavonoid, on gastric cancer include: Antiproliferative effects, induction of apoptosis and cell cycle deregulation. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 20: 95–101
- Zhang, M., Zhang, Y., Zhang, L., & Tian, Q. 2019. Mushroom polysaccharide lentinan for treating different types of cancers: A review of 12 years clinical studies in China. *Progress in molecular biology and translational science*, 163: 297–328
- Zheng, G.-H., Shan, Q., Mu, J.-J., Wang, Y.-J., Zhang, Z.-F., Fan, S.-H., Hu, B., Li, M.-Q., Xie, J., Chen, P., Wu, D.-M., Lu, J., & Zheng, Y.-L. 2019. Purple Sweet Potato Color Attenuates Kidney Damage by Blocking VEGFR2/ROS/NLRP3 Signaling in High-Fat Diet-Treated Mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019
- Zhu, Y., Tchkonja, T., Pirtskhalava, T., Gower, A. C., Ding, H., Giorgadze, N., Palmer, A. K., Ikeno, Y., Hubbard, G. B., Lenburg, M., O'Hara, S. P., LaRusso, N. F., Miller, J. D., Roos, C. M., Verzosa, G. C., LeBrasseur, N. K., Wren, J. D., Farr, J. N., Khosla, S., ... Kirkland, J. L. 2015. The Achilles' heel of senescent cells: From transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell*, 14(4): 644–658
- Zi, Y., Jiang, B., He, C., & Liu, L. 2020. Lentinan inhibits oxidative stress and inflammatory cytokine production induced by benzo(a)pyrene in human keratinocytes. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 19(2): 502–507

MODRE CONE – RAZKRITE SKRIVNOSTI DOLGOŽIVOSTI?

Saša PISKERNIK¹, Evgen BENEDIK², Neža LIPOVEC³ in Tanja PAJK ŽONTAR⁴

Povzetek: Modre cone so kraji v različnih predelih sveta, kjer ljudje živijo dlje od povprečja. Danes je na svetu prepoznanih pet modrih con, med katerimi je boljše poznan otok Okinawa, na katerem je življenjska doba ljudi med najdaljšimi na svetu. Med modre cone sodijo tudi predeli na otoku Sardinije v Italiji, otoku Ikaria v Grčiji ter mesti Loma Linda v Kaliforniji ter Nicoya v Kostariki. Ljudje, ki živijo v modrih conah, so dolgoživi, kar pomeni, da živijo 90 let ali več ter imajo manjše tveganje za nastanek srčno-žilnih bolezni, sladkorne bolezni tipa 2, nevrodegenerativnih bolezni, nekaterih oblik raka, povišanega krvnega tlaka, čezmerne hranjenosti ali debelosti. V zadnjem desetletju so v več študijah preučevali razloge za njihovo dolgoživost in ugotovili, da je ljudem iz modrih con skupno, da ne kadijo, uživajo hrano v zmernih količinah, so redno zmerno telesno dejavni, vrtnarijo in so izpostavljeni sončni svetlobi. Prehrana ljudi v modrih conah je pretežno rastlinskega izvora, temelji na uživanju zelenjave, stročnic, polnozrnatih žit in oreškov. Poleg tega je za ljudi z Okinawe značilno, da uživajo več rib in zelenega čaja ter se nikoli ne najedo do sitega. Tudi na Sardiniji ljudje uživajo več rib, poleg tega pa še več mlečnih izdelkov iz kozjega mleka. Na Ikariji uživajo več paradižnika, jogurta, oljčnega olja, liste vinske trte in rdeče vino. Dolgoživost v Nicoyi naj bi bila posledica uživanja mineralne vode s posebno sestavo. Za ljudi v Loma Lindi pa je značilno, da ne uživajo kave niti alkohola. Kot pomemben dejavnik za dolgoživost pa so prepoznali tudi način življenja brez stresa ter dobre družinske in prijateljske vezi. Morda bodo v prihodnosti skrivnosti dolgoživosti razkrili tudi z modernimi tehnikami prehranske genomike.

Ključne besede: modre cone, dolgoživost, genetska zasnova, prehrana, življenjski slog

BLUE ZONES – SECRETS OF LONGEVITY REVEALED?

Abstract: Blue Zones are places in different parts of the world where people live for an exceptionally long time. Today, five Blue Zones are recognised in the world. One of them is the island of Okinawa, where the life expectancy of people is among the longest in the world. Blue Zones also include areas on the island of Sardinia in Italy, the island of Ikaria in Greece and cities, namely Loma Linda in California and Nicoya in Costa Rica. People living in Blue Zones are long-lived, i.e. they live to be 90 years old or older and have a lower risk of developing cardiovascular diseases, type 2 diabetes, neurodegenerative diseases, certain cancers, high blood pressure, overweight or obesity. In the last decade, several studies have investigated the reasons for their longevity and found that people in Blue Zones share some common characteristics: they do not smoke, they eat in moderation, are moderately physically active on a regular basis, do gardening and are exposed to sunlight. People in the Blue Zones have a predominantly plant-based diet, consuming vegetables, legumes, whole grains and nuts. It is also typical for Okinawan people to consume more fish and green tea and never overeat. People in Sardinia also eat more fish and more goat milk products. In Ikaria, they consume more tomatoes, yoghurt, olive oil, vine leaves and red wine. Longevity in Nicoya is said to be related to the consumption of mineral water with a special composition. The inhabitants of Loma Linda, on the other hand, stand out because they do not consume coffee and alcohol.

¹ asist. dr. Saša Piskernik, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: sasa.piskernik@bf.uni-lj.si

² doc. dr. Evgen Benedik, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: evgen.benedik@bf.uni-lj.si

³ asist. Neža Lipovec, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: neza.lipovec@bf.uni-lj.si

⁴ doc. dr. Tanja Pajk Žontar, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tanja.pajk@bf.uni-lj.si

Another important factor for longevity is also a stress-free lifestyle and good family and friendship ties. Perhaps the secrets of longevity will also be revealed in the future with modern techniques of nutritional genomics.

Key words: Blue Zones, longevity, genetics, nutrition, lifestyle

1 ŽIVLJENJSKA DOBA V SVETU IN PRI NAS

1.1 STOLETNIK IN SUPERSTOLETNIK

Življenjska doba se podaljšuje. Pričakovana življenjska doba ljudi na svetu v obdobju 1990-95 je bila 64,6 let, sedaj je 71,9 let. Leta 2050 je pričakovana življenjska doba 76,9 let in leta 2100 kar 82,6 let; v Sloveniji pa 73,7 let, 81,2 let, 85,6 let oz. 91,5 let (UN, 2017). Deklica, rojena v Sloveniji leta 2020, lahko ob rojstvu pričakuje, da bo živela 83,4 let, deček pa 77,8 let (STAT.SI, 2022).

V zadnjih desetletjih se v svetu in pri nas povečuje število stoletnikov, torej oseb, ki živijo 100 let in več (Podpečan, 2010). Glede na to, da je pričakovana življenjska doba manjša od 100 let, je pojem stoletnik neločljivo povezan z dolgoživostjo oz. življenjsko dobo. Med vsemi starostnimi kategorijami pa najhitreje narašča število ljudi v kategoriji 80 + (Bolzetta in Cester, 2020). Ocenjeno je, da se število stoletnikov na svetu podvoji od leta 1960 vsakih deset let. Po podatkih Združenih narodov naj bi v letu 2021 na svetu živelo več kot pol milijona stoletnikov, in sicer okoli 573.000 (Buchholz, 2021a; Buchholz, 2021b). Glede na napovedi naj bi približno toliko stoletnikov leta 2050 živelo samo v Evropski Uniji (EC, 2022). Na Japonskem živi največ stoletnikov in sicer 6 na 10.000 prebivalcev oz. 0,06 %. Podatki za Slovenijo kažejo, da je leta 1991 v Sloveniji živelo 26 stoletnikov, le-teh je bilo v začetku leta 2020 že 252, kar pomeni nekaj več kot desetinko promila celotnega prebivalstva Slovenije (Svetin, 2020). Leta 2100 naj bi se število stoletnikov v Sloveniji povzpelo na 5.400.

Med starostnimi kategorijami prebivalstva so stoletniki še vseeno številčno najmanj zastopana kategorija, saj je za doseg tako visoke starosti potrebno imeti predvsem ugodno genetsko zasnovo in dobre okoljske pogoje. V enem izmed intervjujev slovenskih stoletnikov o skrivnostih svoje starosti pa jih je večina izpostavila zmernost in to tako v prehrani kot v odnosu do dela in počitka ter do dožemanja sveta in ljudi (Bandur, 2018). Med stoletniki je v razvitih predelih sveta največ žensk in sicer 85 %, z izjemo stoletnikov s Sardinije, kjer večji delež predstavljajo moški, kar znanstveniki pripisujejo edinstveni genetski zasnovi, ki jo imajo prebivalci iz Sardinije (Perls, 2007). Čeprav so na splošno ženske bolj dolgožive kot moški, pa imajo moški običajno boljši funkcionalni zdravstveni status kot ženske.

V zadnjih letih se uveljavlja tudi izraz superstoletnik/superstoletnica (angl. supercentenarian), ki v Slovenskem slovarju knjižnega jezika sicer (še) ni naveden (Podpečan, 2010; Wikipedia, 2022). V tuji znanstveni literaturi in spletni enciklopediji Wikipedia pa je superstoletnik definiran kot oseba, ki je dosegla starost 110 let in več (Gerontology Wiki, 2022; Perls, 2007). Tako visoko starost dosežejo ljudje izjemno redko, v Združenih Državah Amerike na primer le eden od 1000-ih stoletnikov (Perls, 2007). Najstarejša superstoletnica, katere starost je dokumentirana in nedvomna, je Francozinja Jeanne Calment (1875 – 1997), ki je dočakala 122 let in 164 dni ter tako postala tudi človek z najdlje trajajočo življenjsko dobo. V mesecu aprilu letošnjega leta (2022) pa je pri 119 letih umrla Japonka Kane Tanaka, ki je bila v tem obdobju najstarejša Zemljanka (Poole, 2022). To mesto je ponovno zasedla Japonka. Na svetu naj bi živelo okoli 560 superstoletnikov, med njimi je kar 90 % žensk. V Sloveniji je najdlje in sicer 110 let in 307 dni živela gospa Katarina Marinič, ki je tudi prva Slovenka, ki je doživela starost

110 let in hkrati najdlje živeča Slovenka v zgodovini.

1.2 RAZLOGI ZA DALJŠO ŽIVLJENJSKO DOBO

Nekateri posamezniki živijo znatno dlje kot drugi ljudje, gre za fenomen, ki ga imenujemo dolgoživost. Starostni prag za dolgoživost se spreminja, saj se podaljšuje življenjska doba. Danes k dolgoživim ljudem prištevamo tiste, ki živijo 90 let in več (Poulain in sod., 2020). Običajno pa se v študijah o (ekstremni) dolgoživosti osredotočajo na preučevanje prehranskih in drugih navad ljudi, ki so stari 100 let in več.

Na dolgoživost vpliva več različnih dejavnikov, med katere štejemo tudi genetsko zasnovo, povedano drugače, dolgoživost se prenaša iz roda v rod. Dolgoživost pa ni vedno povezana z dobrim zdravjem, saj lahko posamezniki visoko starost dočakajo zdravi, brez bolezni, lahko pa imajo eno ali celo več s staranjem oz. starostjo povezanih bolezni (kroničnih nenalezljivih bolezni) (Sebastiani in sod., 2012).

Naša genetska zasnova torej ima na dolgoživost določeno mero vpliva, študije nakazujejo, da je ta delež med 20 in 30 %. Kljub temu, da dolgoživost posameznikov lahko pripišemo tudi genetskemu dejavniku, je bilo do sedaj preučeno majhno število genetskih variant. Poudariti pa je potrebno, da je genetska zasnova za dejansko dolgoživost bolj pomembna z naraščajočo starostjo (Ekmekcioglu, 2020; Sebastiani in sod., 2013; Serbezov in sod., 2018).

Na dolgoživost znatno vpliva tudi spol, čeprav ostaja vprašanje, zakaj ženske običajno živijo dlje kot moški, le delno pojasnjeno. Mnoge hipoteze so bile predlagane, ki bi pojasnile razlike v dolgoživosti med spoloma, med njimi tudi bolj aktiven imunski sistem pri ženskah in zaščitni učinek estrogena, manjša aktivnost ravnega hormona in učinek kromosoma X. Večina hipotez ni znanstveno podprtih, zdi pa se, da bi lahko med bolj verjetnimi hipotezami bila hipoteza o heterogametnem spolu (Perls, 2007).

Genetska zasnova in spol imata torej vpliv na dolgoživost, vendar pa so naše izkušnje tekom življenja prav tako pomembne in nas izoblikujejo (Accardi in sod., 2019a). Na dolgoživost zelo verjetno vpliva tudi naš fenotip, torej kombinacija različnih genetskih, epigenetskih faktorjev ter življenjskih okoliščin, ki lahko pomeni boljši odziv organizma na biološke in druge dražljaje (Accardi in sod., 2019b; Fraser in Shavlik, 2001). Preučevanje okoljskih dejavnikov nam nudi vpogled v zdravstveno stanje splošne populacije ter v načine preprečevanja bolezni, medtem ko s preučevanjem genetskih dejavnikov stoletnikov dobimo vpogled v samo biologijo staranja (Serbezov in sod., 2018).

Na dolgoživost pomembno vpliva tudi življenjski slog, kamor sodijo prehranske navade, stopnja telesne dejavnosti, kajenje, hormonske terapije, socio-ekonomski dejavniki, izobrazba ter nenazadnje naša sposobnost za spopadanje s stresom. Pomembne so tudi naše življenjske okoliščine, za dolgoživost pa moramo v življenju imeti tudi nekaj sreče (Accardi in sod., 2019a; Fraser in Shavlik, 2001). V zadnjih desetletjih je k dolgoživosti in s tem povezanim znatnim porastom števila stoletnikov in superstoletnikov zagotovo doprinesla tudi bolj dostopna in naprednejša zdravstvena oskrba, zaradi katere danes marsikdo živi bistveno dlje, kot bi pred leti (Perls, 2007; Serbezov in sod., 2018). Poleg tega je dolga življenjska doba povezana tudi s

počasnejšimi procesi staranja. Stoletniki in superstoletniki tudi redkeje zbolijo za kroničnimi nenalezljivimi boleznimi kot so srčno-žilne bolezni in sladkorna bolezen tipa 2 (Fraser in Shavlik, 2001).

Prav zaradi navedenih različnih dejavnikov, ki vplivajo na dolgoživost, je težko postaviti standardiziran model dolgoživosti. Kljub temu pa nam raziskave stoletnikov nudijo spoznanja, na podlagi katerih lahko oblikujemo priporočila za zdrav življenjski slog oz. postavimo strategijo uspešnega staranja (Accardi in sod., 2019b).

2 KAJ SO MODRE CONE?

Modre cone so specifična geografska območja, v katerih ljudje živijo dlje kot kjerkoli drugje na svetu. Besedno zvezo modra cona (angl. Blue Zone) sta prva uporabila Gianni Pes in Michel Poulain leta 2004, avtorja raziskave o prebivalcih Sardinije, kjer sta z modrim markerjem na zemljevidu obkrožila področja oz. cone z največjim odstotkom stoletnikov (Perls, 2007). Naslednje leto je Dan Buettner v reviji National Geographic objavil članek z naslovom »The Secrets of Long Life«, v katerem je koncept modre cone razširil na dodatnih pet geografskih področij. Številka revije, v kateri je bil objavljen članek o modrih conah, je postala tretja najbolj prodajana številka v zgodovini revije.

Tako je danes na svetu prepoznanih pet modrih con. Poleg predelov na otoku Sardinije ob obali Italije, ki predstavlja dom za najdlje živeče moške na svetu, med bolj poznane sodi tudi japonski otok Okinawa, na katerem je življenjska doba ljudi, še posebej žensk, med najdaljšimi na svetu (Buettner in Skemp, 2016). Med modre cone sodijo tudi predeli na otoku Ikaria v Grčiji ter dve mesti in sicer Loma Linda v Kaliforniji ter Nicoya v Kostariki (Perls, 2007). Okinawa je peti največji japonski otok, kjer prevladuje vlažna subtropska klima. Na severnem, podeželskem delu živijo ljudje z najdaljšo življenjsko dobo na svetu. Loma Linda je mesto poleg Los Angelesa v Kaliforniji, kjer na življenje prebivalcev znatno vpliva Adventistična cerkev, kateri pripadajo. V Loma Lindi živijo ljudje 10 let dlje od nacionalnega povprečja Američanov, precejšen del prebivalcev pa živi 100 let ali več (Buettner in Skemp, 2016). Adventisti imajo tudi bistveno nižjo stopnjo umrljivosti zaradi različnih rakavih obolenj in srčno-žilnih bolezni, pri čemer so študije pokazale, da je pojavnost raka danke in srčno-žilnih obolenj večja pri tistih adventistih, ki uživajo hrano rastlinskega in živalskega izvora (Fraser in sod., 2020). Nicoya je polotok na Kostariki, kjer ljudje porabijo le 15 % sredstev, ki jih za zdravljenje namenijo povprečni Američan, hkrati pa je v Nicoyi dvakrat večja verjetnost, da bodo ljudje doživeli 90 let zdravi. Ljudje na egejskem otoku Ikaria živijo osem let dlje kot Američani, manj pogosto zbolevajo za različnimi oblikami raka, srčno-žilnimi boleznimi in demenco (Buettner in Skemp, 2016).

3 ŽIVLJENJSKE NAVADE POVEZANE Z DOLGOŽIVOSTJO – DEJAVNIKI POVEZANI Z DOLGOŽIVOSTJO

Ljudje, ki živijo na območju modrih con, imajo nekatere skupne značilnosti in sicer na prvo mesto postavljajo družino. Njihova prehrana temelji na uživanju tehnološko čim manj predelanih živil, ki so predvsem lokalnega in rastlinskega izvora, še posebej stročnicah, so skozi

celo življenje zmerno telesno dejavni, ne kadijo in so vključeni v družabno življenje v svojem okolju (Bolzetta in Cester, 2020; Poulain in sod., 2020).

Raziskave kažejo da ženske običajno živijo dlje kot moški (Accardi in sod., 2019a). Na Okinawi, ki je že tako poznana kot otok na katerem živijo ljudje z najdaljšo življenjsko dobo, to še posebej velja za ženske (Buettner in Skemp, 2016). Nasprotno pa velja za prebivalce Nicoye, kjer moški živijo dlje. Prav tako primerjava z moškimi z Okinawe pokaže, da imajo le ti v primerjavi z moškimi iz Nicoye vseeno manj možnosti, da doživijo visoko starost, torej 100 let. Dolgoživost moških prebivalcev Nicoye so avtorji povezali z nižjim deležem srčno-žilnih bolezni ter s tem povezanih smrti, saj so določili nižje vrednosti markerjev srčno-žilnih bolezni, ki so povezani s tveganjem za nastanek teh bolezni. Poleg tega so določili tudi nižje vrednosti nekaterih drugih markerjev, ki so povezani s staranjem. Potrebno pa je poudariti, da prebivalci Nicoye nadpovprečno uporabljajo osnovne preventivne storitve na področju zdravja oz. zdravstva (Rosero-Bixby in sod., 2013).

3.1 PREHRANA

Raziskave nakazujejo, da je ustrezna prehrana pomembna za dolgoživost, pri tem pa je pomembno spoznanje, da imajo lahko različni načini prehranjevanja na posameznikovo dolgoživost lahko večji ali manjši vpliv. Rezultati številnih raziskav o vrsti, kakovosti in kombinaciji živil v povezavi z dolgoživostjo pa ostajajo nasprotujoči. Vse več dokazov namreč kaže na to, da bi prehrana posameznika morala biti načrtovana glede na spol in starost posameznika ter nenazadnje glede na posameznikov genetski profil in tveganje za razvoj presnovnega sindroma (Longo in Anderson, 2022). Ne glede na navedeno dejstvo, pa imajo stoletniki, ki živijo v različnih modrih conah, glede prehranskih navad nekaj skupnih značilnosti, ena izmed njih je, da običajno pretežno uživajo hrano rastlinskega izvora. Kljub temu pa takega načina prehranjevanja ne moremo definirati kot striktno vegetarijanskega ali celo veganskega. Stoletniki v modrih conah tako zaužijejo veliko zelenjave, sadja ter rastlinskih olj. Prav tako uživajo rdeče meso, perutnino, ribe ter mleko in mlečne izdelke, vendar v omejenih količinah. Pomemben je tudi vnos energije oz. energijska bilanca (Puca in sod., 2018).

Stoletniki na Sardiniji uživajo prehrano, ki temelji na žitih, stročnicah, sadju ter kuhanem krompirju. Poleg tega pogosto uživajo tudi meso, predvsem svinjino ter tudi kozje in ovčje meso. Pomemben del prehrane so tudi mlečni izdelki, kjer pa prevladuje kozje in ovčje mleko. Po drugi strani pa zaužijejo manjše količine rib ter tudi slaščic (Nieddu in sod., 2020). Kozje mleko ima nekoliko večjo vsebnost nekaterih mineralov, predvsem kalcija, fosforja, cinka in selena. Kalcij in fosfor naj bi torej obvarovala stoletnike na Sardiniji pred zmanjšanjem kostne gostote. Med stoletniki na Sardiniji je tako manj različnih zlomov kosti (Pes in sod., 2015). Se pa tudi način prehranjevanja v modri coni, kot je Sardinija, spreminja. V današnji prehrani stoletnikov še vedno prevladuje mediteranski način prehranjevanja, kjer imajo glavno vlogo oljčno olje, sveže sadje in žita. Na drugi strani pa poročajo o manjšem vnosu stročnic in zelene listnate zelenjave ter o večjem vnosu govejega, svinjskega in piščančjega mesa ter mlečnih izdelkov (Pes in sod., 2021). Podobno kot pri prebivalcih Oligastre na Sardiniji, tudi v Nicoyi uživajo prehrano, ki temelji na žitih, stročnicah ter sadju, ki ga zaužijejo več kot na Sardiniji. Pogosto uživajo tudi krompir ter meso, najbolj pogosto svinjsko meso, pa tudi goveje in

piščančje. Prav tako kot na Sardinji, tudi v Nicoyi uživajo meso, ki je lokalnega izvora, prav tako so domači tudi izdelki iz mesa. Zaužijejo tudi veliko mlečnih izdelkov, po drugi strani pa manj rib in slaščic (Nieddu in sod., 2020). V primerjavi s preostalimi prebivalci Kostarike, zaužijejo prebivalci Nicoye več nepredelanih živil, kot npr. riž, fižol, govedino, ribe, piščanca ter manj raznih drugih, bolj predelanih živil kot npr., staran sir, majoneza. Uživajo pa tudi manj oljčnega olja ter sveže zelenjave v obliki, kot npr. solata, avokado, korenje, paradižnik. Popijejo tudi manj mleka. Kljub temu, da zaužijejo več ogljikovih hidratov, beljakovin ter energije, zaužijejo tudi več prehranske vlaknine kot ostali prebivalci Kostarike. Prav tako lahko njihovo prehrano označimo kot prehrano z nizkim glikemičnim indeksom (Rosero-Bixby in sod., 2013). Njihova voda je bogata s kalcijem in magnezijem, kar bi lahko vplivalo tudi na manjše tveganje za nastanek srčno-žilnih bolezni ter manjše tveganje za manjšo kostno gostoto (Buettner in Skemp, 2016). Tudi na Ikariji se stoletniki in ostali starejši večinoma držijo priporočil mediteranske prehrane, kar pomeni da uživajo veliko sadja, zelenjave, polnozrnatih žit, fižola ter oljčnega olja, zaužijejo pa nekoliko več krompirja (Buettner in Skemp, 2016; Panagiotakos in sod., 2011).

Prehrana stoletnikov na Okinawi temelji na sladkem krompirju, ki ga v večini uživajo namesto riža in ostalih žit. Ogljikovi hidrati v prehrani so torej predvsem taki z nizkim glikemičnim indeksom, zaužijejo tudi veliko prehranske vlaknine. Pomemben del v prehrani predstavljajo tudi zelenolistna zelenjava, rumene gomoljnice ter stročnice, med katerimi je najbolj pomembna soja. Ribe uživajo v zmernih količinah, nekoliko več na obalnih delih. Meso uživajo v manjših količinah, predvsem nemastne dele svinjskega mesa. Prav tako v manjših količinah uživajo mlečne izdelke, sadje in predvsem nenasičene maščobe, ki imajo ugodno razmerje med n-6 in n-3 maščobnimi kislinami. Alkohol uživajo v zmernih količinah (Willcox in sod., 2014).

Zanimivo je, da je na seznamu pomembnih živil v nekaterih modrih conah tudi kava. Vsak dan si kavo privošči vsaj 75 % prebivalcev Sardinije, vsaj 85 % prebivalcev Nicoye in 87 % prebivalcev Ikarije (Nieddu in sod., 2020; Siasos in sod., 2013), medtem ko mnogo adventistov ne uživa kave (Fraser in sod., 2020).

V Loma Lindi je pomembna skupnost Adventistične cerkve. Mnogo adventistov se prehranjuje lakto-ovo vegetarijansko, le redki vegansko, v prehrano vključujejo veliko svežega sadja, zelenjave, oreščkov ter stročnic (Buettner in Skemp, 2016; Davinelli in Scapagnini, 2019; Fraser in sod., 2020). Približno polovica adventistov je vsejedih, vendar so količine mesa v njihovi prehrani zelo majhne.

Poudariti je potrebno, da je bistvenega pomena pri načrtovanju prehrane za dolgoživost tudi dejstvo, da mora biti vnos makro- in mikro-hranil zadosten, kar preprečuje različne oblike podhranjenosti, šibkost in bolezni pri starejših ter preprečuje izgubo mišične in kostne mase (Longo in Anderson, 2022).

3.2 POSTENJE IN ENERGIJSKA BILANCA

V zadnjih letih je bilo objavljenih veliko študij predvsem na različnih modelnih organizmih oz. nekaterih živalskih vrstah, v okviru katerih so preučevali vpliv omejevanja vnosa energije na dolgoživost. V raziskavah so običajno vnos energije omejili za 20 – 40 %, pri čemer se je življenjska doba modelnih organizmov podaljšala, lahko tudi za 50 %. Izsledke takih raziskav lahko do neke mere prenesemo na ljudi (Accardi in sod., 2019a; Carmona in Michan, 2016; Pifferi in Aujard, 2019; Trepanowski in sod., 2011). Posamezniki, ki lahko bolj učinkovito izrabijo oz. izkoristijo energijo, naj bi tudi živeli bolj dolgo. Študije, ki preučujejo vpliv postenja oz. zmanjšanja vnosa energije na ljudeh, so redke. Redman in sod. so leta 2018 objavili izsledke študije, v kateri so 2 leti preučevali vpliv zmanjšane vnosa energije na ljudi. V tem času so preiskovanci za povprečno 15 % znižali vnos energije, to pa je imelo za posledico upočasnitev oz. prilagoditev presnove ter tudi zmanjšanje oksidativnega stresa (Redman in sod., 2018).

Dnevni vnos energije pri stoletnikih iz modrih con, z izjemo stoletnikov z Okinawe, je pravzaprav zelo podoben vnosu energije pri splošni populaciji. To pa se ne sklada s trenutno hipotezo o ugodnem vplivu postenja oz. omejevanja vnosa energije na dolgoživost. Omejevanje vnosa energije ob sočasnem zadostnem vnosu hranil naj bi bil eden od pomembnih dejavnikov, ki vplivajo na dolgoživost. Glede na razlike v vnosu energije med posameznimi modrimi conami, težko zagotovo potrdimo vpliv omejenega vnosa energije na dolgoživost (Poulain in sod., 2020).

Razlogi za omejevanje vnosa energije so različni. Pomembno vlogo pri tem ima lahko tudi vera oz. verovanje. Kot primer naj navedemo prebivalce Ikarije ki pripadajo grški pravoslavni cerkvi, ki letno zapoveduje 3 postna obdobja (od 180 do 200 dni). V različnih postnih obdobjih ljudje iz svoje prehrane izključujejo različna živila, predvsem meso, mlečne izdelke in jajca (Legrand in sod., 2021; Sarri in sod., 2004; Trepanowski in sod., 2011). Podobno se tudi na otoku Okinawa najstarejši prebivalci običajno držijo načela 'Hara Hachi Bu', kar pomeni, da prenehajo uživati hrano še pred občutkom popolne sitosti oz. takrat, ko čutijo 80 % sitost. Na ta način zaužijejo 20 % manj energije, vseeno pa dobijo vsa potrebna hranila ter na ta način upočasnijo presnovo in zmanjšajo oksidativni stres (Buettner in Skemp, 2016; Wendt in sod., 2021).

3.3 TELESNA DEJAVNOST

Telesna dejavnost ne pomeni samo športne obremenitve, za dolgoživost je predvsem pomembna konstantna telesna obremenitev, ki je praviloma manj intenzivna (Accardi in sod., 2019a). Za stoletnike iz modrih con je značilno, da so redno telesno dejavni. Vendar pa to ne pomeni, da dneve preživljajo v telovadnicah ob dvigovanju uteži ali se pripravljajo na maraton. Namesto tega so vsak dan v gibanju, na Sardiniji npr. predvsem moški med pašo živali hodijo po visokogorju, kar ugodno vpliva na delovanje srca in ožilja, presnovo mišičnega tkiva in okostja (Buettner in Skemp, 2016). Na Okinawi so starejši prav tako telesno dejavni, ukvarjajo se z različnimi borilnimi veščinami, kot npr. karate, kendo, tai chi. Poleg tega plešejo, vsak dan hodijo na sprehode, se vozijo s kolesom ali pa vrtnarijo in na tak način pridelujejo zelenjavo, ki jo uživajo (Mishra, 2009). Na Ikariji pa so načeloma telesno bolj dejavni moški prebivalci,

kot ženske. Pri večini preiskovancev je bila telesna dejavnost srednje do zelo intenzivna. Pri moških imajo tukaj pomembno vlogo različna kmetijska opravila (Legrand in sod., 2021).

3.4 KAJENJE

Kajenje je eden od pomembnih dejavnikov, ki neugodno vpliva na naše zdravje in tudi staranje (Villa in sod., 2019), saj zvišuje nivo oksidativnega stresa in povzroča vnetja (Davinelli in De Vivo, 2019). Večina prebivalcev modrih con ne kadi. Študija, ki je bila opravljena na prebivalcih Ikarije, potrjuje neugoden vpliv kajenja na dolgoživost. Pri tem so rezultati študij pokazali, da je bilo za dolgoživost pomembno dejstvo, da posameznik ni nikoli kadil (Legrand in sod., 2019; Panagiotakos in sod., 2011).

3.5 ALKOHOL

Prebivalci večine modrih con v zmernih količinah, vendar redno, uživajo alkohol. Zmerne količine pomenijo 1 – 2 kozarca vina na dan, zraven dobre hrane ter v družbi prijateljev. Prav tako tisti, ki vino uživajo v zmernih količinah živijo dlje, kot tisti, ki vina ne pijejo. To pa ne velja za adventiste, ki alkohola ne uživajo (Buettner in Skemp, 2016; Fraser in sod., 2020). Prebivalci Sardinije uživajo predvsem rdeče vino, ki vsebuje različne proantocianidine in tudi resveratrol (Pes in sod., 2015). Na Okinawi je uživanje alkohola prav tako povezano z druženjem, saj naj bi se prebivalci tega otoka dnevno družili in klepetali ob pitju sakeja, alkoholne pijače, narejene s fermentacijo riža (Buettner in Skemp, 2016; Meccariello in D'Angelo, 2021).

3.6 SPANJE

Prebivalci Ikarije ocenjujejo, da imajo dober oz. kakovosten spanec, saj v povprečju spijo približno 9 ur (Legrand in sod., 2019). Prav tako si vsak dan vzamejo čas za popoldanski dremež, in sicer običajno okrog 12 ure (Panagiotakos in sod., 2011). Tudi raziskave na starejših prebivalcih Okinawe kažejo na pomembnost dobrega spanca. Stoletniki, ki imajo urejen ritem spanja oz. se redno zjutraj zbuja sam od sebe, so tudi funkcionalno bolj neodvisni v primerjavi s stoletniki, ki imajo težave s spanjem (Ozaki in sod., 2007).

3.7 SOCIALNI STIKI IN OBVLADOVANJE STRESA

Za dolgoživost niso pomembni samo genetski dejavniki ter zdrava prehrana, temveč tudi naše duševno stanje in psihično blagostanje. Po definiciji Svetovne zdravstvene organizacije je duševno stanje "stanje dobrega počutja, v katerem posameznik razvija svoje sposobnosti, se spoprijema s stresom v vsakdanjem življenju, učinkovito in plodno dela ter prispeva v svojo skupnost" (RS, 2021). Dobri odnosi med družinskimi člani ter prijatelji predstavljajo enega izmed dejavnikov, ki v pozni starosti pomembno vpliva na psihično blagostanje. Vsi ti dejavniki pripomorejo k uspešnemu staranju (Fastame in sod., 2022).

Študija, v kateri so avtorji preučevali psihično blagostanje starejših prebivalcev Sardinije kaže, da je za uspešno in zadovoljno staranje pomemben preprost način življenja. Prav tako rezultati kažejo, da starejši poročajo tako o hedonskih, kot tudi o eudaimonskih vidikih blagostanja ter

so bolj zadovoljni s svojim življenjem, kot pa prebivalci v drugih mestih. Starejši tako poročajo tudi o dobrih družinskih ter prijateljskih odnosih in so dejavno vključeni v lokalno skupnost in so na tak način v pomoč drugim, saj imajo neprecenljive življenjske izkušnje. Prav tako so bolj optimistični, kot pa prebivalci drugih krajev (Fastame in sod., 2022). Za dobro počutje so prav tako pomembne tudi pristočasne dejavnosti. Starejši prebivalci Sardinije poročajo o boljšem počutju zaradi opravljanja različnih dejavnosti v prostem času. Pristočasne dejavnosti delujejo kot nekakšen zaščitni dejavnik in pripomorejo k bolj uspešnemu staranju. Med te dejavnosti prištevajo različne aktivnosti, ki jih opravljajo zunaj (npr. vrtnarjenje, različne telesne dejavnosti, šport, obiskovanje različnih kulturnih dejavnosti) ter dejavnosti, ki jih opravljajo znotraj doma (npr. branje, gledanje televizije) (Fastame in sod., 2018). Stoletniki na Sardiniji ocenjujejo kakovost svojega življenja boljše kot prebivalci preostalih delov Italije, imajo tudi boljše kognitivno zdravje oz. sposobnosti. Boljše kognitivne sposobnosti pa naj bi bile v povezavi z manjšim pojavom simptomov depresije, kar pa je prav tako značilno za stoletnike oz. starejše prebivalce Sardinije (Hitchcott in sod., 2018). Raziskave o dolgoživosti prav tako potrjujejo, da je za uspešno in dolgo starost pomemben naš pogled na svet in kaj nas v življenju motivira in nam daje smisel. Na Okinawi to poimenujejo 'Ikigai', na Nicoyi pa 'Plan de vida' (Buettner in Skemp, 2016). Na Okinawi imajo starejši številne hobije, ki jih zaposlijo in povezujejo z drugimi vrstniki. Tukajšnji prebivalci tudi skrbijo drug za drugega ter si ustvarijo socialno mrežo oz. podporno skupino ljudi. Na tak način tudi zmanjšajo pojav stresa (Mishra, 2009). Študije prav tako poudarjajo pomembnost vere oz. verovanja v povezavi z zadovoljstvom (Fastame in sod., 2021).

Študije navajajo tudi, da je za dolgo in zdravo življenje pomembna družina in socialni stiki. Starejši, ki niso sami, torej so poročeni ali pa živijo s partnerjem oz. drugimi družinskimi člani, živijo dlje in tudi poročajo, da so bolj optimistični ter posledično bolj zdravi, kar pa naj bi vplivalo tudi na dolžino življenja (Poulain in sod., 2021). Kot zanimivost, na Ikariji so raziskovalci ugotovili, da je bila večina moških poročenih, medtem ko je bila večina žensk ovdovelih. Razlog za to je verjetno v tradiciji, saj se moški običajno poročijo s precej mlajšimi ženskami (Panagiotakos in sod., 2011).

Eden od pomembnih dejavnikov, ki vplivajo na dolgoživost je tudi stres (Accardi in sod., 2019a). Ljudje povsod po svetu doživljamo stres, pomembno pa je na kakšen način se z različnimi oblikami stresa spopadamo. Prebivalci Okinawe si na primer vsak dan vzamejo nekaj časa in počastijo spomin na prednike. Na Sardiniji si vzamejo čas za 'vesele urice', saj naj bi zmerno uživanje vina pripomoglo k zmanjšanju stresa. Po drugi strani pa adventisti v Loma Lindi stres blažijo z molitvijo, medtem ko si prebivalci Ikarije vzamejo čas za popoldanski drež (Buettner in Skemp, 2016). Enega od pomembnih dejavnikov tveganja za nastanek bolezni in povečane smrtnosti predstavljata stres in depresija. Glede na to, da starejši prebivalci modrih con običajno poročajo o manj pogostih pojavih depresije, je verjetno tudi to eden od mnogih razlogov za dolgoživost (Hitchcott in sod., 2018).

4 ZAKLJUČEK

Na vprašanje, kakšne so skrivnosti dolgoživosti, z današnjim vedenjem še ni možno podati enostavnega in končnega odgovora. Z veliko gotovostjo sicer lahko navedemo, da na dolgoživost vpliva posameznikova genetika in spol. Poleg tega imajo današnji (super) stoletniki zdrav življenjski slog, ki vključuje prehrano z veliko zelenjave in malo ali nič mesa, uživajo zmerne količine alkohola, z izjemo adventistov, ki alkohola sploh ne uživajo, so redno in zmerno telesno dejavni, imajo občutek pripadnosti svoji družini in družbi, ne kadijo ter imajo različne metode za obvladovanje stresa. V zadnjih letih pa znatno narašča število raziskav, s katerimi na modelih kvasovk, črvov, muh, sadnih mušic in miši, preučujejo biološke mehanizme staranja. Rezultati raziskav bi lahko odgovorili tudi na vprašanje, kako lahko s prehranskimi in farmakološkimi intervencijami vplivamo na homeostazo celic in s tem na njeno odpornost na stres in zaščito pred staranjem. Morda bomo tako nekega dne prišli tudi do odgovora, kako dočakati častitljivo starost in pri tem ostati zdrav in funkcionalno neodvisen.

5 VIRI

- Accardi G., Aiello A., Vasto S., Caruso C. 2019a. Chance and causality in ageing and longevity. V: Centenarians. An Example of Positive Biology. Caruso C. (ur.). Cham, Springer: 1-21
- Accardi G., Ligotti M.E., Candore G. 2019b. Phenotypic aspects of longevity. V: Centenarians. An Example of Positive Biology. Caruso C. (ur.). Cham, Springer: 23-34
- Bandur S. 2018. Slovenski stoletniki o skrivnostih svoje starosti: <https://www.delo.si/magazin/zanimivosti/slovenski-stoletniki-o-skrivnostih-svoje-starosti/> (maj 2022)
- Bolzetta F., Cester A. 2020. The Centenarians (Blue Zones?). V: Encyclopedia of biomedical gerontology. Rattan S.I.S. (ur.). San Diego, Elsevier: 380-385
- Buchholz K. 2021a. Is 100 the new 80?: centenarians are becoming more common: <https://www.statista.com/chart/18826/number-of-hundred-year-olds-centenarians-worldwide/> (maj 2022)
- Buchholz K. 2021b. There are now more than half a million people aged 100 or older around the world: <https://www.weforum.org/agenda/2021/02/living-to-one-hundred-life-expectancy> (maj 2022)
- Buettner D., Skemp S. 2016. Blue Zones: Lessons from the world's longest lived. American Journal of Lifestyle Medicine, 10: 318–321
- Carmona J.J., Michan S. 2016. Biology of Healthy Aging and Longevity. Revista de investigacion clinica, 68: 7–16
- Davinelli S., De Vivo I. 2019. Lifestyle Choices, Psychological Stress and Their Impact on Ageing: The Role of Telomeres. V: Centenarians. An Example of Positive Biology. Caruso C. (ur.). Cham, Springer: 135-148
- Davinelli S., Scapagnini G. 2019. Lifespan and healthspan extension by nutraceuticals: an overview. V: Centenarians. An Example of Positive Biology. Caruso C. (ur.). Cham, Springer: 169-179
- EC. 2022. Ageing Europe - statistics on population developments: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Ageing_Europe_-_statistics_on_population_developments (maj 2022)
- Ekmekcioglu C. 2020. Nutrition and longevity—From mechanisms to uncertainties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60: 3063–3082
- Fastame M.C., Hitchcott P.K., Penna M.P. 2018. The impact of leisure on mental health of Sardinian elderly from the “blue zone”: evidence for ageing well. Aging Clinical and Experimental Research, 30: 169–180
- Fastame M.C., Ruiu M., Mulas I. 2021. Mental Health and Religiosity in the Sardinian Blue Zone: Life Satisfaction and Optimism for Aging Well. Journal of Religion and Health, 60: 2450–2462
- Fastame M.C., Ruiu M., Mulas I. 2022. Hedonic and Eudaimonic Well-Being in Late Adulthood: Lessons From Sardinia's Blue Zone. Journal of Happiness Studies, 23: 713–726

- Fraser G.E., Cosgrove C.M., Mashchak A.D., Orlich M.J., Altekruse S.F. 2020. Lower rates of cancer and all-cause mortality in an Adventist cohort compared with a US Census population. *Cancer*, 126: 1102–1111
- Fraser G.E., Shavlik D.J. 2001. Ten years of life. Is it a matter of choice? *Archives of internal medicine*, 161: 1645–1652
- Gerontology Wiki. 2022. Supercentenarian: <https://gerontology.fandom.com/wiki/Supercentenarian> (maj 2022)
- Hitchcott P.K., Fastame M.C., Penna M.P. 2018. More to blue zones than long life: Positive psychological characteristics. *Health, Risk and Society*, 20: 163–181
- Legrand R., Manckoundia P., Nuemi G., Poulain M. 2019. Assessment of the Health Status of the Oldest Olds Living on the Greek Island of Ikaria: A Population Based-Study in a Blue Zone. *Current Gerontology and Geriatrics Research*, 8194310: 1-8
- Legrand R., Nuemi G., Poulain M., Manckoundia P. 2021. Description of Lifestyle, Including Social Life, Diet and Physical Activity, of People ≥ 90 years Living in Ikaria, a Longevity Blue Zone. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18: 6602
- Longo V.D., Anderson R.M. 2022. Nutrition, longevity and disease: From molecular mechanisms to interventions. *Cell*, 185: 1455–1470
- Meccariello R., D'Angelo S. 2021. Impact of Polyphenolic-Food on Longevity: An Elixir of Life. An Overview. *Antioxidants*, 10: 507
- Mishra B.N. 2009. Secret of eternal youth; Teaching from the centenarian hot spots ("Blue Zones"). *Indian Journal of Community Medicine*, 34: 273–275.
- Nieddu A., Vindas L., Errigo A., Vindas J., Pes G.M., Dore M.P. 2020. Dietary Habits, Anthropometric Features and Daily Performance in Two Independent Long-Lived Populations from Nicoya peninsula (Costa Rica) and Ogliastra (Sardinia). *Nutrients*, 12: 1621
- Ozaki A., Uchiyama M., Tagaya H., Ohida T., Ogihara R. 2007. The Japanese centenarian study: Autonomy was associated with health practices as well as physical status. *Journal of the American Geriatrics Society*, 55: 95–101
- Panagiotakos D.B., Chrysohoou C., Siasos G., Zisimos K., Skoumas J., Pitsavos C., Stefanadis C. 2011. Sociodemographic and lifestyle statistics of oldest old people (>80 years) living in ikaria island: The ikaria study. *Cardiology Research and Practice*, 679187: 1-7
- Perls T.T. 2007. Centenarians. V: *Encyclopedia of Gerontology (Second Edition)*. Birren J.E. (ur.). Oxford, Elsevier: 269-275
- Pes G.M., Poulain M., Errigo A., Dore M.P. 2021. Evolution of the dietary patterns across nutrition transition in the sardinian longevity blue zone and association with health indicators in the oldest old. *Nutrients*, 13: 1495
- Pes G.M., Tolu F., Dore M.P., Sechi G.P., Errigo A., Canelada A., Poulain M. 2015. Male longevity in Sardinia, a review of historical sources supporting a causal link with dietary factors. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69: 411–418
- Pifferi F., Aujard F. 2019. Caloric restriction, longevity and aging: Recent contributions from human and non-human primate studies. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 95: 109702
- Podpečan B. 2010. Slovar: Stoletnik/stoletnica, superstoletnik/superstoletnica: <http://www.instantrstenjaka.si/gerontologija/slovar/1047.html> (maj 2022)
- Poole T. 2022. Kane Tanaka: Japanese woman certified world's oldest person dies: <https://www.bbc.com/news/world-asia-61218239> (maj 2022)
- Poulain M., Buettner D., Pes G. 2020. Blue zones. V: *Encyclopedia of biomedical gerontology*. Rattan S.I.S. (ur.). San Diego, Elsevier: 296-305
- Poulain M., Herm A., Errigo A., Chrysohoou C., Legrand R., Passarino G., Stazi M.A., Voutekatis K.G., Gonos E.S., Franceschi C., Pes G.M. 2021. Specific features of the oldest old from the Longevity Blue Zones in Ikaria and Sardinia. *Mechanisms of Ageing and Development*, 198: 111543
- Puca A.A., Spinelli C., Accardi G., Villa F., Caruso C. 2018. Centenarians as a model to discover genetic and epigenetic signatures of healthy ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, 174: 95–102

- Redman L.M., Smith S.R., Burton J.H., Martin C.K., Il'yasova D., Ravussin E. 2018. Metabolic Slowing and Reduced Oxidative Damage with Sustained Caloric Restriction Support the Rate of Living and Oxidative Damage Theories of Aging. *Cell Metabolism*, 27: 805-815.e4
- Rosero-Bixby L., Dow W.H., Rehkopf D.H. 2013. Elderly Males. *Vienna Yearbook of Population Research*, 11: 109-136
- RS. 2021. Duševno zdravje: <https://www.gov.si/teme/dusevno-zdravje/> (oktober, 2021)
- Sarri K.O., Linardakis M.K., Bervanaki F.N., Tzanakis N.E., Kafatos A.G. 2004. Greek Orthodox fasting rituals: a hidden characteristic of the Mediterranean diet of Crete. *British Journal of Nutrition*, 92: 277-284
- Sebastiani P., Bae H., Sun F.X., Andersen S.L., Daw E.W., Malovini A., Kojima T., Hirose N., Schupf N., Puca A., Perls T.T. 2013. Meta-analysis of genetic variants associated with human exceptional longevity. *Aging*, 5: 653-661
- Sebastiani P., Solovieff N., DeWan A.T., Walsh K.M., Puca A., Hartley S.W., Melista E., Andersen S., Dworkis D.A., Wilk J.B., Myers R.H., Steinberg M.H., Montano M., Baldwin C.T., Hoh J., Perls T.T. 2012. Genetic signatures of exceptional longevity in humans. *PLoS ONE*, 7: e29848
- Serbezov D., Balabanski L., Hadjidekova S., Toncheva D. 2018. Genomics of longevity: recent insights from research on centenarians. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 32: 1359-1366
- Siasos G., Oikonomou E., Chrysohoou C., Tousoulis D., Panagiotakos D., Zaromitidou M., Zisimos K., Kokkou E., Marinou G., Papavassiliou A.G., Pitsavos C., Stefanadis C. 2013. Consumption of a boiled Greek type of coffee is associated with improved endothelial function: The Ikaria Study. *Vascular Medicine*, 18: 55-62
- STAT.SI. 2022. Cilj 3. Poskrbeti za zdravo življenje in spodbujati splošno dobro počutje v vseh življenjskih obdobjih. Pričakovano trajanje življenja ob rojstvu: <https://www.stat.si/Pages/cilji/cilj-3.-poskrbeti-za-zdravo-%C5%BEivljenje-in-spodbujati-splo%C5%A1no-dobro-po%C4%8Dutje-v-vseh-%C5%BEivljenjskih-obdobjih/3.1-pri%C4%8Dakovano-trajanje-%C5%BEivljenja-ob-rojstvu> (maj 2022)
- Svetin I. 2020. Kaj se je v Sloveniji spremenilo v zadnjem času?: <https://www.stat.si/StatWeb/News/Index/8871> (maj 2022)
- Trepanowski J.F., Canale R.E., Marshall K.E., Kabir M.M., Bloomer R.J. 2011. Impact of caloric and dietary restriction regimens on markers of health and longevity in humans and animals: A summary of available findings. *Nutrition Journal*, 10: 1-13
- UN. 2017. World Population Prospects: The 2017 Revision. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division: 53 s.
- Villa F., Ferrario A., Puca A.A. 2019. Genetic signatures of centenarians. V: *Centenarians. An Example of Positive Biology*. Caruso C. (ur.). Cham, Springer: 87-97
- Wendt J., Considine C., Kogan M. 2021. Blue Zone lessons and longevity diets. V: *Integrative Geriatric Nutrition*. Wendt J., Considine C., Kogan M. (ur.). Cham, Springer: 9-23
- Wikipedia. 2022. Superstoletnik: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Superstoletnik> (maj 2022)
- Willcox D.C., Scapagnini G., Willcox B.J. 2014. Healthy aging diets other than the Mediterranean: A focus on the Okinawan diet. *Mechanisms of Ageing and Development*, 136-137: 148-162

POMEN PREHRANE V PRVIH 8000 DNEH ŽIVLJENJA

Neža LIPOVEC^{1,2} Saša PISKERNIK³, Tanja PAJK ŽONTAR⁴, Evgen BENEDIK^{5,6}

Povzetek: Ugoden učinek uravnotežene prehrane prvih 8000 dni življenja se ne izraža le v otroštvu, temveč tudi pozneje v življenju posameznika, kar imenujemo presnovno ali prehransko programiranje. Prehrana v prvih 8000 dneh življenja je ena izmed ključnih komponent, s katero lahko vplivamo na naše dolgoročno zdravje in s tem podaljšamo življenjsko dobo. Zdrave prehranske navade in zdrav življenjski slog sta v obdobju pred nosečnostjo (za ženske in moške), med nosečnostjo, med dojenjem in vse do drugega leta otrokovega življenja (prvih 1000 dni) ter vse do začetka odraslosti (prvih 1000 + 7000 = 8000 dni) ključnega pomena za naše zdravje. Predvsem v prvih 1000 dneh sta razvijajoči se plod in dojenček najbolj občutljiva na zunanje vplive iz okolja, tako dobre kot slabe. V tem obdobju je zmožnost organizma, da se v času razvoja odzove na okoljske dejavnike z različnimi prilagoditvami (razvojna plastičnost) največja, kar nam daje zmožnost biološkega prilagajanja svetu, v katerega se rodimo. Nova spoznanja o prehranskemu programiranju in razvojni plastičnosti dokazujejo, da ima lahko prehrana v prvih 8000 dneh vseživljenjske učinke. Otroci od svojih staršev ne podedujejo le genov in navad, temveč tudi negenomske spremembe, ki lahko vplivajo na zdravje in s tem na življenjsko dobo posameznika. Izpostavljenost stresnim situacijam in pomanjkanju energije in hranil v kritičnem obdobju razvoja dolgoročno vpliva na razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni. Bolezni, kot so presnovni sindrom, srčno-žilne bolezni, možganska kap, sladkorna bolezen tipa II in rak, niso posledica izključno neustreznih prehranskih navad in življenjskega sloga odraslih, temveč so omenjene bolezni povezane tudi s procesi in izkušnjami, ki se pojavijo v nosečnosti in otroštvu ter mladostništvu. Podrobno razumevanje obsega in načina, kako prehrana v prvih 8000 dneh vpliva na proces odraščanja in staranja, nam bo omogočilo razvoj novih in učinkovitejših pristopov za izboljšanje zdravja in podaljševanje življenjske dobe.

Ključne besede: prehransko programiranje, razvojna plastičnost, zgodnje otroštvo, dolgoživost, zdravo staranje

THE IMPORTANCE OF NUTRITION IN THE FIRST 8000 DAYS OF LIFE

Abstract: The positive effect of a balanced diet in the first 8000 days of life is not only evident in childhood, but also in later life, in what is known as metabolic or nutritional programming. Nutrition in the first 8000 days of life is one of the most important components that can influence our health and potentially extend our lifespan. There is growing awareness that healthy eating habits and lifestyle are critical to our health in the pre-pregnancy period (for both women and men), during pregnancy, breastfeeding and up to a child's second year (the first 1000 days) and into adulthood (the first 1000 + 7000 = 8000 days). Especially in the first 1000 days, the developing foetus and baby are most vulnerable to external influences, both good and bad. It is during this period that an organism's capacity to respond to environmental factors with different adaptations during development (developmental plasticity) is at its highest, giving us the ability to adapt biologically to the world we are born into. New evidence on developmental plasticity and programming through nutrition shows that nutrition in the first 8000 days can have lifelong effects. Children inherit not only genes and habits from their parents, but also non-genomic changes that can influence health and thus individual longevity. Stressful situations and nutritional deficiencies at a critical stage of development have long-term effects on the development of chronic non-communicable diseases. It used

¹ asist., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: neza.lipovec@bf.uni-lj.si

² asist., Univerzitetni klinični center Ljubljana, Pediatrična klinika, Služba za dietoterapijo in bolniško prehrano, Bohoričeva 20, Ljubljana

³ asist. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: sasa.piskernik@bf.uni-lj.si

⁴ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tanja.pajk@bf.uni-lj.si

⁵ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: evgen.benedik@bf.uni-lj.si

⁶ doc. dr., Univerzitetni klinični center Ljubljana, Pediatrična klinika, Klinični oddelek za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko, Bohoričeva 20, Ljubljana

to be thought that diseases such as coronary heart disease, stroke, type II diabetes and cancer were caused solely by adult dietary habits and lifestyle. Today, it is known that these diseases are also related to processes and experiences that take place during pregnancy, childhood, and adolescence. A detailed understanding of the extent to which and the way in which nutrition in the first 8000 days of life influences the process of growing up and ageing will enable us to develop new and more effective approaches to improving health and extending lifespan.

Key words: nutrition programming, developmental plasticity, early childhood, longevity, healthy aging

1 UVOD

V zadnjih nekaj desetletjih nam je napredna tehnologija prinesla veliko novega znanja o prehrani in njenemu vplivu na naše življenje in življenje naših potomcev. Razvila se je nova veja znanosti, t. i. epigenetika, ki preučuje vpliv dejavnikov okolja (npr. prehrana, kajenje, življenjski slog) na izražanje genov, in na kakšen način se vplivi iz okolja prenesejo na naše potomce.

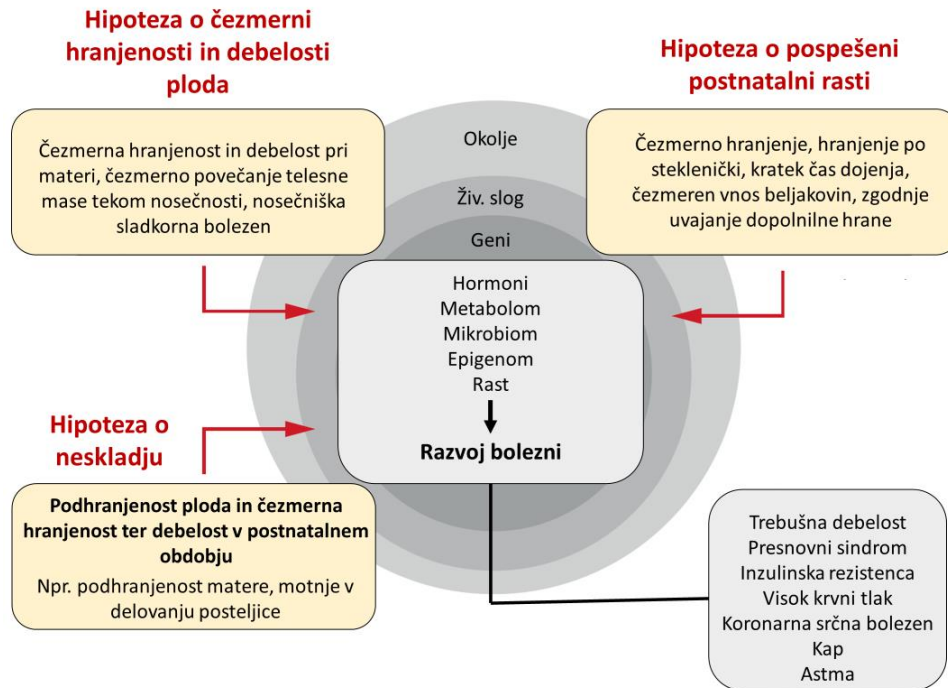
Zdrave prehranske navade in zdrav življenjski slog v času pred nosečnostjo (za žensko in za moškega), tekom nosečnosti in dojenja ter v času prvih dveh let otrokovega življenja (prvih 1000 dni življenja) ter nato vse do odrasle dobe (prvih 1000 + 7000 = 8000 dni življenja) sta pomembna za »vklapljanje« pravih genov za doseganje optimalnega zdravja skozi celo življenje. Prehrana v prvih 8000 dneh življenja ima pomembno vlogo pri določanju tveganja za razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni (KNB). KNB so opredeljene kot nenalezljive bolezni, ki napredujejo počasi, vendar postanejo kronične in običajno zahtevajo dolgotrajno zdravljenje, mednje med drugim spadajo presnovni sindrom, srčno-žilne bolezni, možganska kap, sladkorna bolezen tipa II (SBII) in rak (Schwarzenberg in Georgieff, 2018).

Vedno bolj se zavedamo, da obdobje nosečnosti in zgodnjega otroštva veljata za najbolj kritični obdobji, ki vplivata na tveganje za razvoj KNB, zato je število raziskav na omenjenem področju močno v porastu (Koletzko in sod., 2019).

2 KLJUČNE HIPOTEZE O VPLIVU ZGODNJEGA PREHRANSKEGA PROGRAMIRANJA NA RAZVOJ BOLEZNI

Obstaja vse več dokazov, da imata prehrana in življenjski slog v prvih 8000 dneh dolgoročne učinke na poznejše zdravje in tveganje za razvoj KNB. Zaradi vse večjega pomena za javno zdravje in transgeneracijske narave problema so čezmerna hranjenost in debelost ter z njima povezane motnje trenutno glavni predmet raziskovanja predvsem sledečih treh hipotez (Slika 1):

1. hipoteza o neskladju, ki predvideva, da je razvojno "neskladje" med neoptimalnim perinatalnim in debelilnim postnatalnim okoljem povezano s posebno nagnjenostjo k debelosti in z njo povezanimi boleznimi;
2. hipoteza o čezmerni hranjenosti in debelosti ploda, ki predvideva, da izpostavljenost presežku energije, predvsem glukozi v prenatalnem obdobju, povzroči trajne spremembe ploda, ki vodijo v debelost v postnatalnem obdobju;
3. hipoteza o pospešeni postnatalni rasti, ki pojasnjuje povezavo med hitrim pridobivanjem telesne mase v otroštvu in povečanim tveganjem za kasnejšo debelost in z njo povezanimi boleznimi (Koletzko, 2015).

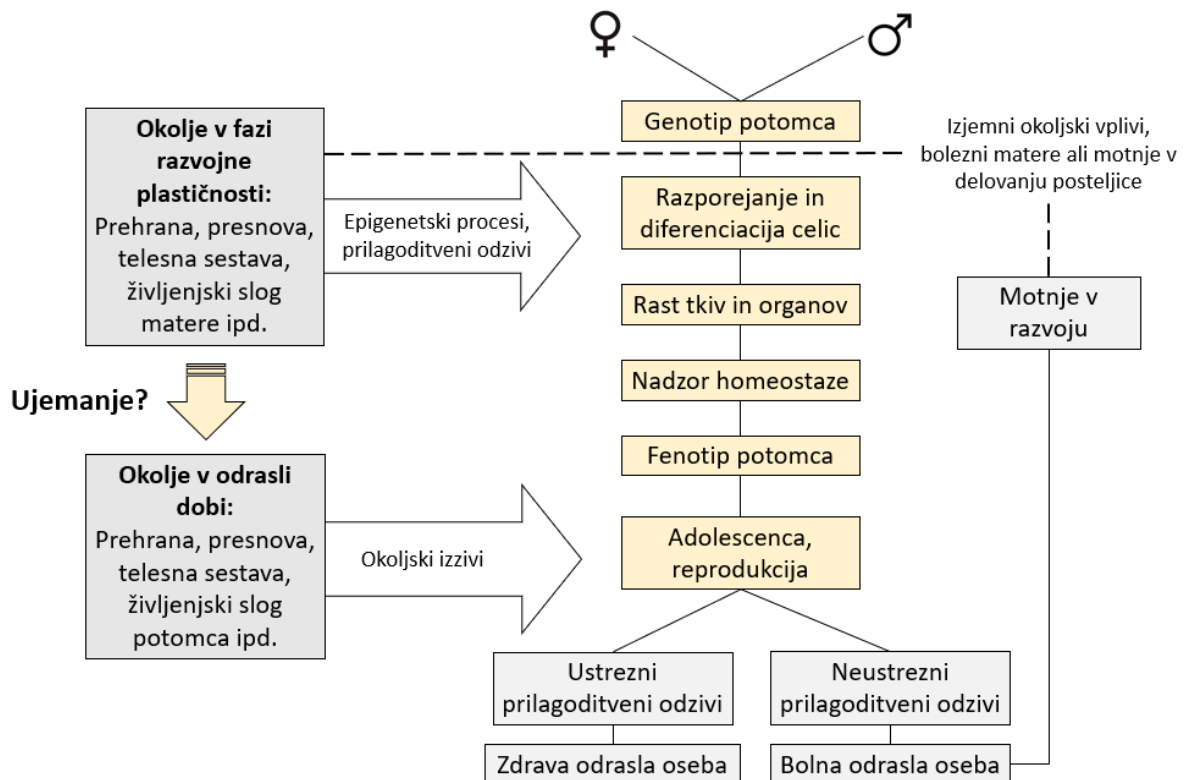


Slika 1: Ključne hipoteze o zgodnjem prehranskem programiranju tveganja za razvoj kroničnih nenalezljivih bolezní (prirejeno po Koletzko, 2015 in Koletzko in sod., 2017)

Poleg prehrane na razvoj KNB v vseh življenjskih obdobjih vpliva tudi črevesna mikrobiota, ki pri človeku predstavlja 10 - 100 bilijonov mikroorganizmov, živečih na različnih mestih v človeškem telesu, večina pa se jih nahaja v črevesju. Mikrobiota sodeluje pri uravnavanju presnove gostitelja, imunskih odzivih ter drugih fizioloških poteh. Kadar zaradi različnih razlogov naša mikrobiota ni več v ravnovesju, takrat nastopi t. i. mikrobna disbioza, ki je povezana z nekaterimi KNB, predvsem z debelostjo in avtoimunimi boleznimi (Alabduljabbar in sod., 2021).

2.1 HIPOTEZA O NESKLADJU

Hipoteza o neskladju oziroma koncept razvojnega izvora zdravja in bolezní (angl. Developmental Origins of Health and Disease) je bil razvit v osemdesetih letih prejšnjega stoletja (Slika 2). Genom potomca, podedovan od obeh staršev je v zgodnjem življenju podvržen številnim vplivom okolja, ki določajo njegov fenotip. Ti vključujejo epigenetske procese, ki jih lahko kategoriziramo kot spremembe v razporejanju in diferenciaciji celic, rasti tkiv in organov ter homeostatskem nadzoru. V kolikor v obdobju nosečnosti pride do ekstremnih vplivov okolja (npr. lakota, presežek hrane, bolezen matere), lahko povzročijo jasno motnjo v razvoju ploda. Tveganje za zdravje ali bolezen v postreprodukcijskem obdobju (odrasli dobi) je nato odvisno od stopnje ujemanja med prenatalnim in postnatalnim okoljem ali med predvidenim in dejanskim okoljem v postplastični fazi (Gluckman in Hanson, 2006).



Slika 2: Shematski prikaz koncepta razvojnega izvora zdravja in bolezni (Gluckman in Hanson, 2006)

2.2 HIPOTEZA O ČEZMERNI HRANJENOSTI PLODA

Poleg vpliva prehranskih dejavnikov na čezmerno telesno maso in debelost, se vse bolj uveljavljajo tudi prenatalni dejavniki, ki vplivajo na nastanek otroške debelosti. Intrauterina čezmerna hranjenost vpliva na vseživljenjsko tveganje za debelost. V skladu s to hipotezo visoke koncentracije glukoze, prostih maščobnih kislin in aminokislin v materini plazmi povzročijo trajne spremembe v nadzoru apetita, nevroendokrinem nadzoru, ki ga izvajajo ali energijske presnove v razvijajočem se organizmu in s tem povzročijo debelost v poznejšem življenjskem obdobju. Glede na to, da je indeks telesne mase matere pozitivno povezan z inzulinsko rezistenco in glukozno intoleranco ter s tem z višjo plazemsko koncentracijo glukoze in prostih maščobnih kislin, je čezmerna prehranjenost ploda pri materah z višjim indeksom telesne mase bolj verjetna med nosečnostjo (Lawlor in sod., 2007).

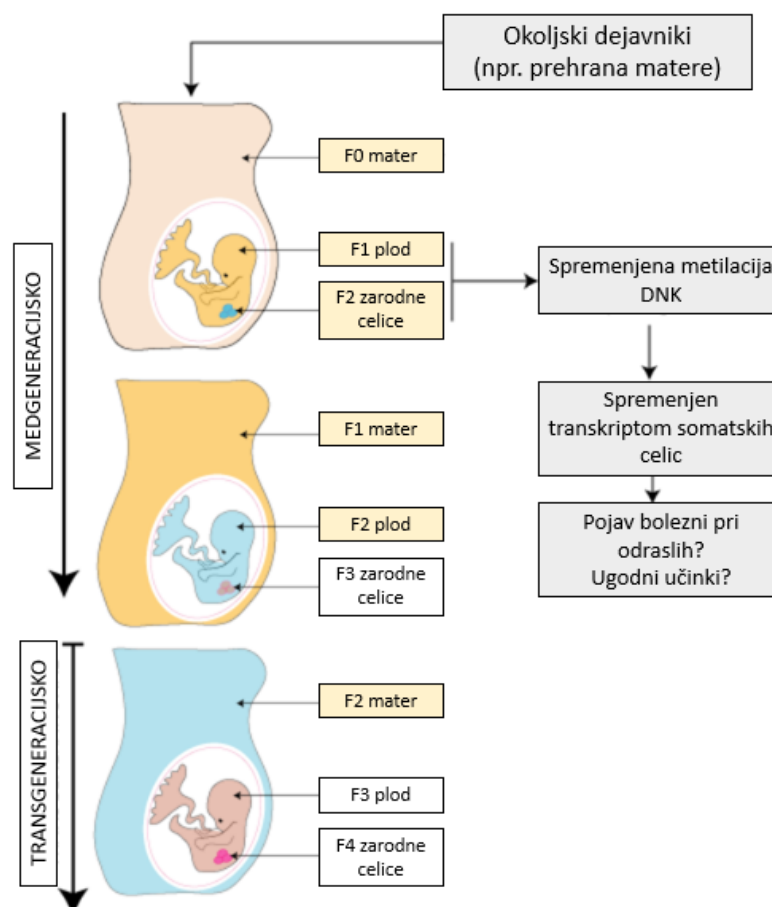
2.3 HIPOTEZA O POSPEŠENI POSTNATALNI RASTI

Rast je kompleksna interakcija tesno reguliranih genetskih, hormonskih in okoljskih dejavnikov, ki omogočijo preživetje in razmnoževanje vrste. Zato je rast odličen pokazatelj otrokovega razvoja in posledično je spremljanje rasti bistveni del pediatrične prehranske obravnave. Vendar pa rast ni le pokazatelj neposrednega telesnega zdravja otroka, temveč ima dolgoročne posledice na zdravje. Slaba rast, največkrat povzročena s premajhnim energijskim in/ali beljakovinskim vnosom, je povezana z neugodnimi zdravstvenimi posledicami, zato je treba preprečevati upočasnitev rasti in spodbujati okrevanje po obdobju, ko je bila rast slabša. Velja pa tudi obratno in sicer tudi "pospešena" ali prehitra rast v kritičnih ali občutljivih obdobjih zgodnjega življenja, največkrat povzročena s prevelikim energijskim (predvsem prosti

in dodani sladkor) in/ali beljakovinskim vnosom, ima prav tako lahko škodljive učinke na dolgoročno zdravje, zlasti na tveganje za pojav debelosti in srčno-žilnih bolezni (Singhal, 2017).

3 PREHRANA MED NOSEČNOSTJO IN RAZVOJ BOLEZNI PRI POTOMCIH

Zdravstveno stanje matere in njena prehrana sta glavna dejavnika, ki vplivata na razvoj bolezni pri potomcu, tako v otroštvu kot v odrasli dobi. Neuravnotežena prehrana nosečih žensk lahko povzroči prehranske primanjkljaje, ki potencialno vplivajo na izražanje genov, ki sodelujejo pri presnovi, angiogenezi, kognitivnem razvoju in drugih pomembnih procesih, kar lahko vodi v razvoj KNB v odrasli dobi potomca. Omenjen mehanizem je znan kot “okno dovzetnosti” za prehransko programiranje v prenatalnem obdobju in se nanaša na ranljivost ploda za okoljske dejavnike (npr. prehrana matere) (Wright, 2017). Obdobje nosečnosti je izredno pomembno za zdravje skozi vse življenje, saj rast in razvoj plodovih tkiv in organskih sistemov v tem obdobju potekata zelo intenzivno. Vsaka motnja v tem procesu, bodisi zaradi nezadostne prehrane, čezmernega energijskega vnosa, bodisi zaradi izpostavljenosti endokrinim motilcem ali toksinom, ne le prekine ali upočasni oziroma pospeši proces rasti, temveč v nekaterih primerih povzroči presnovne nepravilnosti, ki kasneje ogrožajo tudi zdravje odraslih (Koletzko in sod., 2019).



Slika 3: Medgeneracijski in transgeneracijski potencial okoljskih dejavnikov na epigenetske spremembe (prirejeno po Barouki in sod., 2018)

3.1 LAKOTA MED NOSEČNOSTJO

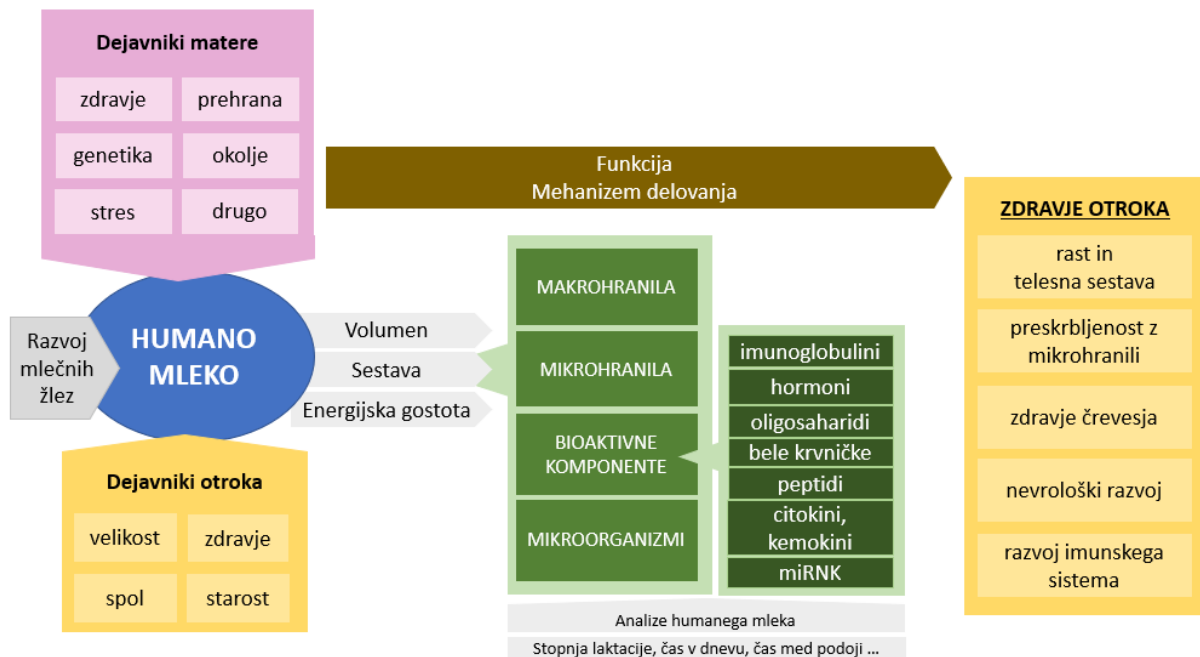
Eden prvih dokazov o vplivu okolja skozi več generacij so objavili nizozemski znanstveniki, ko so naredili retrospektivno analizo nosečih žensk med letoma 1944 in 1945. To je bil čas med 2. svetovno vojno, ko so imeli na Nizozemskem hudo zimo in hudo lakoto. Dojenčki teh žensk so bili manjši in lažji in prav tako so tudi njihovi potomci imeli manjše otroke, ki pa so bili v odraslem življenju bolj nagnjeni k debelosti. Najverjetnejša razlaga za ta pojav je, da se zarodek ob pomanjkanju hrane pripravi na to, da tudi kasneje ne bo dovolj hrane, zaradi česar takšni ljudje energijo iz hrane bolj učinkovito izkoriščajo in skladiščijo, da bi si zagotovili preživetje ob pričakovanem pomanjkanju hrane. To pa lahko ob zadostni in čezmerni količini hrane vodi v debelost. Še več, različne raziskave so potrdile, da izpostavljenost lakoti med nosečnostjo, poveča tveganje za glukozno intoleranco, SBII, srčno-žilne bolezni in razvoj presnovnega sindroma v odrasli dobi potomca (Hoffman in sod., 2019).

3.2 ČEZMERNI HRANJENOST, DEBELOST PRI MATERI

Čezmerna hranjenost in debelost nosečih žensk je eden od glavnih dejavnikov slabega izida nosečnosti in lahko neugodno vpliva na rast zarodka in ploda, lahko pa ima tudi dolgotrajen negativen vpliv na zdravje potomcev. V zvezi s tem v zadnjih letih preučujejo interakcije med okoljem v maternici, plodovim in perinatalnim razvojem ter povečanim tveganjem za nastanek bolezni pri odraslih. Ta teorija, znana tudi kot "razvojni izvor zdravja in bolezni", predpostavlja, da se plod trajno prilagodi v homeostatskem sistemu kot odgovor na neoptimalne razmere v maternici, zaradi česar se poveča tveganje za razvoj KNB pozneje v življenju (Sarker in sod., 2019).

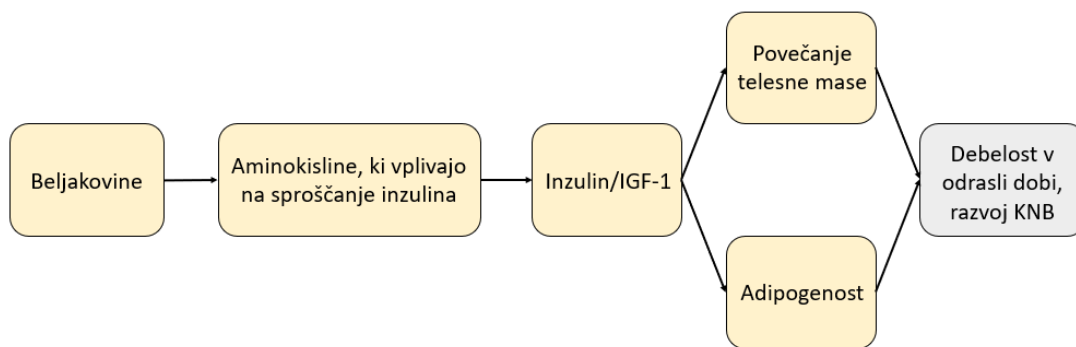
4 DOJENJE IN RAZVOJ BOLEZNI PRI POTOMCIH

Dojenje ima zaščitno vlogo pred razvojem številnih KNB in v primerjavi s hranjenjem z nadomestki humanega mleka (mlečnimi formulami) za 12 - 25 % zmanjša tveganje za razvoj debelosti kasneje v življenju (Koletzko in sod., 2020). Pozitivne učinke dojenja si med drugim lahko razlagamo tudi z vedenjskega vidika, saj dojenje namreč pomaga dojenčku vzpostaviti nadzor nad vnosom hrane, medtem ko hranjenje po steklenički zanemarja sitostne signale (Shloim in sod., 2018). Prav tako ima pri dojenju pomembno vlogo prehrana matere, dojen dojenček se namreč preko humanega mleka spozna z različnimi okusi že pred uvedbo dopolnilne hrane, posledično so dojeni otroci kasneje pri hrani manj izbirčni (Ventura, 2017). Pomembne so tudi razlike v hranilni sestavi humanega mleka v primerjavi z nadomestki humanega mleka (Martin in sod., 2016). Znano je, da je humano mleko veliko več kot le hrana za dojenčka. Dojenje predstavlja kompleksen biološki sistem, ki je odvisen tako od dejavnikov matere, kot od dejavnikov dojenega dojenčka, njegova sestava se spreminja s starostjo dojenčka in tudi znotraj posameznega podoja. Poleg hranil vsebuje še vrsto drugih, za rast in razvoj otroka pomembnih komponent, kot so različne bioaktivne komponente in mikroorganizme (Slika 4) (Christian in sod., 2021).



Slika 4: Shematski prikaz kompleksnosti sestave humanega mleka (Christian in sod., 2021)

Tako je na primer vsebnost beljakovin večja v nadomestkih humanega mleka kot v samem humanem mleku, humano mleko pa vsebuje hormon leptin, ki ga v nadomestkih humanega mleka ni. Koletzko in sod. (2017) so dokazali povezavo med visoko vsebnostjo maščob in beljakovin v začetnem mleku za dojenčke ter visokim izločanjem inzulinskega rastnega faktorja tipa 1, ki posledično stimulira adipocite, kar povzroči povečanje telesne mase. Glede na študije *in vitro* bi leptin, ki je prisoten v humanem mleku, morda lahko vplival na rastne dejavnike in preprečil nastanek adipocitov. Poleg tega dojenje vpliva na vnos beljakovin in energije, izločanje inzulina, velikost adipocitov ter ohranjanje uravnoteženih maščobnih zalog. Poleg tega naj bi dojenje preprečevalo razvoj SBII v odrasli dobi. Različne študije so pokazale, da imajo dojenčki, ki uživajo nadomestke humanega mleka povišano raven inzulina v primerjavi z dojenčki, ki se hranijo s humanim mlekom, zaradi česar se spremeni sproščanje glukagona in inzulina, kar ima vlogo pri zgodnjem razvoju inzulinske rezistence in nastanek SBII. Ta pojav se lahko ponovno da razložiti z različno sestavo obeh vrst mleka ter tudi s količino zaužitega mleka iz naslova nadomestkov humanega mleka, ki je običajno veliko večja od samega humanega mleka (Alabduljabbar in sod., 2021).



Slika 5: Vpliv pretiranega vnosa beljakovin v zgodnjem otroštvu na debelost in razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni v odrasli dobi (IGF-1; inzulinu podoben rastni faktor 1) (Koletzko in sod., 2017)

Tudi zakonodaja na področju nadomestkov humanega mleka se je na podlagi omenjenih znanstvenih dognanj ustrezno spremenila in sicer morajo vsi proizvajalci vseh začetnih, nadaljevalnih in specialnih nadomestkov humanega mleka od 22. 2. 2020 in vsi proizvajalci hipoalergenih nadomestkov humanega mleka od 22. 2. 2021, upoštevati novo EU zakonodajo (Delegirana uredba komisije (EU), 2016/127).

5 PREHRANA V OTROŠTVU IN MLADOSTNIŠTVU TER RAZVOJ BOLEZNI

Čeprav je obdobje razvoja najbolj aktivno v prvih 1000 dneh, starševstvo in zgodnja vzgoja v predšolskem obdobju prav tako vplivata na dolgoročni razvoj in zdravje posameznika. S prehranskega vidika je zgodnje otroštvo obdobje življenja, ko se trdno oblikujejo prehranske preference in prehranjevalno vedenje, na katere vplivajo starševske prakse prehranjevanja in njihovi vzorci. Dokazano je, da se prehranjevalne preference in prehranjevalno vedenje prenašajo v poznejše življenje in so temelj za dobro ali slabo zdravje v poznejšem otroštvu in odrasli dobi (Scott, 2020).

Za uresničitev človeških razvojnih potencialov so potrebne naložbe ne samo v prvih 1000 dneh življenja ampak še naslednjih 7000 dni, torej skupno 8000 dni. Osredotočenost na prvih 1000 dni je nujna, vendar nezadostna naložba. Posredovati je potrebno tudi v poznejših fazah razvoja, predvsem v fazi pubertete, če želimo, da ima vsakdo priložnost uresničiti svoj potencial. Faza pubertetne rasti je prelomna faza prehoda iz otroštva v mladostništvo, ki se pri dekletih praviloma pojavi prej. Ta faza je lahko najboljša priložnost za dohitevanje rasti, pri čemer je hitrost rasti enakovredna hitrosti rasti otrok pri dveh letih. V obdobju hitre rasti se znatno povečuje mišična in kostna masa, posledično pa so potrebe po energiji in ostalih hranilih povečane. Človek doseže zrelo biološko odraslost šele pri približno 21 letih življenja (Bundy in sod., 2017).

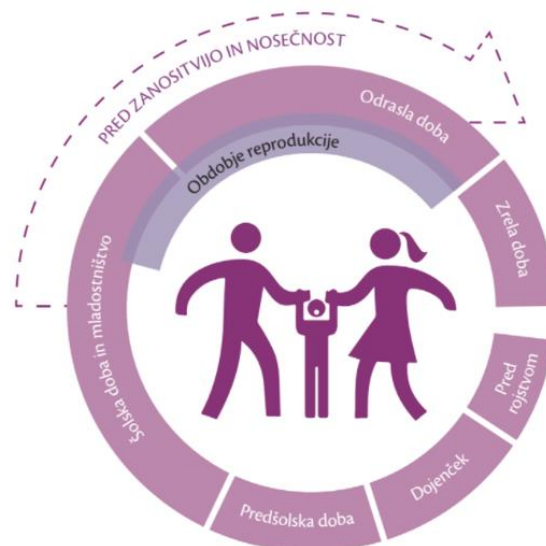
6 JAVNO-ZDRAVSTVENI VIDIK ZDRAVE IN DOLGOŽIVE DRUŽBE

Eden od učinkovitih javnih ukrepov, ki podpirajo rast in razvoj otroka, najstnika in kasneje mladega odraslega je zagotavljanje obrokov v vzgojno-izobraževalnih ustanovah. Prehrana v vzgojno-izobraževalnih ustanovah, v kolikor je ustrezno načrtovana in v skladu z aktualno prehransko politiko, predstavlja odlično naložbo v dolgoročno zdravje otrok in mladostnikov.

Predvsem ob predpostavki, da otroci in mladostniki v vzgojno-izobraževalnih ustanovah od predvidenih petih obrokov dnevno zaužijejo v povprečju polovico dnevnih energijskih potreb (Bundy in sod., 2017). Posledično je vlaganje v prehrano v vzgojno-izobraževalnih ustanovah eden od stroškovno najučinkovitejših dejavnikov razvoja in blaginje družbe. Vsak evro, vložen v prehrano, lahko prinese 16 evrov dobička na račun delovno aktivne, dolgožive in zdrave družbe (Desmond in sod., 2021).

Obstoječa vzgojno-izobraževalna infrastruktura omogoča tudi učenje in promocijo zdravega življenjskega sloga, kar vključuje tudi izoblikovanja odnosa do hrane pri različnih učnih vsebinah. Nenazadnje v nekaterih državah na ta način mlade odrasle pripravijo tudi na starševstvo, kar prav tako koristi zdravemu zgodnjemu razvoju otrok in mladostnikov naslednje generacije (WHO, 2013a).

Tveganja za številne javnozdravstvene težave, vključno s KNB, se ne kopičijo le v celotnem življenju posameznika, vse od spočetja dalje, s poudarkom na prvih 8000 dneh življenja, temveč se lahko prenašajo tudi medgeneracijsko. Koncept življenjskega poteka si lahko predstavljamo kot krog, ki vključuje različna življenjska obdobja: embrionalno in fetalno obdobje (obdobje pred rojstvom), obdobje dojenčka, predšolska doba, šolska doba in mladostništvo ter obdobje reprodukcije (vključno z obdobjem pred zanositvijo) (Slika 6), pri čemer lahko pozitivni in negativni dogodki v posameznem obdobju vplivajo ne le na naslednja obdobja, temveč celo na naslednje generacije potomcev (Aagaard-Hansen in sod., 2019).



Slika 6: Koncept življenjskega poteka (WHO, 2013b)

Ocena vpliva intervencij v različnih življenjskih obdobjih na prihodnje generacije, plastičnost ter razpoložljivost ukrepov z dokumentiranim vplivom na rast, nevrokognitivni razvoj in poznejši razvoj KNB v posameznih obdobjih, kot vodilo pri določanju prednostnih nalog na področju javnega zdravja, so prikazane v Preglednici 1. Kljub temu je veliko sredstev za preprečevanje oziroma predvsem lajšanje KNB namenjenih ravno ljudem v zreli dobi življenja, kjer je manj verjetno, da bodo izkoriščene prednosti medgeneracijskega vpliva in razvojne plastičnosti (Aagaard-Hansen in sod., 2019).

Prednostne naloge na področju javnega zdravja bi morale temeljiti tako na etičnih kot tudi na racionalnih, utilitarističnih premislekih. Tako so posegi v zreli dobi še vedno upravičeni, čeprav je njihov učinek morda manj očiten kot pri posegih v drugih življenjskih obdobjih, predvsem v prvih 8000 dneh. Posege, ki obravnavajo posamezne faze življenjskega obdobja je potrebno načrtovati skupaj s številnimi strukturnimi posegi, ki delujejo na ravni prebivalstva, npr. ciljno usmerjeni davki in subvencije na hrano, označevanje živil ipd. Združevanje teh strategij ne naslavlja le različnih generacij, temveč tudi različne socialno-ekonomske skupine, kar je še posebej pomembno v državah z nizkimi ali srednjimi dohodki (Aagaard-Hansen in sod., 2019).

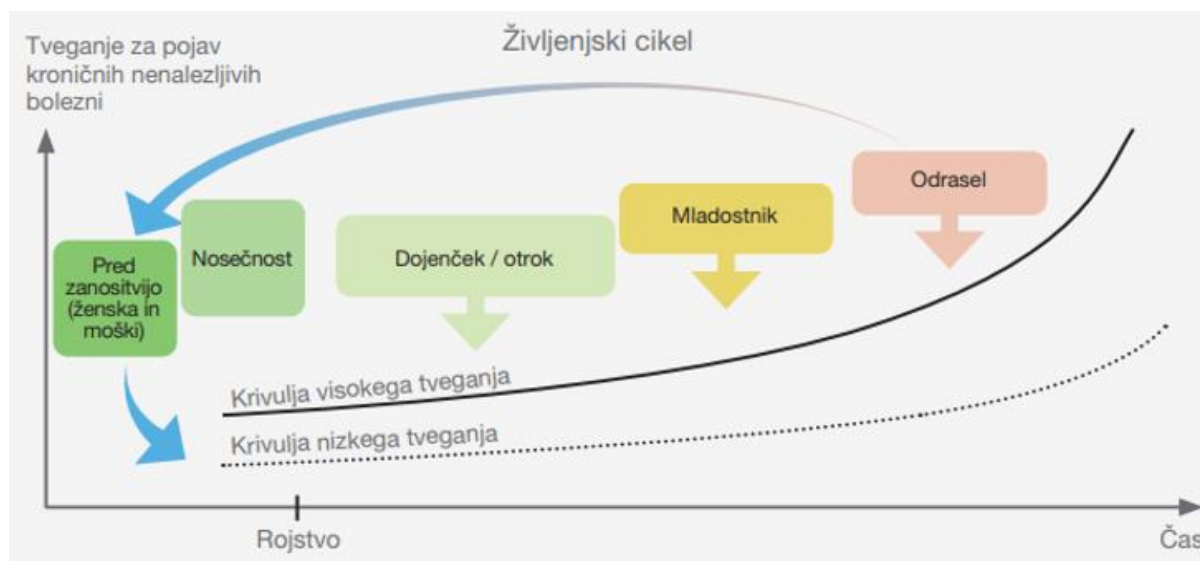
Zakaj je pomembno, da se intervencije delajo že prej, v obdobju reprodukcije in ne v odrasli dobi oz. pri starejših so prikazane v Preglednici 1.

Preglednica 1: Ocena vpliva intervencij v različnih življenjskih obdobjih na prihodnje generacije, plastičnost ter razpoložljivost ukrepov z dokumentiranim vplivom na rast, nevrokognitivni razvoj in poznejši pojav kroničnih nenalezljivih bolezni (KNB) v posameznih obdobjih, kot vodilo pri določanju prednostnih nalog na področju javnega zdravja (Aagaard-Hansen in sod., 2019)

življenjsko obdobje	vpliv na prihodnje generacije	plastičnost	razpoložljivi ukrepi z dokumentiranim vplivom na:		
			rast in razvoj	nevro-kognitivni razvoj	kasnejši razvoj KNB
pred rojstvom	++	+++	+++	+++	-
dojenček	++	+++	+++	++	-
predšolska doba	++	+++	+++	+	-
šolska doba	++	++	++	-	-
mladostništvo	+++	+	++	-	-
reprodukcija	+++	+	-	-	-
zrela doba	-	-	-	-	+

7 ZAKLJUČEK

Namen prispevka je celostno predstaviti vpliv prehrane v prvih 8000 dneh življenja, ki ima dolgoročne učinke na zdravje, dobro počutje in kognitivne sposobnosti otrok, ki se podaljšajo v odraslost in starost, kar imenujemo tudi presnovno ali prehransko programiranje. Obdobje zajema obdobje pred nosečnostjo (za ženske in moške), med nosečnostjo, med dojenjem in vse do drugega leta otrokovega življenja (prvih 1000 dni) oziroma vse do začetka odraslosti (prvih 1000 + 7000 = 8000 dni). Ne gre za to, da je prvih 1000 dni manj pomembnih, kot se je mislilo doslej, temveč za to, da je naslednjih 7000 dni, preden otrok doseže 21. leto starosti, veliko bolj pomembnih, kot se je priznavalo doslej, kar je razvidno tudi s Slike 7. Tveganje za nastanek KNB se namreč zmanjša, v kolikor je prehrana v prvih 8000 dneh uravnotežena in prilagojena posameznemu življenjskemu obdobju. V primerjavi z običajnimi preventivnimi strategijami v boju proti KNB lahko z ustrezno prehrano v tem obdobju dosežemo veliko večji učinek, ki je tudi stroškovno učinkovitejši. Med zdravjem in izobraževanjem obstajajo velike priložnosti za sinergijo, ki so trenutno premalo izkoriščene. Šola in izobraževalni sektor bi morala biti priznana kot ključna udeleženca pri krepitvi zdravja saj naložbe v zdravje vplivajo na rezultate izobraževanja, naložbe v izobraževanje pa na zdravje, vse skupaj pa na bolj zdravo, dolgoživejšo in uspešnejšo družbo.



Slika 7: Model poteka tveganja za pojav kroničnih nenalezljivih bolezni tekom različnih življenjskih obdobj (Hanson in sod., 2015)

8 VIRI

- Aagaard-Hansen J., Norris S. A., Maindal H. T., Hanson M., Fall C. 2019. What are the public health implications of the life course perspective? *Global Health Action*, 12, 1, doi: 10.1080/16549716.2019.1603491.
- Alabduljabbar S., Zaidan S. Al, Lakshmanan A. P., Terranegra A. 2021. Personalized nutrition approach in pregnancy and early life to tackle childhood and adult non-communicable diseases. *Life (Basel, Switzerland)*, 11, 6: 467, doi: 10.3390/life11060467.
- Barouki R., Melén E., Herceg Z., Beckers J., Chen J., Karagas M., Puga A., Xia Y., Chadwick L., Yan W., Audouze K., Slama R., Heindel J., Grandjean P., Kawamoto T., Nohara K. 2018. Epigenetics as a mechanism linking developmental exposures to long-term toxicity. *Environment International*, 114: 77–86, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.02.014>.
- Bundy D. A. P., Silva N. de, Horton S., Patton G. C., Schultz L., Jamison D. T. 2017. Child and adolescent health and development: Realizing neglected potential. In: *Child and Adolescent Health and Development*. 3rd edition. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank; 2017 Nov 20. Chapter 1. doi: https://doi.org/10.1596/978-1-4648-0423-6_ch1.
- Christian P., Smith E. R., Lee S. E., Vargas A. J., Bremer A. A., Raiten D. J. 2021. The need to study human milk as a biological system. *The American journal of clinical nutrition*, 113, 5: 1063–1072, doi: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqab075>.
- Delegirana uredba Komisije (EU) 2016/127 z dne 25. septembra 2015 o dopolnitvi Uredbe (EU) št. 609/2013 Evropskega parlamenta in Sveta glede posebnih zahtev za sestavo in informacije pri začetnih formulah za dojenčke in nadaljevalnih formulah ter glede zahtev za informacije o hranjenju dojenčkov in majhnih otrok. 2016. Uradni list Evropske unije L 25/1: priloga 1.
- Desmond C., Erzse A., Watt K., Ward K., Newell M.-L., Hofman K. 2021. Realising the potential human development returns to investing in early and maternal nutrition: The importance of identifying and addressing constraints over the life course. *PLOS Global Public Health*, 1, 10: e0000021, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0000021>.
- Gluckman P. D., Hanson M. A. 2006. The developmental origins of health and disease. *Early life origins of health and disease*: 91(12): 1046.
- Hanson M. A., Bardsley A., De-Regil L. M., Moore S. E., Oken E., Poston L., Ma R. C., McAuliffe F. M., Maleta K., Purandare C. N., Yajnik C. S., Rushwan H., Morris J. L. 2015. The international federation of gynecology and obstetrics (FIGO) recommendations on adolescent, preconception, and maternal nutrition: “Think nutrition first”. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 131: S213—S253, doi: 10.1016/S0020-7292(15)30034-5.

- Hoffman D., Bigoni A., Carrieri A. 2019. Epidemiology of early nutrition and adult health: Metabolic adaptations and body composition. V: Early life origins of ageing and longevity. 9th ed. Vaiserman A. (ur.). Cham, Springer Nature Switzerland: 3–22.
- Koletzko B. 2015. Early nutrition and long-term health. V: World review of nutrition and dietetics. Early nutrition and long-term health:113:72-7, doi: 10.1159/000369235.
- Koletzko B., Brands B., Grote V., Kirchberg F. F., Prell C., Rzehak P., Uhl O., Weber M. 2017. Long-term health impact of early nutrition: The power of programming. *Annals of nutrition and metabolism*, 70, 3: 161–169, doi: <https://doi.org/10.1159/000477781>.
- Koletzko B., Godfrey K., Poston L., Szajewska H., Goudoever J. van, Waard M. de, Brands B., Grivell R., Deussen A., Dodd J., Patro-Golab B., Zalewski B., Group* E. P. S. R., Alberdi G., Buonocore G., Campoy C., Demmelmair H., Desoye G., Gomez M. D., Escribano J., Geraghty A., Gil A., Hanson M., Inskip H., Larque E., Lassel T., Luque V., Mader S., Manios Y., Mearin L. M., Oddy W., Reynolds R., Rueda R., Sherry C., Socha P., Taylor P., Beek E. M. Van der, Weber M., Crespo-Escobar P., Gutser M., Kouwenhoven S. M. P., Calvo-Lerma J., Veldhorst M. 2019. Nutrition during pregnancy, lactation, and early childhood and its implications for maternal and long-term child health: the EarlyNutrition project recommendations. *Annals of nutrition & metabolism*, 74, 2: 93, doi: 10.1159/000496471.
- Koletzko B., Fishbein M., Lee W. S., Moreno L., Mouane N., Mouzaki M., Verduci E. 2020. Prevention of childhood obesity: A position paper of the Global Federation of International Societies of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (FISPGHAN). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 70, 5: 702–710, doi: 10.1097/MPG.0000000000002708.
- Lawlor D. A., Smith G. D., O’Callaghan M., Alati R., Mamun A. A., Williams G. M., Najman J. M. 2007. Epidemiologic evidence for the fetal overnutrition hypothesis: findings from the mater-university study of pregnancy and its outcomes. *American journal of epidemiology*, 165, 4: 418–424, doi: 10.1093/aje/kwk030.
- Martin C. R., Ling P. R., Blackburn G. L. 2016. Review of infant feeding: Key features of breast milk and infant formula. *Nutrients*, 8, 5: 279, doi: 10.3390/nu8050279.
- Sarker G., Litwan K., Kastli R., Peleg-Raibstein D. 2019. Maternal overnutrition during critical developmental periods leads to different health adversities in the offspring: relevance of obesity, addiction and schizophrenia. *Scientific reports*, 9, 1: e17322, doi: 10.1038/s41598-019-53652-x.
- Schwarzenberg S. J., Georgieff M. K. 2018. Advocacy for improving nutrition in the first 1000 days to support childhood development and adult health. *Pediatrics*, 141, 2, e20173716, doi: 10.1542/peds.2017-3716.
- Scott J. A. 2020. The first 1000 days: A critical period of nutritional opportunity and vulnerability. *Nutrition and dietetics*, 77, 3: 295–297, doi: 10.1111/1747-0080.12617.
- Shloim N., Shafiq I., Blundell-Birtill P., Hetherington M. M. 2018. Infant hunger and satiety cues during the first two years of life: Developmental changes of within meal signalling. *Appetite*, 128: 303–310, doi: 10.1016/j.appet.2018.05.144.
- Singhal A. 2017. Long-term adverse effects of early growth acceleration or catch-up growth. *Annals of nutrition and metabolism*, 70, 3: 236–240, doi: 10.1159/000464302.
- World Health Organization. 2013a. Meeting report: nurturing human capital along the life course: investing in early child development, Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. 2013b. Policy brief: Preconception care: Maximizing the gains for maternal and child health. Geneva, Switzerland.
- Wright R. O. 2017. Environment, susceptibility windows, development and child health. *Current opinion in pediatrics*, 29, 2: 211–217, doi: 10.1097/MOP.0000000000000465.

VPLIV TELESNE DEJAVNOSTI NA IMUNOMETABOLIZEM, FUNKCIONALNOST MITOHONDRIJEV IN STARANJE TELESNA

Urška BUKOVNIK¹

Povzetek: Neaktiven življenjski slog, debelost, dolgotrajna nizkovnetna stanja in sistemski vnetni procesi so pogosti dejavniki razvoja bolezenskih stanj in ireverzibilnih sprememb, ki tlakujejo pot staranju. Debelost in oksidacija presežkov hranil spodbujata mitohondrijski oksidativni stres, vnetni proces, stresne signalne poti in inzulinsko rezistenco. Redna telesna dejavnost zmanjša pojavnost in intenziteto metabolnih bolezni, z nižanjem sistemskih vnetnih procesov ter izboljšanjem metabolnega statusa, odzivnosti in fenotipa imunskih celic. Pomemben je tudi vpliv tipa vadbe na mitohondrije. Vadba za moč sproži kvalitativne in kvantitativne spremembe respiracije mitohondrijev v skeletnih mišicah ter izboljša delovanje beljakovinskih kompleksov elektronskega transportnega sistema. Medtem vzdržljivostna vadba poveča funkcijo mitohondrijev in izboljša njihovo regeneracijo. S staranjem telesa količina mitohondrijske DNK, mRNK in produkcija ATP upadejo, kar negativno vpliva na aerobno kapaciteto in glukozno toleranco. S staranjem se večja oksidativni stres in s tem povezane poškodbe kompleksov dihalne verige mitohondrijev. Transkripcijski faktor Nrf2 ima vlogo pri ohranjanju strukture in funkcionalne integritete mitohondrijev ter regulaciji mitohondrijskega dihanja in redoks homeostaze. Regulira tudi celularni energetski metabolizem in vpliva na dostopnost substratov za mitohondrijsko respiracijo. Staranje spremeni funkcijo Nrf2 in poslabša antioksidativno kontrolo oksidativnega stresa. Telesna dejavnost lahko pospeši mitohondrijsko aktivnost elektronske transportne verige tudi pri starejših ljudeh. Proces staranja pa kljub temu ireverzibilno znižuje mitohondrijsko kapaciteto, vpliva na strukturne in funkcionalne spremembe mišične mase in izgubljanje aerobne kapacitete.

Ključne besede: telesna dejavnost, imunometabolizem, mitohondrij, proces staranja.

INFLUENCE OF EXERCISE ON IMMUNOMETABOLISM, MITOCHONDRIAL FUNCTIONING AND AGING

Abstract: Inactivity, obesity, low-grade inflammation and systemic inflammation are the most prevalent factors influencing disease pathogenesis and irreversible tissue changes, altogether paving the process of aging. Obesity and the oxidation of excess nutrients induce mitochondrial stress, develop inflammation, initiate stress signaling pathways and lead to insulin resistance. Regular moderate physical activity reduces the incidence and intensity of metabolic disease. Training lowers systemic inflammations and improves the metabolic status, responsiveness and phenotype of the immune cells. Type of physical activity plays a role as well. Resistance training improves quantitative and qualitative characteristics of mitochondrial respiration in skeletal muscles and induces better functionality of the respiratory system, while the endurance training improves the functionality of mitochondria and their regenerative capacity. Aging reduces the quantity of mitochondrial DNA, mRNA and ATP production, and negatively influences the aerobic capacity and glucose tolerance. Oxidative stress is increased as well, leading to more damages to the respiratory chain complexes. Transcription factor Nrf2 plays a role in protecting the structural and functional integrity of mitochondria, and the regulation of respiration and redox homeostasis. Nrf2 modulates cellular energetic metabolism and the availability of substrates for mitochondrial respiration. Physical training enhances the activity of mitochondrial electron transport chain in elderly. Nevertheless, aging irreversibly reduces the mitochondrial capacity, induces structural and functional changes in skeletal muscles and reduces aerobic capacity.

Key words: physical activity, immunometabolism, mitochondrion, ageing.

¹ assist. dr. Urška Bukovnik, University of Ljubljana, Faculty of Sport, Institute of Sport, Gortanova 22, 1000 Ljubljana, e-mail: urskabukovnik@gmail.com

1 UVOD

Staranje telesa in sistemski vnetni procesi, neaktiven življenjski slog in debelost s kroničnimi nizkovnetnimi procesi, so pogosto vzroki za razvoj metabolnih bolezni (Kizaki in sod., 2011). Z debelostjo povezana prekomerna oksidacija hranil spodbudi mitohondrijski stres, nepravilnosti v razvoju beljakovin in sproža stresne signalne poti. To posledično vodi do stresa endoplazmatskega retikuluma in inzulinske rezistence (Hu in Liu, 2011). Visceralna maščoba sproža adipokine, miokine, hepatokine in druge mediatorje vnetnega procesa (Pedersen, 2009). Debelost pa omejuje tudi imuno-fiziološke prilagoditve telesa na telesno aktivnost (Martín-Cordero in sod., 2019).

Zdrav življenjski slog z redno telesno dejavnostjo zmanjša pojavnost in intenziteto metabolnih bolezni, ker znižuje sistemske vnetne procese, izboljšuje metabolizem imunskih celic, zmanjšuje odstotek maščobne mase, in s povečanjem števila cirkulirajočih imunskih celic krepi obrambo pred oportunističnimi infekcijami (Kizaki in sod., 2011; Casuso in Huertas, 2021).

Pomembno povezavo med telesno dejavnostjo in imunskim sistemom predstavlja vpliv mišične mase na imunometabolizem. Izraz imunometabolizem opisuje metabolne poti imunskih celic kot odziv na patogene mikroorganizme ter komunikacijo imunskih celic z metabolnimi tkivi, med katere sodi tudi mišična masa. Staranje, oportunistične nalezljive bolezni ter bolezni, ki so posledica kroničnih vnetij, so povezane s spremembami metabolne funkcije levkocitov (Omarjee in sod., 2020; Mathis in Shoelson, 2011; Guo in sod., 2021; Rosa-Neto José in sod., 2022). Telesna dejavnost ali nedejavnost pa direktno vplivata na metabolni status in fenotip imunskih celic in njihovo imunološko odzivnost.

Staranje, telesna nedejavnost in prekomerna telesna maščoba slabo vplivajo na mitohondrije. Staranje sproža postopno izgubljanje mitohondrijske sposobnosti prilagajanja oksidativnemu stresu in vpliva na poslabšanje regulacije biogeneze, avtofagije in dinamike funkcioniranja mitohondrijev. Posledično, zaradi mionuklearnega celičnega odmiranja prihaja do razvoja mišične atrofije. Prekomerno maščobno tkivo lahko dodatno sproža nižjo aktivnost dihalnih kompleksov adipocitnih mitohondrijev in zniža nivo oksidativne porabe (Fischer in sod., 2015). Enkratna ali dolgotrajna telesna dejavnost te procese vsaj delno popravlja, povečuje število funkcionalnih mitohondrijev, ohranja mišično maso in kar se da dolgo tudi njeno funkcionalnost (Joseph in sod., 2016).

2 TELESNA DEJAVNOST IN IMUNOMETABOLIZEM

2.1 VPLIV TELESNE DEJAVNOSTI NA IMUNSKI SISTEM

Telesna dejavnost vpliva na imunski sistem z enkratnimi in dolgotrajnimi prilagoditvami vnetnega odziva, predvsem z odzivom z nevtrofilci, limfociti in monociti (Pedersen in Hoffman-Goetz, 2000). Aerobna telesna dejavnost sproži signalne molekule v obliki citokinov in hormonov, ki ugodno vplivajo na koncentracije hranil v okolju imunskih celic (Ortega in sod., 2019). Imunske celice so v fazi aktivnosti tudi bioenergetsko potratne, kar zahteva regulacijo metabolnih poti za njihovo diferenciacijo (Al-Khami in sod., 2017). Citokini, energetske substrati in hormoni, ki so vključeni v imunsko okolje, predvsem ko gre za monocite

in limfocite, so bistveni za usmerjanje metabolne energije. Spremembe v metabolni energiji sovpadajo z aktivacijo signalnih poti in vplivajo na funkcionalnost imunskih celic (Padilha in sod. 2021). Telesna dejavnost zato velja za glavno nefarmakološko strategijo proti debelosti zaradi svojih protivnetnih učinkov, predvsem tistih pri katerih sodelujejo beta2-adrenergični receptorji (Martín-Cordero in sod., 2019), adreno receptorji in sproščanje kateholaminov (Ortega in sod., 2019).

Znano je, da ima srednje intenzivna telesna dejavnost imunostimulatorene učinek. To dokazuje povečano število nevrofilcev in makrofagov po taki vadbi (Pyne in sod., 1996) ter znižano hematopoetsko izločanje vnetnih levkocitov (Froderman in sod., 2019). Od začetka do treh ur po enkratni aerobni telesni dejavnosti število levkocitov naraste dvojno do trojno in se vrne na osnovno raven v roku 24 ur (Nakaya in sod., 2014). Poveča se tudi izmenjava levkocitov med tkivi, sprostijo se protivnetni citokini, tkivni makrofagi pa kažejo antipatogeno aktivnost (Bigley in sod., 2014; Lavoy in sod., 2015). Cirkulirajoči makrofagi spremenijo svojo funkcijo zaradi mitohondrijskega signaliziranja, ki je posledica odziva mišic na telesno dejavnost (Casuso in Huertas, 2021). Za razliko od pozitivnih učinkov srednje intenzivne telesne dejavnosti, pretirana visoko intenzivna telesna dejavnost sproži porast cirkulirajočih levkocitov in nevtrofilov (Gleeson, 2007) na račun znižanja števila NK celic, T celic in makrofagov (Peake in sod., 2017; Siedlik in sod., 2016).

Redna zmerna telesna dejavnost je torej odlična strategija za:

- a.) spodbujanje metabolnih in funkcionalnih odzivov T limfocitov in monocitov,
- b.) kontrolo vnetnih procesov sproženih z maščobnim tkivom in neaktivnostjo,
- c.) preventivo pred prehitrim staranjem imunskega sistema (Padilha in sod. 2021).

Telesna dejavnost lahko:

- a.) vpliva na fenotipske spremembe pro-vnetnih M1 makrofagov v proti-vnetnih M2 makrofagov ter infiltracijo M1 makrofagov v maščobno tkivo pri miših (Kawanishi in sod., 2010),
- b.) niža viralne infekcije z vplivom na nižanjem cirkulirajočih limfocitov in levkocitov in izboljšanjem mitohondrijske funkcije (Casuso in sod., 2021),
- c.) zniža vnetne procese v maščobnem tkivu z zaviranjem infiltracije CD11c inflamatornih makrofagov in CD8 T celic (Kawanishi in sod., 2013),
- d.) potencialno pa lahko zavira vnetni proces v maščobnem tkivu tudi preko inhibicije TLR4 receptorja (Kawanishi in sod., 2010).

2.2 REGULACIJA IMUNOMETABOLIZMA IN VLOGA EKZERKINOV

Regulacija imunometabolizma na molekularnem nivoju je povezana:

- a.) s senzorji, ki kontrolirajo metabolne poti (glukoza, amino kisline, maščobne kisline in njihovi intermediati),
- b.) z vnetnimi mediatorji, ter
- c.) diferenciacijo in funkcijo imunskih celic.

Nivo hranil, ki so mu izpostavljene imunske celice vpliva na znotrajcelične energetske senzorje, posebno na AMP-aktivirano protein kinazo (AMPK), rapamicin (mTOR), s hipoksijo inducirani faktor 1α (HIF- 1α) in peroksisom proliferativno aktivirane receptorje (PPAR) (Batatinha in sod., 2019).

Ekzerkini pa so signalne biomolekule izločene v odziv na enkratno ali dolgotrajno telesno aktivnost (Magliulo in sod., 2022; Chow in sod., 2022). Izločajo jih organi, tkiva, celice. To vključuje mišično maso (miokini), srčno mišico (kardiokini), maščobno tkivo (adipociti) in nevrone (neurokini). Pojavljajo se v obliki hormonov, metabolitov, beljakovin in nukleinskih kislin (Chow in sod., 2022). Miokini, za primer, ki jih izločijo skeletne mišice zato da olajšajo komunikacijo med mišicami in organi, kot: adipozno tkivo, trebušna slinavka, jetra, črevesje in možgani, so vključeni v imunometabolizem in sicer v kontrolo tumorske rasti in kroničnega vnetnega procesa (Bay in Pedersen, 2020). Ravno zato, ker so ekzerkini vključeni v različne metabolne poti, ki imajo pozitiven učinek na zdravje, so predmet zanimanja in raziskav. Med bolj znane ekzerkine uvrščamo: miR-1192, miR-342-5p, apelin, GDF-15 in oksitocin (Magliulo in sod., 2022). Potrebni pa je več študij za kompleksnejše razumevanje njihove specifične vloge.

2.3 KOMUNIKACIJA MED MIŠICAMI IN IMUNSKIM SISTEMOM

2.3.1 Glutamin in interleukin-6

Glutamin je znan kot ena prvih raziskanih povezav med skeletno mišico in imunskim sistemom. Intenzivno mišično krčenje poveča potrebo po glutaminu. Kljub temu, da mišica sintetizira glutamin, tekmuje za enaka hranila kot limfociti in makrofagi, zato intenzivno mišično krčenje ob pomanjkanju glutamina negativno vpliva na imunski sistem (Newsholme, 1994).

Povezava je tudi med koncentracij interleukina-6 (IL-6) in telesno dejavnostjo. IL-6 po telesni dejavnosti naraste (Febbraio in Pedersen, 2002). Sintetizirajo ga tako imunske celice kot skeletne mišice in izkazuje pro- in proti-vnetne lastnosti. Vpliva na vlogo imunskih celic pri obnovi tkiva skeletnih mišic po aktivnosti (Nielsen in sod., 1996).

3 TELESNA DEJAVNOST IN FUNKCIONALNOST MITOHONDRIJEV

Mitohondriji so izjemno dinamičen organel. Potrebujejo dobro regulacijo funkcionalnosti, da obdržijo optimalno dihalno kapaciteto, obnovljivost in odzivnost. Kvalitetno delovanje mitohondrijev je nujno potrebno za vzdrževanje homeostaze mišičnega metabolizma. Posebno takrat, ko je mišično tkivo izpostavljeno stresu ob telesni dejavnosti, ob večjih spremembah dostopnosti hranil in ob staranju. Vseh mehanizmov mitohondrijske biogeneze, dinamike, proteostaze in mitofagije še ne poznamo. Znano pa je, da je kontrola delovanja mitohondrijev kompleksna in direktno povezana z mišično maso, zato je reguliran tudi proces pravočasnega odstranjevanja poškodovanih mitohondrijev, da ne motijo delovanja mišične mase (Gan in sod., 2018).

3.1 DEBELOST, VNETNI PROCESI IN MITOHONDRIJI

Makrofagi so najbolj zastopane imunske celice v maščobnem tkivu, in glavni vir vnetnih citokinov, ki povzročajo inzulinsko rezistenco (Lee in sod., 2018). Metabolno aktivirani makrofagi v maščobnem tkivu imajo pro- in proti-vnetne funkcije. Značilno zanje je, da se ne odzivajo na klasično polarizacijo med M1 in M2 obliko (Kratz in sod., 2014; Coats in sod., 2017). Predvladujejo namreč pro-vnetni M1 makrofagi (Mouton in sod., 2020), ki producirajo provnetne citokine (Catrysse in van Loo, 2018). Razlog je aktivacija CD36, ki stimulira nuklearni faktor- κ B, ta inhibira dihalno verigo mitohondrijev ter posledično sproža mitohondrijsko produkcijo oksidativnih kisikovih vrst in spodbuja ekspresijo M1-genov (Mouton in sod., 2020). Dodaten razlog je tudi koncentracija plazemskega adiponektina, ki je pri prekomerno debelih ljudeh znižana (Hoffstedt in sod., 2004; Furukawa in sod., 2004). Ravno adiponektin je namreč aktivator AMPK, ki sproži polarizacijo makrofagov iz pro-vnetne M1 v proti-vnetno M2 obliko in vpliva na nižanje vnetnega procesa v maščobnem tkivu (Woo in sod., 2019).

Prekomerna količina hranil in fizična nedejavnost v kombinaciji z genetsko zasnovano in endokrinološkimi faktorji, spodbujajo hipertrofijo maščobnega tkiva. Hipertrofirani adipociti so izpostavljeni metabolnemu stresu, kar spodbuja infiltracijo makrofagov v maščobno tkivo in razvoj vnetnega procesa (Chawla in sod., 2011). Prekomerna količina hranil za mitohondrije vpliva na aktivnost elektronske transportne verige in produkcijo reaktivnih kisikovih vrst. Debeli ljudje imajo posledično več oksidativnega stresa v belem maščobnem tkivu in znižano antioksidativno kapaciteto (Furukawa in sod., 2004). Izguba funkcije mitohondrijev v maščobnem tkivu naj bi bila primarni vzrok za vnetni proces (Woo in sod., 2019). Znižanje odstotka telesne maščobe v kombinaciji z zmerno telesno dejavnostjo predstavlja nefarmakološki vpliv na funkcionalnost mitohondrijev, povečanje mitohondrijske oksidativne kapacitete in posledično izboljšano regulacijo glukoze. V nasprotju z zmerno dejavnostjo pa trenajni proces s preveč intenzivnimi vzdržljivostnimi treningi lahko sproži ravno nasprotno. Vodi do prekomernega oksidativnega stresa, zniža mitohondrijsko funkcijo, zmanjša kontrolo glukoze povzroči poškodbe mišičnega tkiva in ob dolgotrajni izpostavi, vodi v pretreniranost in zmanjšano zmogljivost telesa (Flockhart in sod., 2021; Vargas-Mendoza in sod., 2021).

3.2 VLOGA TIPa TELESNE VADBE

3.2.1 Vadba za moč

Telesna vadba za moč vpliva na kvalitativne in kvantitativne spremembe dihanja mitohondrijev v skeletnih mišicah. Izboljša dihalne kapacitete in funkcije mitohondrijev skeletnih mišic. Poveča se aktivnost kompleksa I, II ter koncentracija substratov za oba navedena kompleksa (Porter in sod., 2015). Kontinuirana redna vadba za moč v študiji na starejših je pokazala, da se s tem tipom vadbe tudi v kasnejših starostnih obdobjih spodbudi delovanje vseh kompleksov elektronskega transportnega sistema skeletnih mišičnih mitohondrijev in pozitivno vpliva na beljakovine, ki so del mitohondrijske dinamike (fuzijski markerji) (Mesquita in sod., 2020).

3.2.2 Vzdržljivostna vadba

Vzdržljivostna vadba je znana po tem da poveča funkcijo mitohondrijev v skeletnih mišicah in izboljša mitohondrijsko dihanje brez vpliva na mitohondrijsko DNK. Poviša tudi odstotek monolizokardilipina, ki je marker mitohondrijskega remodeliranja in regulacije lipidoma skeletnih mišic (Pino in sod., 2019).

4 TELESNA DEJAVNOST IN STARANJE TELESA

Zmogljivost in plastičnost skeletnih mišic pomembno zaznamuje zdravje telesa. Mitohondriji skeletnih mišic so bistveni za ohranjanje energetske homeostaze mišic. Telesna dejavnost lahko pospeši mitohondrijsko aktivnost elektronske transportne verige pri starejših, kar je vidno predvsem v subsarkolemskih mitohondrijih (Menshikova in sod., 2006). Vendar mitohondrijska disfunkcionalnost, ko do nje pride, vpliva na razvoj bolezenskih stanj, kot so: mišična distrofija, atrofija in starostna sarkopenija ter razvoj inzulinske rezistence in sladkorne bolezni tipa 2.

4.1 VPLIV TELESNE DEJAVNOSTI NA MITOHONDRIJE MED STARANJEM

Sarkopenija je proces postopnega upada mišične mase in funkcije. Med faktorje z direktnim vplivom na sarkopenijo uvrščamo: upad oksidativne kapacitete in količine mitohondrijev (Conley in sod., 2000; Tonkonogi in sod., 2003; Short in sod., 2005), motnje v regulaciji dinamike mitohondrijev (Lourenco dos Santos in sod., 2015), ter zmanjšanje funkcije mitohondrijev, ki je znan faktor vpliva na zmogljivost mišic (Conley in sod., 2000; Tonkonogi in sod., 2003; Short in sod., 2005). S staranjem telesa količina mitohondrijske DNK in mRNK in produkcija ATP upadejo. Količina mitohondrijske DNK je namreč direktno vezana na produkcijo ATP ter aerobno kapaciteto in glukozno toleranco. V skeletnih mišicah starejših ljudi je količina mitohondrijskih beljakovin znižana, povečan pa je nivo oksidativnih DNK lezij ter 8-okso-deoksi gvanozina, kot odraz poškodb zaradi oksidativnega stresa. Povečano število reaktivnih kisikovih vrst povzroča poškodbe mitohondrijskih beljakovin (Lourenco dos Santos in sod., 2015), znižuje pa se tudi kontrola avtofagije in mitofagije (Joseph in sod., 2013; Carnio in sod., 2014). Disfunkcija mišičnih mitohondrijev je vezana na znižano mitohondrijsko DNK in funkcionalne spremembe mišic (Short in sod., 2005). Z upadom mitohondrijske kapacitete in učinkovitosti pa se ne znižuje le zmogljivosti telesa ampak poslabša tudi inzulinska

senzitivnost.

Telesna dejavnost sicer omili negativne učinke staranja (Grevendonk in sod., 2021), pospeši mitohondrijsko aktivnost elektronske transportne verige pri starejših, kar je vidno predvsem v subsarkolemskih mitohondrijih (Menshikova in sod., 2006), vendar študija Grevendonk-a in sodelavcev (2021) kaže, da imajo starejši ljudje kljub redni vadbi vseeno nižjo mitohondrijsko kapaciteto kot mladi in to ob enaki vsebnosti mitohondrijev. Starejši imajo tudi slabšo moč mišic in nižjo aerobno kapaciteto kot mladi. Študija poudari direktno povezavo med mitohondrijsko funkcijo in s staranjem povezanimi spremembami skeletnih mišic, na kar nimamo vpliva.

4.1.1 Nrf2, staranje in mitohondriji

Nrf2 je transkripcijski faktor, ki pod homeostatskimi pogoji vpliva na potencial mitohondrijske membrane, oksidacijo maščobnih kislin in ATP sintezo. V pogojih stresa ali stimulacije z rastnim faktorjem aktivacija Nrf2 zavira višanje koncentracije oksidativnih reakcijskih vrst v mitohondrijih preko transkripcijske regulacije beljakovine UPC 3 in vpliva na mitohondrijsko biogenezo. Ker je Nrf2 pomemben pri ohranjanju strukture in funkcionalne integritete mitohondrijev (Dinkova-Kostova in Abramov, 2015; Holmström in sod., 2016), ima kritično vlogo pri regulaciji mitohondrijskega dihanja in redoks homeostaze. Regulira celični energetski metabolizem z vplivom na dostopnost substratov za mitohondrijsko dihanje (Holmström in sod., 2013).

Nrf2 omogoča prilagoditev in preživetje pod pogoji stresa. Tako, da regulira gensko izražanje citoprotektivnih proteinov, vključno z antioksidanti, protivnetnimi in detoksifikacijskimi encimi in drugimi beljakovinami, ki sodelujejo pri popravilu in odstranjevanju okvarjenih makromolekul (Dinkova-Kostova in Abramov, 2015). Zmerna telesna dejavnost aktivira Nrf2 pri mladih in starejših ljudeh, vendar s pomembno razliko. Pri starejših ljudeh se pokaže učinek staranja na način, da telesna dejavnost ne vpliva več na Nrf2-vezano gensko ekspresijo antioksidantov (Done in sod., 2016).

5 ZAKLJUČEK

Staranje telesa je ireverzibilen proces, ki ga ne moremo prekiniti, lahko pa nanj vsaj do določene mere vplivamo, tako da ga upočasnimo in spreminjamo njegov potek. Zdravo staranje je življenjski slog usmerjen v čim boljšo kontrolo oksidativnega stresa, kombiniran z redno zmerno telesno dejavnostjo. Aktivnost mišičnega tkiva je naravna in učinkovita preventiva pred prehitrim razvojem sistemskih vnetnih procesov ter kroničnimi boleznimi z ireverzibilnimi spremembami na celičnem in tkivnem nivoju.

Staranje zaznamujejo strukturne spremembe mišičnih vlaken in izguba moči, na kar nimamo vpliva. Imamo pa s telesno dejavnostjo vpliv na kondicijo mitohondrijev, njihovo obnovljivost in količino poškodb dihalnega kompleksa. Prihodnost je v globjem poznavanju imunometabolizma in vlogi ekzerkinov, ki sta tudi področji sedanjih intenzivnih raziskav in farmakoloških interesov. Predvsem z vidika razvoja terapij za upočasnjevanje staranja in zmanjšanja razvoja patoloških stanj.

6 VIRI

- Al-Khami A.A., Rodriguez P.C., Ochoa A.C. 2017. Energy metabolic pathways control the fate and function of myeloid immune cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 102: 369–380.
- Batatinha, H.A.P., Biondo, L.A., Lira, F.S., Castell, L.M., Rosa-Neto, J.C. 2019. Nutrients, immune system, and exercise: Where will it take us? *Nutrition*, 61: 151–156.
- Bigley A.B., Rezvani K., Chew C., Sekine T., Pistillo M., in ost. 2014. Acute exercise preferentially redeploys NK-cells with a highly-differentiated phenotype and augments cytotoxicity against lymphoma and multiple myeloma target cells. *Brain Behavioral Immunology*, 39: 160–171.
- Bay M.L., Pedersen B.K. 2020. Muscle-organ crosstalk: Focus on Immunometabolism. *Frontiers in Physiology*, 11: 567881.
- Carnio S., LoVerso F., Baraibar M.A., Longa E., Khan M.M., in ost. 2014. Autophagy impairment in muscle induces neuromuscular junction degeneration and precocious aging. *Cell Reports*, 8(5): 1509–21.
- Casuso R.A., Huertas J.R. 2021. Mitochondrial functionality in inflammation pathology-modulatory role of physical activity. *Life (Basel)*, 11(1): 61.
- Catrysse L., van Loo G. 2018. Adipose tissue macrophages and their polarization in health and obesity. *Cell Immunology*, 330: 114–119.
- Chawla A., Nguyen K.D., Goh Y.P. 2011. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *National Reviews in Immunology*, 11(11): 738–749.
- Chow L.S., Gerszten R.E., Taylor J.M., Pedersen B.K., van Praag H. in sod. 2022. Exerkines in health, resilience and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 18: 273–289.
- Coats B.R., Schoenfelt K.Q., Barbosa-Lorenzi V.C., Peris E., Cui C., in ost. 2017. Metabolically activated adipose tissue macrophages perform detrimental and beneficial functions during diet-induced obesity. *Cell Reports*, 20: 3149–3161.
- Conley K.E., Esselman P.C., Jubrias S.A., Cress M.E., Inglin B., in ost. 2000. Ageing, muscle properties and maximal O₂ uptake rate in humans. *Journal of Physiology*, 526(Pt 1): 211–217.
- Dinkova-Kostova A.T., Abramov A.Y. 2015. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. *Free Radical Biology and Medicine*, 88, Part B: 179–188.
- Done A., Gage M.J., Nieto N.C., Traustadóttir T. 2016. Exercise-induced Nrf2-signaling is impaired in aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 96: 130–138.
- Febbraio M.A., Pedersen B.K. 2002. Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB Journal* 16, 1335–1347.
- Fischer B., Schöttl T., Schempp C., Fromme T., Hauner H., Klingenspor M., Skurk T. 2015. Inverse relationship between body mass index and mitochondrial oxidative phosphorylation capacity in human subcutaneous adipocytes. *American Journal of Physiological Metabolism*, 309: E380–E387.
- Flockhart M., Nilsson L.C., Tais S., Ekblom B., Apró W., Larsen F.J. 2021. Excessive exercise training causes mitochondrial functional impairment and decreases glucose tolerance in healthy volunteers. *Cell Metabolism*, 33: 957–970.
- Frodermann V., Rohde D., Courties G., Severe N., Schloss M.J. in ost. 2019. Exercise reduces inflammatory cell production and cardiovascular inflammation via instruction of hematopoietic progenitor cells. *Nature Medicine*, 25: 1761–1771.
- Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 114: 1752–1761.
- Gan Z., Fu T., Kelly D.P. 2018. Skeletal muscle mitochondrial remodeling in exercise and disease. *Cell Research*, 28: 969–980.
- Gleeson, M. Immune function in sport and exercise. 2007. *Journal of Applied Physiology*, 103: 693–699.
- Grevendonk L., Connell N.J., McCrum C., Fealy C.E., Bilet L., in ost. 2021. Impact of aging and exercise on skeletal muscle mitochondrial capacity, energy metabolism, and physical function. *Nature Communications*, 12: 4773.

- Guo, H., Wang, Q., Ghneim, K., Wang, L., Rampanelli, E., Holley-Guthrie, E., in ost. 2021. Multi-omics analyses reveal that HIV-1 alters CD4+ T cell immunometabolism to fuel virus replication. *Nature Immunology*, 22(4): 423–433.
- Hoffstedt J., Arvidsson E., Sjölin E., Wåhlén K., Arner P. 2004. Adipose tissue adiponectin production and adiponectin serum concentration in human obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89: 1391–1396.
- Holmström K.M., Baird L., Zhang Y., Hargreaves I., Chalasani A., in ost. 2013. Nrf2 impacts cellular bioenergetics by controlling substrate availability for mitochondrial respiration. *Biology Open*, 2(8): 761–770.
- Holmström K.M., Kostov R.V., Dinkova-Kostova A.T. 2016. The multifaceted role of Nrf2 in mitochondrial function. *Current Opinion in Toxicology*, 1: 80–91.
- Hu F., Liu F. 2011. Mitochondrial stress: A bridge between mitochondrial dysfunction and metabolic disease? *Cellular Signalling*, 23: 1528–1533.
- Joseph A.M., Adhietty P.J., Wawrzyniak N. R., Wohlgenuth S.E., Picca A., in ost. 2013. Dysregulation of mitochondrial quality control processes contribute to sarcopenia in a mouse model of premature aging. *PLoS One*, 8(7): e69327.
- Joseph A.M., Adhietty P.J., Leeuwenburgh C. 2016. Beneficial effects of exercise on age-related mitochondrial dysfunction and oxidative stress in skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 594(18): 5105–5123.
- Kawanishi N., Yano H., Yokogawa Y., Suzuki K. 2010. Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice. *Exercise Immunology Review*, 16: 105–118.
- Kawanishi N., Mizokami T., Yano H., Suzuki K. 2013. Exercise attenuates M1 macrophages and CD8+ T cells in the adipose tissue of obese mice. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 45(9): 1684–1693.
- Kizaki T., Maegawa T., Sakurai T., Ogasawara J.E., Ookawara T. in ost. 2011. Voluntary exercise attenuates obesity-associated inflammation through ghrelin expressed in macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 413(3): 454–459.
- Kratz M., Coats B.R., Hisert K.B., Hagman D., Mutskov V., in ost. 2014. Metabolic dysfunction drives a mechanistically distinct proinflammatory phenotype in adipose tissue macrophages. *Cell Metabolism*, 20: 614–625.
- Lavoy E.C.P., Bollard C.M., Hanley P.J., Blaney J.W., O'Connor D.P., in ost. 2015. A single bout of dynamic exercise enhances the expansion of MAGE-A4 and PRAME-specific cytotoxic T-cells from healthy adults. *Exercise Immunology Review*, 21: 144–153.
- Lee Y.S., Wollam J., Olefsky J.M. 2018. An integrated view of immunometabolism. *Cell*, 172: 22–40.
- Lourenco dos Santos S., Baraibar M.A., Lundberg S., Eeg-Olofsson O., Larsson L., Friguet B. 2015. Oxidative proteome alterations during skeletal muscle ageing. *Redox Bioogy*, 5: 267–274.
- Magliulo L., Bondi D., Pini N., Marramiero L., Di Filippo E.S. 2022. The wonder exerkinase-novel insights: a critical state-of-the art review. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 447: 105–113.
- Martín-Cordero L., Gálvez I., Hinchado M.D., Ortega E. 2019. β_2 adrenergic regulation of the phagocytic and microbicide capacity of macrophages from obese and lean mice: Effects of exercise. *Nutrients*, 11(11): 2721.
- Mathis, D., Shoelson, S.E. 2011. Immunometabolism: An emerging frontier. *Nature Reviews Immunology*, 11: 81–83.
- Menshikova E.V., Ritov V.B., Fairfull L., Ferrell R.E., Kelley D.E., Goodpaster B.H. 2006. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*, 61A(6): 534–540.
- Mesquita P.H.C., Lamb D.A., Parry H.A., Moore J.H., Smith M.A. in ost. 2020. Acute and chronic effects of resistance training on skeletal muscle markers of mitochondrial remodeling in older adults. *Physiological Reports*, 8: e14526.
- Mouton A.J., Li X., Hall M.E., Hall J.E. 2020. Obesity, hypertension, and cardiac dysfunction: novel roles of immunometabolism in macrophage activation and inflammation. *Circulation Research*, 126: 789–806.
- Nakaya M., Xiao Y., Zhou X., Chang J.H., Chang M., in ost. 2014. Inflammatory T cell responses rely on amino acid transporter ASCT2 facilitation of glutamine uptake and mTORC1 kinase activation. *Immunity*, 40: 692–705.

- Newsholme E. A. 1994. Biochemical mechanisms to explain immunosuppression in well-trained and overtrained athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 15(3): S142–S147.
- Nielsen H.B., Secher N.H., Christensen N.J., Pedersen B.K. 1996. Lymphocytes and NK cell activity during repeated bouts of maximal exercise. *American Journal of Physiology*, 271(1 Pt 2): R222–R227.
- Omarjee L., Perrot F., Meilhac O., Mahe G., Bousquet G., Janin A. 2020. Immunometabolism at the cornerstone of inflammaging, immunosenescence, and autoimmunity in COVID-19. *Aging* 12(24): 26263–26278.
- Ortega E., Gálvez I., Martín-Cordero L., 2019. Adrenergic regulation of macrophage-mediated innate/inflammatory responses in obesity and exercise in this condition: Role of β_2 adrenergic receptors. *Endocrine metabolic immune disorders-Drug targets*, 19(8): 1089–1099.
- Padilha C.S., Figueiredo C., Guerra Minuzzi L., Chimin P., Deminice R. in ost. 2021. Immunometabolic responses according to physical fitness status and lifelong exercise during aging: New roads for exercise immunology. *Ageing Research Reviews*, 68: 101341.
- Peake J.M., Neubauer O., Gatta, P.A.D., Nosaka K. 2017. Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. *Journal of Applied Physiology*, 122: 559–570.
- Pedersen B.K., Hoffman-Goetz L. 2000. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiological Reviews*, 80: 1055–1081.
- Pedersen B.K., 2009. The disease of physical inactivity - and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *Journal of Physiology*, 587(23): 5559–5568.
- Pino M.F., Stephens N.A., Eroshkin A.M., Yi F., Hodges A., in ost. 2019. Endurance training remodels skeletal muscle phospholipid composition and increases intrinsic mitochondrial respiration in men with Type 2 diabetes. *Physiological Genomics*, 51: 586–595.
- Porter C., Reidy P., Bhattarai N., Sidossis L., Rasmussen B. 2015. Resistance exercise training alters mitochondrial function in human skeletal muscle. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 47(9): 1922–1941.
- Pyne D.B., Baker M.S., Smith J.A., Telford R.D., Weidemann M.J. 1996. Exercise and the neutrophil oxidative burst: Biological and experimental variability. *European Journal of Applied Physiological Occupational Physiology*, 74: 564–571.
- Rosa-Neto José C., Lira Fábila S., Little Johnatan P., Landells G., Islam H., in ost. 2022. Immunometabolism-fit: How exercise and training can modify T cell and macrophage metabolism in health and disease. *Exercise Immunology Reviews*, 28: 29–46.
- Siedlik J.A., Benedict S.H.; Landes E.J., Weir J.P., Vardiman J.P., Gallagher P.M. 2016. Acute bouts of exercise induce a suppressive effect on lymphocyte proliferation in human subjects: A meta-analysis. *Brain Behavioral Immunology*, 56: 343–351.
- Short K.R., Bigelow M.L., Kahl J. Singh R., Coenen-Schimke J., in ost. 2005. Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 5618–23.
- Tonkonogi M., Fernström M., Walsh B., Ji L.L., Rooyackers O. in ost. 2003. Reduced oxidative power but unchanged antioxidative capacity in skeletal muscle from aged humans. *Pflügers Archive*, 446(2): 261–269.
- Vargas-Mendoza N., Angeles-Valencia M., Morales-González Á., Madrigal-Santillán E.O., Morales-Martínez M. in ost. 2021. Oxidative stress, mitochondrial function and adaptation to exercise: New Perspectives in Nutrition. *Life*, 11: 1269: 1–24.
- Woo C.Y., Jang J.E., Lee S.E., Koh E.H., Lee K.U. 2019. Mitochondrial dysfunction in adipocytes as a primary cause of adipose tissue inflammation. *Diabetes and Metabolism Journal*, 43: 247–256.

OBVLADOVANJE STRESA IN VPLIV NA ZDRAVJE

Timotej STRNAD¹

Povzetek: V naravi je stresni odziv razmeroma kratek in visoko intenziven, saj je njegova naloga posameznika pripraviti na beg ali boj. V modernem svetu je pri človeku lahko stresni odziv mnogo daljši in posledično zaradi visokih fizioloških zahtev lahko škoduje zdravju. Ker se človekovi možgani mnogo pogosteje kot na zunanje dražljaje, odzivajo na interpretacijo teh dražljajev, je pomembno, da za uspešno upravljanje s stresom poskrbimo za urejeno delovno okolje. Tako lahko na družbenem nivoju poskrbimo za kvalitetno komunikacijo in odnose, organizacijo rednih odmorov in organizacijo rednega gibanja med daljšimi obdobji sedenja. Na nivoju posameznika pa za boljše spoprijemanje s stresom poskrbimo za reden in kvaliteten spanec, vsakodnevno meditacijo in redno izpostavljanje kontroliranim skrajno intenzivnim fiziološkim dražljajem.

Ključne besede: stres, gibanje, spanje, družba, fiziologija

THE REGULATION OF STRESS AND THE INFLUENCE OF STRESS ON HEALTH

Abstract: In nature, the physiological stress response is relatively short in duration and high in intensity, it's task being to prepare the individual for a fight or flight response. In the modern world in humans the stress response can be relatively long and because of its high physiological demands, detrimental to an individual's health. Because the human brain mostly reacts to interpretations of stimuli, rather than the stimulus itself, it is of utmost importance for stress regulation to take care of a supporting work environment. On a social level we can take care of good and qualitative communication and interpersonal relations, organize regular breaks from work, and regular movement between long sessions of sitting in front of a screen. On an individual level, we can take care of regular and qualitative sleep, daily meditation and regular exposure to controlled and extreme physiological stimuli.

Key words: stress, exercise, sleep, company, physiology

¹ mag. psih., O.K Consulting d.o.o., e-mail: tim.strnad@okconsulting.si

1 OBVLADOVANJE STRESA IN VPLIV NA ZDRAVJE

V modernem delovnem okolju se izjemno pogosto srečujemo s stresom. Pogosto opazimo in se aktivno zavedamo, da najverjetneje nismo v življenjsko ogrožajočih okoliščinah, hkrati pa stres, ki ga doživljamo naše telo pripravlja ravno za takšne okoliščine. Že samo zavedanje, da naše okoliščine niso življenjsko ogrožajoče, lahko pomaga pri lajšanju stresnega odziva.

Ljudje smo med sabo različni po fizioloških in psiholoških značilnostih, hkrati pa neprestano doživljamo notranje dražljaje, ki so si med sabo podobni. Naši možgani so se evolucijsko razvili z namenom, da nas ohranijo pri življenju in zagotovijo nadaljevanje našega genskega zapisa. V modernem svetu so mnogi možganski evolucijski odzivi sicer popolnoma normalno neprijetni in skladni z višjimi, biološkimi cilji ob-stoja, hkrati pa so lahko v daljših obdobjih in višjih intenzitetah tudi škodljivi za naše zdravje.

Naše telo se s stresno odzove na vsako okoliščino, ki jo prepozna kot pomembno, nevarno in zahtevno. Telo in možgani nas v takih okoliščinah pripravijo na hiter in močan telesni odziv. Naš srčni utrip se neko-liko poveša, naša prekrvavitev se poveča v vitalnih organih, naša koncentracija se poveča, naš mišični ton postane nekoliko višji, kakor tudi naša telesna temperatura. V naravi je dovolj hiter stresni odziv pogosto pomenil razliko med preživetjem ali smrtjo posameznika, v antropocenu pa so življenjsko ogrožajoče okoliščine za človeka redke, stresni odziv in njegov mehanizem pa ostajata enaka.

Stresni odziv je v naravi relativno kratek. Telo se znajde v življenjsko ogrožajočih okoliščinah in uporabi visoko količino virov, da se čim hitreje umakne iz teh okoliščin. V modernem svetu so stresni odzivi lahko mnogo daljši. Ljudje smo razvili okolje, ki sicer ni življenjsko ogrožajoče, vendar pa v nas pogosto izzove stresni odziv zaradi dolgoročnih abstraktnih implikacij okoliščin. Če ne bomo uspešno opravili naslednje naloge, se lahko zgodi, da nas bo nadrejeni discipliniral, kar bo povzročilo črno piko na našem življenjepisu, kar pomeni, da bomo manj zaposljivi in bolj izpostavljeni katastrofalnim okoliščinam, stradanju, morda celo smrti. V nekaterih delovnih okoljih vlada prepričanje, da ima vsaka delovna napaka potencial postati tista, ki povzroči za posameznika katastrofalne posledice. Posledično lahko stresni odziv traja dneve, mesece, včasih celo leta.

Telo intenzitete stresnega odziva ne prilagaja objektivni stopnji nevarnosti, ampak prepoznani stopnji ne-varnosti. Prepoznana stopnja nevarnosti je odvisna od referenčnega okvirja vsakega posameznika. Svoj referenčni okvir sestavimo na osnovi svojih izkušenj, znanja, prepričanj, načel in vrednot. Oseba, ki je preživela izjemno intenzivne življenjsko ogrožajoče okoliščine bo posledično ob slabo opravljeni nalogi in nedoseganju roka v službi doživljala mnogo manj intenziven stresni odziv, kot oseba, katere najvišja referenčna točka za življenjsko nevarnost je padec na izpitu na fakulteti.

Stanje stresne pripravljenosti je izjemno zahtevno za vsako celico v telesu. Celice proizvajajo večje količine odpadnih produktov, druge celice pa so izjemno obremenjene z odstranjevanjem teh odpadnih produktov ter s skrbjo za hkratno ohranjanje stabilnega in zdravega telesa za nadaljnje naloge in zahteve iz okolja. Ob daljših stresnih odzivih se v naši krvi število vnetnih signalov poveša na stopnje, ki lahko izzovejo tudi hude težave v mentalnem in telesnem zdravju.

Stresni odziv je izjemno zahteven za telo tudi če ne privede do stanja izgorelosti. V naravi je razmeroma kratek in posledično ima telo mnogo časa, da se po stresni izkušnji rehabilitira in ojača za morebitne sledeče stresne izkušnje. V modernem človekovem obstoju so stresni odzivi mnogo daljši in posledično lahko telo izčrpajo do, ali pa preko meje izgorelosti. Izgorelost je stanje, ko telo fiziološko več ni sposobno prenašati bremena stresnega odziva in zahteva mnogo daljša obdobja mirovanja in rehabilitacije, kot bi jih zahteval zgolj trenutni stresni odziv.

Kadar ob stresu čutimo tudi zadostno količino notranjega zadovoljstva in v njem vidimo višji smisel pravi-mo, da smo v stanju zanosa. Takšno stanje je za telo samoohranjajoče; Hormonski odziv na stresor in hkratni hormonski odziv na postopno doseganje cilja, ki je v skladu z našimi prepričanji, načeli ali vredno-tami, se dopolnjujeta. Hkrati se počutimo neprijetno in dovolj prijetno, da v okoliščinah zlahka vztrajamo.

Telo je izjemno prilagodljivo in se po času stresa prilagodi tako, da lahko prenaša več stresa v daljših obdobjih. Kratki in intenzivni stresni odzivi kot so fizični treningi ali drugi močni psihološki in fiziološki na-pori lahko v sledečih rehabilitacijskih obdobjih telo pripravljajo na naslednje stresne odzive. Tako priprav-ljanje telesa zahteva daljše mirovanje, počitek, spanec. Za odraslega človeka je vsako noč priporočljiv spa-nec, ki traja med 7 in 8 ur. Ljudje, ki več zaporednih noči spijo manj kot 6 ur imajo čas odziva na zunanje dražljaje podoben kot osebe, ki imajo v krvi 0.05% alkohola. Ker so naši možgani izjemno prilagodljivi, ne-kateri ljudje lahko manjše količine spanca nadoknadijo s t. i. nespalnim globokim počitkom ali meditacijo.

Človek je za življenje v družbah evolucijsko in tudi kulturno z umetno izbiro razvil poseben predel možgan izključno za umeščanje posameznika v družbo. Ta predel možgan, ki leži v osprednjem predelu lobanje, ves čas preverja različne poglede posameznikove družbene umeščenosti; Vrednost posameznikovih idej, pri-mernost njegovega dožemanja okolja in realnosti glede na druge, primernost njegovih odzivov na okolje, celo primernost moči čustvenih odzivov. Kadar opazimo, da so ljudje okoli nas umirjeni, obstaja visoka verjetnost, da bomo tudi sami doživljali višje stopnje notranjega miru. Kadar opazimo, da so ljudje okoli nas napeti, bomo tudi sami doživljali višjo stopnjo napetosti. Kadar smo z drugimi v svojem okolju močne-je povezani, bomo izkušali nižje količine stresa in obratno. Ljudje stremimo k obstoju v okolju, kjer se na druge lahko zanesemo in se med njimi počutimo varne. Hrskati se radi zanesemo tudi na to, da bodo drugi za nas poskrbeli vsaj tako dobro, kot skrbijo zase. Če se torej znajdemo v okolju, kjer je pretiravanje z de-lom in odrekanje počitka normalno, se poskušamo temu prilagoditi in počasi razvijemo podobne, pogosto dolgoročno neučinkovite mehanizme za predelovanje stresa brez počitka kot jih zaznamo pri drugih. Tak-šne mehanizme kasneje prenesemo tudi na druge, ki prihajajo v isto okolje za nami.

S stresom se lahko spopademo na različne učinkovite načine. Nekateri so družabni, drugi pa so usmerjeni na posameznika in njegovo notranje doživljanje. Ker so družabni odvisni od drugih ljudi, so posledično zanesljivi toliko, kolikor so zanesljivi drugi ljudje. Takšni načini obvladovanja stresa so na primer jasno določeni premori od dela, jasno določene norme komunikacije in odnosov med sodelavci, organizirani skupinski gibalni dogodki, in fleksibilen delovni čas. Najučinkovitejši individualni načini za obvladovanje stresa pa vključujejo aktivno samoopazovanje ali meditacijo, vsakodnevno fizično aktivnost, progresivno zmanjševanje

količine sedenja na delovnem mestu, ter optimizacija cirkadijskega oziroma spalnega ritma.

Ljudje spimo približno tretjino časa svojega življenja. Med spanjem smo popolnoma nebogljeni, se ne pre-hranjemo in relativno mirujemo. Če spanec ne bi bil izjemno pomemben, lahko z gotovostjo trdimo, da bi se skozi proces evolucije skozi milijone let izločil oziroma kako drugače optimiziral. Med spanjem se med drugim vršijo izjemno pomembni procesi odvajanja odpadkov ali glimfatični procesi, procesi utrjevanja motoričnih vzorcev, ter procesi splošne rehabilitacije celic. Če je spanec prekratek ali premalo globok, lahko hitro opazimo neprijetne posledice na različnih področjih človekove pripravljenosti, zmanjša se reakcijski čas, poviša krvni pritisk, zmanjša eksplozivnost gibanja in finomotorična natančnost. Če je človek buden več kot 18 ur naenkrat je njegov odziv na zunanje dražljaje podoben, kot če bi v krvi imel 0,05% al-kohola, če je buden 24 ur pa se številka zviša na 0.1%. Da bi izboljšali spanec ga uskladimo z naravnim zmanjšanjem dnevne svetlobe in vsaj 2 uri pred in eno uro po spancu ne uporabljamo svetlih ekranov.

Fizični stres za kardiovaskularni sistem predstavlja tudi sedenje. Priporočljivo je, da bi za vsakih 20 minut sedenja človek vsaj 5 minut stal ali hodil. Gibanje po telesu požene kri in limfo, povzroči večji dotok in pretok hrane in odtok odpadnih snovi, hkrati pa odpre pljuča in dovoljuje primeren pretok zraka. Vsi prej omenjeni procesi zmanjšujejo fiziološki stres. Naše telo približno vsakih 5 minut povzroči t. i. fiziološki vzdih, ki pri višjih naporih in stresnih okoliščinah skoraj izgine. Opaziti je, da ta telesni odziv izgine tudi pri osredotočenosti na močan vir svetlobe – ekran. Zmanjševanje frekvence fiziološkega vzdihla zmanjša frekvenco avtogenega sproščanja telesa in posledično zviša moč zaznanega stresa.

V primeru, ko opazimo, da smo daljše obdobje izpostavljeni stresu, ali pa že čutimo lažje posledice izgorelosti, se lahko poslužimo mnogo sprememb in optimizacij življenjskega sloga, ki pomagajo znižati stopnje stresa v naših življenjih. Takšne spremembe lahko uvedemo bodisi na nivoju družbe in organizacije, bodisi na nivoju posameznika. Na nivoju družbe lahko poskrbimo za rigorozno organizacijo odmorov od dela, organizacijo fizičnega gibanja in norm na nivoju medosebnih odnosov. Na nivoju posameznika pa uredimo ritem spanja, vsakodnevno meditiramo in se izpostavimo fizičnim izzivom, ki naše telo izzovejo do meje njegove zmogljivosti. Po vsakem stresnem obdobju je zaradi naravne rehabilitacije in višanja pripravljeno-telesa primerno odmeriti vsaj dvojno količino časa za sproščanje in rehabilitacijo.

2 ZAKLJUČEK

V modernem svetu so človeški stresni odzivi mnogo daljši, kot so bili v naravi. Stanja stresa so izjemno zahtevna za fiziologijo telesa. Posledično lahko v daljših obdobjih stanja stresa zahtevajo visok davek pri posameznikovem zdravju. Za regulacijo stresa lahko poskrbimo skozi širitev referenčnega okvirja in kontrolirano izpostavljanje neprijetnim dražljajem, primerno rehabilitacijo po stresnih obdobjih, kvaliteten spanec in redno gibanje. Hkrati se pred hudimi posledicami stresnih odzivov lahko zaščitimo z kvalitetnimi odnosi na delovnem mestu, rednimi pavzami od dela in rednim gibanjem po daljših obdobjih sedenja.

8 VIRI

- Adevi, A. A., & Mårtensson, F. 2013. Stress rehabilitation through garden therapy: The garden as a place in the recovery from stress. *Urban forestry & urban greening*, 12: 230-237
- Benveniste, H., Heerdt, P. M., Fontes, M., Rothman, D. L., Volkow, N. D. 2019. Glymphatic system function in relation to anesthesia and sleep states. *Anesthesia & Analgesia*, 128:747-758.
- Chrousos, G. P. 1997. Stress as a medical and scientific idea and its implications. In *Advances in Pharmacology* (Vol. 42, pp. 552-556). Academic Press
- Jeong, J. Y., Gu, M. O. 2016. The influence of stress response, physical activity, and sleep hygiene on sleep quality of shift work nurses. *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, 17: 546-559
- Cypser, J. R., Johnson, T. E. 2002. Multiple stressors in *Caenorhabditis elegans* induce stress hormesis and extended longevity. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 57: B109-B114.
- Coppola, F., Spector, D. 2009. Natural stress relief meditation as a tool for reducing anxiety and increasing self-actualization. *Social Behavior and Personality: an international journal*, 37: 307-311
- Fritz, C., Ellis, A. M., Demsky, C. A., Lin, B. C., Guros, F. 2013. Embracing work breaks. *Organizational Dynamics*, 42: 274-280.
- Katzmarzyk, P. T., Church, T. S., Craig, C. L., Bouchard, C. 2009. Sitting time and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer. *Medicine & science in sports & exercise*, 41: 998-1005
- Killgore, W. D. 2010. Effects of sleep deprivation on cognition. *Progress in brain research*, 185: 105-129
- Harrison, Y., Horne, J. A. 2000. The impact of sleep deprivation on decision making: a review. *Journal of experimental psychology: Applied*, 6: 236
- Holmér, I., Hassi, J., Ikäheimo, T. M., Jaakkola, J. J. 2001. Cold stress: effects on performance and health. *Patty's Toxicology*, 1-26.
- Lloyd, C., King, R., Chenoweth, L. 2002. Social work, stress and burnout: A review. *Journal of mental health*, 11: 255-265
- Nappo, N. 2020. Job stress and interpersonal relationships cross country evidence from the EU15: A correlation analysis. *BMC Public Health*, 20: 1-11.
- Shindell, D., Zhang, Y., Scott, M., Ru, M., Stark, K., Ebi, K. L. 2020. The Effects of Heat Exposure on Human Mortality Throughout the United States. *GeoHealth*, 4: e2019GH000234
- Vlemincx, E., Van Diest, I., & Van den Bergh, O. (2016). A sigh of relief or a sigh to relieve: The psychological and physiological relief effect of deep breaths. *Physiology & behavior*, 165: 127-135
- Williamson, A. M., & Feyer, A. M. 2000. Moderate sleep deprivation produces impairments in cognitive and motor performance equivalent to legally prescribed levels of alcohol intoxication. *Occupational and environmental medicine*, 57: 649-655

PREHRANA IN STARANJE

Branka JAVORNIK¹

Povzetek: Intenzivne raziskave biologije staranja (geroznanost) so v zadnjem obdobju pokazale možnosti za preprečevanja ali upočasnitev procesov staranja in s tem zmanjševanje pojavnosti značilnih znakov oz. tegob staranja in bolezni povezani s staranjem. Leta 2013 je bilo postuliranih devet značilnih bioloških procesov staranja (Hallmarks of aging), ki so danes splošno sprejeti vključno z vrsto dopolnitev in kritikami paradigme karakteristik staranja. Postulirani biološki procesi staranja nudijo platformo za molekularno biološka proučevanja in služijo kot tarče za možne intervencije za preprečevanja ali upočasnitev procesov staranja. Prispevek želi na kratko predstaviti vpliv načina prehranjevanja na procese staranja. Prikazani so poskusi načina prehranjevanja na modelnih organizmih, odkrivanje evolucijsko ohranjenih metabolnih in hormonskih poti vključenih v zaznavo hranil in translacija teh spoznanj na človeka. Izsledki proučevanj nakazujejo, da je z načinom prehranjevanja možno vplivati na nekatere biološke procese staranje.

Ključne besede: prehrana, staranje, dolgoživost

NUTRITION AND LONGEVITY

Abstract: Intensive research into the biology of aging (geroscience) has recently shown possibilities of preventing or slowing down the aging process and thus reducing the incidence of characteristic aging problems and aging-related diseases. In 2013, nine characteristic biological processes of aging (hallmarks of aging) were postulated, which are generally accepted today, including a series of additions and critiques of the paradigm of aging hallmarks. The postulated biological processes of aging provide a platform for molecular biological studies and serve as targets for possible interventions to prevent or slow down the aging process. The paper briefly presents the impact of diet on aging processes. Experiments on the diet of model organisms, the discovery of evolutionarily preserved metabolic and hormonal pathways involved in nutrient perception, and the translation of these findings into humans will be presented. The results of studies suggest that it is possible to modulate biological processes of aging through diet.

Key words: nutrition, aging, longevity

¹ prof. dr., Gerontološko društvo Slovenije, sekcija vitalna dolgoživost, Trg prekomorskih brigad 1, 1000 Ljubljana, e-mail: branka.javornik@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Staranje se na splošno opredeljuje kot biološki proces postopnega slabšanja (fizioloških) funkcij organizma in posledično zmanjševanje telesnega ravnovesja in povečane občutljivosti na različne spremembe. Staranje je prepoznano kot najpomembnejši skupni dejavnik oz. vzrok za nastanek socialno in ekonomsko pomembnih različnih tegob starosti (krhkost, bolehnost, fizična nezmožnost,... itd) in bolezni kot so srčno-žilne bolezni, diabetes, kronična vnetja, nevrodegenerativne bolezni in rak (kronične bolezni ali bolezni povezane s staranjem). Pojavnost teh tegob in bolezni, ki se sedaj skušajo omiliti s posebno oskrbo starejših, z življenjskim slogom, zgodnjo detekcijo bolezni ali z zdravljenjem posameznih bolezni, se bo še povečala s predvidenim podaljševanjem življenjske dobe.

Zdravje je pomemben dejavnik razvoja družbe in močno vpliva na položaj posameznika v družbi. Povečanje števila zdravih let življenja lahko vpliva na zmanjšanje izdatkov za zdravstvo in izboljšanje blaginje vseh generacij. Izkušnje drugih držav kažejo, da ukrepi, ki so usmerjeni v spodbujanje zdravega načina življenja, in preventivni zdravstveni programi, lahko pomembno vplivajo na kakovost življenja in izboljšujejo dolgoročno vzdržnost sistemov socialne zaščite. V Sloveniji smo v ta namen sprejeli Strategijo dolgožive družbe (UMAR, 2017) katere izvedba se zelo počasi uresničuje.

2 RAZISKAVE PROCESOV STARANJA

Že od nekdaj si je človek poskušal razložiti vprašanje zakaj se staramo vendar še danes, kljub izjemnemu napredku na področjih molekularne biologije in genetike, nimamo odgovora na čudo, ki kontrolira življenjsko obdobje. George C. Williams (1926-2010), slaven evolucijski biolog, je dejal, da je neverjetno, kako so kompleksni organizmi po na videz čudežnem mojstrstvu morfogeneze, nesposobni opraviti preprostega vzdrževanja tega, kar je že bilo oblikovano. Za razlago staranja organizmov so se razvile različne biološke teorije, ki se med seboj prepletajo in dopolnjujejo. Evolucijska teorija staranja predvideva, da se je staranje razvilo kot kompromis alokacije virov (energije in funkcije) med pred- in po- reprodukcijskem življenjskim obdobjem, ki vodi do počasne akumulacije nepopravljivih celičnih poškodb (Maklakov in Chapman, 2019). Druge pogoste razlage staranja so t.i. teorije kopičenja poškodb v organizmu, ki vključujejo akumulacijo mutacij, kopičenje kemičnih poškodb, oksidativni stres in podobno (Jin, 2010).

Intenzivne raziskave procesov biologije staranja, ki se v zadnjem času opredeljuje s pojmom geroznanost, so v zadnjem obdobju pokazale možnosti za preprečevanja ali upočasnitev procesov staranja in s tem možnosti za zmanjševanje današnjih značilnih tegob staranja in kroničnih bolezni (Sierra in sod., 2009; Kirkland, 2013) ter vzporedno nakazale njihove zdravstvene in ekonomske koristi (Goldman in sod., 2013; Scott in sod., 2021). Raziskave na področju biologije staranja, starostnih bolezni, osnov dolgoživosti in iskanju zdravil/učinkovin za vitalno staranje potekajo primarno na modelnih organizmih kot so nematoda *C.elegans* (Zhang in sod., 2020), kvas (Lippuner in sod., 2014), vinska mušica (Pipera in Partridge, 2018) in miš (Kōksa in sod., 2016) z odkrivanjem evolucijsko ohranjenih mehanizmov in procesov staranja, celovitim proučevanjem biokemijskih poti in ključnih genov/proteinov vključenih v

processe staranja ter njihovih medsebojnih vplivov v celicah in na ravni organizma. Iščejo se označevalci (biomarkerji) staranja in možni posegi z različnimi učinkovinami za upočasnitev procesov staranja ter s translacijo teh spoznanj na človeka (Campisi in sod., 2019).

Leta 2013 so bile podane osnovne značilne biološke karakteristike (Hallmarks of aging) procesov staranja v devetih točkah (López-Otín in sod., 2013), ki so danes splošno sprejete vključno z vrsto dopolnitev (López-Otín in sod., 2016; van der Rijt in sod., 2020) in kritikami paradigme karakteristik staranja (Gems in de Magalhães, 2021). Ti procesi so obravnavani na različnih nivojih in vključujejo: stabilnost genoma, skrajševanje telomer, epigenetske spremembe, izguba proteostaze, deregulacija zaznave hranil, disfunkcija mitohondrijev, celična senescenca, izčrpanje matičnih celic in spremenjena medcelična komunikacija. Postulirani bioloških procesi staranja nudijo platformo za molekularno biološka proučevanja in služijo kot tarče za možne intervencije za preprečevanja ali upočasnitev procesov staranja.

Po mnenju nekaterih geroznanstvenikov ima človek tri možnosti za zdravo staranje in vitalno dolgoživost: z genetsko predispozicijo (odvisno od staršev in naključja oz. sreče), z vplivi na znane mehanizme in procese staranja z življenjskim slogom (telesna aktivnost, način prehranjevanja, osebno zadovoljstvo) in z uporaba geroterapevtikov (možnosti v prihodnosti s končanimi kliničnimi testi in odobritvami regulatornih agencij).

3 PREHRANA IN STARANJE – ZMANJŠAN VNOS KALORIJ (ZVK)

Leta 1935 je McCay s sodelavci objavil raziskavo na miših, ki je pokazala, da zmanjšan vnos kalorij (ZVK, angl. calorie restriction, CR) podaljša življenjsko dobo miši (McCay in sod., 1935). V letih, ki so sledila, je bilo opravljenih veliko podobnih poskusov, ki so rezultirali v podobnih zaključkih – ZVK podaljša življenjsko dobo. V začetnem obdobju ti poskusi niso bili deležni posebne pozornosti, ker so bili predvsem opisne narave in ker je bilo zanimanje za raziskave na področju biologije staranja relativno slabo vse tja do devetdesetih let prejšnjega stoletja. Vendar sta v obdobju 1975-90 te poskuse osmislila Edward Masoro in Roy Walford, ki sta nedvoumno demonstrirala s poskusi na miših in podganah, da ZVK (okoli 30%) podaljša življenjsko dobo za 10-30% ter upočasni staranje z zmanjšanimi različnimi patologijami (bolezni) in izboljšanimi fiziološkimi funkcijami (Weindruch in Walford, 1988; Masoro, 2005). Meta-analiza podatkov ZVK pri glodavcih od leta 1934-2012 je dejansko pokazala, da je ZVK zvišal življenjsko obdobje za 14-45% pri podganah in le za 4-25% pri miših (Swindell, 2012). Študije so tudi pokazale, da je vpliv ZVK na dolgot življenja in na dolgot zdravega življenja različen in je odvisen od spola, starosti in genetskih dejavnikov obravnavanega organizma.

Raziskovalno zanimanje za procese staranja je počasi naraščalo in ZVK je postal zlati standard za dolgoživost, ki je tudi pokazal, da je proces staranja pogojen z multiplimi biološkimi potmi/procesi. Raziskave staranja na glodavcih so seveda sprožile vprašanja ali dognanja pri glodavcih, ki imajo relativno kratko življenjsko dobo, veljajo tudi za organizme z daljšo življenjsko dobo, kot je npr. človek. Za odgovor na to vprašanje so postavili dva vzporedna ZVK poskusa na Rhesus opicah v daljšem časovnem obdobju. Raziskava, ki je potekala skoraj tri desetletja, je pokazala, da ZVK izboljša zdravstveno stanje in dolgoživost Rhesus opic,

podobno kot so pokazali predhodni poskusi z glodavci (Mattison in sod., 2015; Mattison in sod., 2017).

Kako pa je s človekom, kar nas še posebej zanima? Ali veljajo podobni mehanizmi staranja kot pri glodavcih ali opicah? Američani so ponovno postavili poskus imenovan CALERIE (Comprehensive Assessment of Long-term Effects of Reducing Intake of Energy) – tokrat z ljudmi - z 220 zdravimi srednje letniki (21 – 50 let), v naključni poskusni (ZVK, cca 12%) in kontrolni skupini v obdobju 2 let na 3 lokacijah (Rochon in sod., 2011). Študija je pokazala možnosti izvedbe ZVK poskusov pri človeku predvsem pa občutne izboljšave za kazalce dolgoživosti (parametri krvnih testov) in kardiometabolno tveganih dejavnikov (Ravussin in sod., 2015; Kraus in sod., 2019). Podatki CALERIE študije so bili uporabljeni tudi za izračun biološkega staranja (biološke ure), ki se razlikuje od kronoloških let, in za katerega so na razpolago različni algoritmi (Jylhävä in sod., 2017). Belsky et al. (2018) so z biomarkerji iz CALERIE študije testirali dva algoritma, ki sta pokazala, da zmanjšan vnos kalorij upočasni biološko staranje.

Staranje povzročijo postulirani biološki procesi (Hallmarks of aging), ki so dobro proučeni pri modelnih organizmih s pomočjo mutacij genov vključenih v te procese. Pri ZVK, ki očitno vpliva na dolgost zdravega življenja, ima pomembno vlogo deregulacija zaznave hranil. Odgovor organizma na zmanjšan vnos kalorij je v znižanju anabolnih procesov (sinteza, rast in reprodukcija), favorizirajo se sistemi za vzdrževanje in popravila poškodb, poveča se odpornost na stres, poškodovane molekule se reciklirajo, stimulira se biogeneza mitohondrijev in podpira se preživetje celic, kar vse skupaj vodi do izboljšanja zdravja in odpornosti na bolezni (de Cabo in Mattson, 2019). Različne signalne poti, ki zaznajo in se odzivajo na fluktuacijo ravni hranil v telesu so pogosto deregulirane med staranjem in predstavljajo metabolne motnje. ZVK sproži endokrine odzive in adaptacije na nizko raven aminokislin, glukoze in inzulina. Pomemben vpliv na procese staranja ima inzulinska in IGF-1 signalna pot (IIS). Številni poskusi nedvoumno potrjujejo, da je podaljšanje življenjske dobe pri različnih organizmih s pomočjo zmanjšane vnosa kalorij odvisno od zmanjšane aktivnosti IIS signalne pot in inhibicije mTOR sistema za sintezo beljakovin. S staranjem se zmanjšuje tudi nivo bioenergetskih senzorjev (NAD⁺, ATP in acetil-CoA), ki sicer aktivirajo proteine za regulacijo celičnih funkcij in odpornosti na stres vključno s transkripcijskimi faktorji (FOXO, PGC-1 α , NRF2), kinazami (AMPK) in deacetilazami (SIRT6). Družina proteinov induciranih s stresom – sestrični – ki modulirajo AMPK in mTOR sisteme za zaznavo hranil se uveljavljajo kot regulatorji metabolne homeostaze in lahko upočasnijo staranje pri različnih modelnih organizmih. Na primer, pomankanje sestričnega 3 pri miši povzroči različne metabolne nepravilnosti, ki običajno pospešijo staranje kot so nalaganje maščob, diabetes in mišična degeneracija. Torej, za ohranjanje metabolnega ravnotežja na ravni organizma so potrebne ustrezno uravnane signalne poti za zaznavo hranil, ki lahko upočasnijo staranje in zavrejo razvoj s starostjo povezanih bolezni (López-Otín in sod., 2016).

4 DIETE S POSTOM

Rezultati poskusov znižane vnosa kalorij pri različnih organizmih in pozitiven vpliv tega prehranskega režima na podaljševanje zdrave življenjske dobe so vzpodbudili nadaljnja proučevanja translacije teh spoznanj na človeka. Staranje in razvoj kroničnih bolezni je povezan s povečano aktivnostjo ohranjenih metabolnih poti povzročeno z vnosom hranil (beljakovin, določenih aminokislin, maščob, sladkorja). Z zmanjšanim vnosom hranil, na primer z rednim ali občasnim postom, lahko reguliramo te metabolne poti in tako spodbudimo koordiniran odgovor celic, ki je učinkovit za upočasnitev staranja in kroničnih bolezni. Takšen odgovor celic omogoča organizmu, da vzpostavi zaščitni in vzdrževalni sistem, ki se je razvil v zgodnjih obdobjih življenja na planetu, ko ni bilo na razpolago dovolj hrane za rast in reprodukcijo.

Zmanjšan vnos kalorij lahko dosežemo tudi z dietami, ki vključujejo redni ali občasni post. Med najpogostejšimi takšnimi dietami je časovno omejeno hranjenje ali intervalni post pri katerih uživamo hrano npr. samo 8 ur/dan, 16 ur pa se postimo (8:16) ali po sorodnih razmerjih (9:15; 12:12). Drug tip postenja je uvajanje postnih dni v prehrani, na primer 2 dni posta v tednu (5:2), postenje vsak drugi dan ali nekaj dni posta v mesecu. Diete s periodnim hranjenjem so v predkliničnih in kliničnih študijah pokazale številne koristi za mnoga zdravstvena stanja kot so debelost, diabetes, srčno-žilne bolezni, rak in nevrološke bolezni. Modelni organizmi so pokazali koristi postenja za zdravje skozi celo življenjsko obdobje, klinične študije pa so obsegale le krajša časovna obdobja tako, da rezultati niso najbolj reprezentativni. Poleg tega na izid poskusov vplivajo spol, starost, zdravstveno stanje in genetske predispozicije. Vplivi takšnih postnih diet na podaljševanja dolgoživosti ali na izboljšanje zdravstvenega stanje se proučujejo tako pri glodavcih kot pri človeku in na razpolago je nekaj dobrih preglednih člankov z obravnavo postnih diet (Fontana in Partridge, 2015; de Cabo in Mattson, 2019; Longo in Anderson, 2021), naslavlja pa se tudi vprašanja sestave hrane (razmerja beljakovine: maščobe : ogljikovi hidrati) in izvor hranil (rastlinski ali živalski) (Fontana et al.; 2008; Fontana in sod., 2010). Pred kratkim je bila objavljena zanimiva metodološka študija, ki vključuje meta-analizo vplivov različnih skupin živil na smrtnost in podatke Global Burden of Disease 2019, le-ta vključuje ocene izgube let življenja zaradi nekaterih faktorjev tveganja načina prehrane (Fadness in sod., 2022). Rezultati študije kažejo, da je sprememba prehrane od tipično zahodne prehrane k prehrani bogati s stročnicami, polnozrnatimi semeni in oreščki, z več zelenjave in sadja ter z zmanjšanim vnosom rdečega in procesiranega mesa, povezana s povišano pričakovano starostjo; če se začne sprememba prehrane pri 20 letih se lahko pričakuje podaljšanje življenjske dobe v povprečju za 10 let, 7 let pri ženskah in 13 let pri moških, in čez 8 let daljša življenjska doba, če se sprememba prehrane začne pri 60 letih.

5 ZAKLJUČEK

Pomen prehrane na dolgoživost in s starostjo povezanimi boleznimi je splošno razumljen in sprejet, ni pa še sprejetega konsenza o določeni vrsti prehrane, ki vpliva za dolgoživost. Ohranjeni mehanizmi odziva na prehrano od preprostih organizmov, glodavcev do človeka, omogočajo tako bazične raziskave kot študije na človeku za odkrivanje vrste in količine makro in mikro hranil ter načinov prehranjevanja za uravnavanje zdravega staranja in dolgoživosti ob prilagajanju diet, ki ne bodo upoštevale samo starost, spol in genetiko, temveč tudi zdravstveno

stanje posameznika in njegov življenjski slog. V prihodnje lahko pričakujemo, da bo mogoče z multi-omskimi analizami genoma, epigenoma, metaboloma in mikrobioma ob podpori umetne inteligence izdelati personalizirane diete za dolgoživost. Ponudniki takšnih diet so že na trgu, za manj premožne posameznike pa bi bilo zaželeno vključiti tovrstna napredna znanja in tehnologije v nacionalne strategije dolgožive družbe.

6 VIRI

- Belsky D.W., Huffman K.M., Pieper C.F., Shalev I., Kraus W.E. 2018. Change in the Rate of Biological Aging in Response to Caloric Restriction: CALERIE Biobank Analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 73: 4–10
- Campisi J., Kapahi P., Lithgow G.J., Melov S., Newman J.C., Verdin E. 2019. From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing. *Nature*, 571: 183–192
- De Cabo R., Mattson M.P. 2019. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. *N. Engl. J. Med.*, 381: 2541–2551
- Fadnes L.T., Økland J.-M., Haaland Ø.A., Johansson K.A. 2022. Estimating impact of food choices on life expectancy: a modeling study. *PLoS Med.* 19, e1003889.
- Fontana L., Partridge L. 2015. Promoting Health and Longevity through Diet: from Model Organisms to Humans. *Cell* 161: 106–118
- Fontana L., Weiss E.P., Villareal D.T., Klein S., Holloszy J.O. 2008. Long-term effects of calorie or protein restriction on serum IGF-1 and IGFBP-3 concentration in humans. *Aging Cell* 7, 681–687.
- Fontana L., Partridge L., Longo V.D. 2010. Extending healthy life span– from yeast to humans. *Science* 328, 321–326.
- Gems D., de Magalhães J.P. 2021. The hoverfly and the wasp: A critique of the hallmarks of aging as a paradigm. *Ageing Res Rev.* 13 (70): 101407
- Goldman D.P., Cutler D., Rowe J.W., Michaud P.C., Sullivan J., Peneva D., Olshansky S.J. 2013. Substantial health and economic returns from delayed aging may warrant a new focus for medical research. *Health Aff (Millwood)* 32: 1698–1705
- Ingram D.K., Mattison J.A., de Cabo R., Roth G.S. 2015. History of the study of calorie restriction in nonhuman primates conducted by the national institute on aging: the first decade. In: Yu B.P., ed. *Nutrition, Exercise and Epigenetics: Ageing Interventions*. Springer: 245–275
- Jin K. 2010. Modern Biological Theories of Aging. *Aging Dis.*, 1(2): 72–74
- Jylhävä J., Pedersen N.L., Hägg S. 2017. Biological Age Predictors. *EBioMedicine* 21: 29–36
- Kraus W.E., Bhaskar M., Huffman K.M., et al.; CALERIE Investigators. 2019. 2 years of calorie restriction and cardiometabolic risk (CALERIE): exploratory outcomes of a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 7(9): 673–683
- Kirkland J.L. 2013. Translating advances from the basic biology of aging into clinical application. *Exp. Gerontol.* 48: 1–5
- Köksa S., Doganb S., Tunac B.G., González-Navarro H., Pottere P., Vandenbrouckef R.E. 2016. Mouse models of ageing and their relevance to disease. *Mechanisms of Ageing and Development* 160: 41–53
- Lippuner A.D., Julou T., Barral Y. 2014. Budding yeast as a model organism to study the effects of age. *FEMS Microbiol Rev* 38: 300–325
- Longo V.D., Anderson R.M. 2021. Nutrition, longevity and disease: From molecular mechanisms to interventions. *Cell* 185: 1455–1470
- López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. 2013. The hallmarks of aging. *Cell* 153: 1194–1217
- López-Otín C., Galluzzi L., Freije J.M.P., Madeo F., Kroemer G. 2016. Metabolic Control of Longevity. *Cell* 166: 802–821
- Masoro E.J. 2005. Overview of caloric restriction and aging. *Mech. Ageing Dev.*, 126: 913–922

- Mattison J.A., Colman R.J., Beasley T.M., et al. 2017. Caloric restriction improves health and survival of rhesus monkeys. *Nat Commun.*, 8(1): 14063
- McCay C.M., Crowell M.F., Maynard L.A. 1935. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. *J. Nutr.* 10: 63-79
- Maklakov A.A., Chapman T. 2019. Evolution of ageing as a tangle of trade-offs: energy versus function. *Proc. R. Soc. B* 286: 20191604
- Ravussin E., Redman L.M., Rochon J., et al. ; CALERIE Study Group. 2015. A 2-year randomized controlled trial of human caloric restriction: feasibility and effects on predictors of health span and longevity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*,70(9): 1097–1104
- Rochon J., Bales C.W., Ravussin E. et al. ; CALERIE Study Group. 2011. Design and conduct of the CALERIE study: comprehensive assessment of the long-term effects of reducing intake of energy. *J. Gerontol. A Biol Sci Med Sci.*, 66(1): 97–108
- Pipera M.D.W., Partridge L. 2018. *Drosophila* as a model for ageing. *BBA - Molecular Basis of Disease* 1864: 2707–2717
- Scott A.J., Ellison M., Sinclair A.D. 2021. The economic value of targeting aging. *Nature Aging*, 1: 616–623
- Sierra F., Hadley E., Suzman R., Hodes R. 2009. Prospects for life span extension. *Annu. Rev. Med.* 60: 457–469
- Swindell W.R. 2012. Dietary restriction in rats and mice: A meta-analysis and review of the evidence for genotype-dependent effects on lifespan. *Ageing Res Rev.*, 11(2): 254–270
- UMAR. 2017. Strategija dolgožive družbe. <https://www.umar.gov.si>
- van der Rijt S., Molenaars M., McIntyre MR., Janssens GE., Houtkooper R.H. 2020. Integrating the Hallmarks of Aging Throughout the Tree of Life: A Focus on Mitochondrial Dysfunction. *Front. Cell Dev. Biol.*, 8:594416
- Weindruch R., Walford R.I. 1988. Retardation of aging and disease by dietary restriction. Springfield, IL: Charles C Thomas Pub. Ltd
- Zhang S., Li F., Zhou T., Wang G., Li Z. 2020. *Caenorhabditis elegans* as a Useful Model for Studying Aging Mutations. *Front. Endocrinol.* 11: 554994

ADHEZIJA MIKROORGANIZMOV

Klemen BOHINC¹, Rajko VIDRIH² in Peter RASPOR³

Povzetek: Lastnosti materialov, ki se uporabljajo vzdolž živilsko prehranske verige imajo poleg ostalih zahtev tudi zahtevo po nizki adheziji za bakterije. Adhezija je predstopnja tvorbe biofilma in je odvisna od različnih fizikalno-kemijskih lastnosti površine materialov in celic mikroorganizmov. Najpomembnejše lastnosti mikroorganizmov za adhezijo vključujejo hidrofobnost in zeta potencial površine celice, ekstracelularne polimerne spojine, signalne molekule, pH vrednost, ionsko jakost, prisotnost soli ter relativna vlaga in temperatura. S strani materialov pa na adhezijo najbolj vplivajo hrapavost, hidrofobnost in zeta potencial. Nastanek biofilma predstavlja pomemben faktor tveganja, saj predstavlja odstranjevanje prisotnih biofilmov bakterij zahtevno operacijo dela.

Ključne besede: adhezija, bakterije, hrapavost, hidrofobnost, zeta potencial

ADHESION OF MICROORGANISMS

Abstract: The properties of materials used in the food industry, also require among other requirements, low adhesion to bacteria. Bacterial adhesion is a precursor of film formation and depends on the different physicochemical properties of the surface of materials and cells of microorganisms. The most important properties of microorganisms for adhesion include hydrophobicity and zeta potential of the cell surface, extracellular polymer compounds, signalling molecules, pH value, ionic strength, presence of salts, as well as relative humidity and temperature. On the part of materials, the adhesion is strongly influenced by roughness, hydrophobicity and zeta potential. Biofilm formation is the biggest risk factor, as the biofilm already present poses many more problems to remove bacteria. The properties of materials are more important for the adhesion of bacteria as compared to the properties of bacteria.

Key words: adhesion, bacteria, roughness, hydrophobicity, zeta potential

¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, e-mail: klemen.bohinc@zf.uni-lj.si

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: rajko.vidrih@bf.uni-lj.si

³ zaslužni profesor Univerze v Ljubljani e-mail: peter.raspor@guest.ames.si

1 UVOD

V živilskih obratih, restavracijah in kuhinjah prihaja hrana v stik z različnimi materiali. V predelovalnih obratih so ti materiali največkrat nerjavno jeklo, vse več pa je tudi sintetičnih materialov in ponovno lesa. Tudi v kuhinjah in restavracijah je največ materialov za pripravo in distribucijo hrane iz nerjavnega jekla, posoda pa je keramična. Materiali so površinsko različno obdelani zaradi vzdrževanja higiene, to je lažjega odstranjevanja ostankov hrane ter zmanjševanja adhezije bakterij. Adhezija bakterij, ki so lahko kvarljivci, lahko pa so tudi patogene je resen problem, saj je to predfaza tvorbe biofilmov. Adhezijo bakterij na površino je možno nadzorovati preko izbora materialov z določenimi fizikalno kemijskimi lastnostmi površin. Največji vpliv na adhezijo imajo hrapavost, hidrofobnost in naboj materialov. S strani bakterij odločilno vplivajo hidrofobnost, naboj in specifična struktura površine bakterij.

2 ADHEZIJA NA STEKLO

Adhezija bakterij je kompleksen proces, ki vključuje lastnosti bakterij, karakteristike površine in okoljske dejavnike. Fizikalno-kemijske lastnosti površine, kot so kemijska sestava površine, topografija, pH, hidrofobnost bakterij in površine ter zeta potencial vplivajo na adhezijo bakterij (Katsikogianni in Missirlis 2004, Di Bonaventura in sod., 2008).

Hrapavost steklene površine je bila odločilna pri adheziji bakterij *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) in *Escherichia coli* (*E. coli*), medtem ko je imel mejni kot površine le neznamenit vpliv (Bohinc in sod., 2014). Pri razponu hrapavosti stekla (0,07 μm - 5,8 μm) se učinkovita površina poveča za 30 %. Povečana adhezija na bolj grobi površini je kombinacija učinkovito večje površine in povečanega števila defektov na površini (Bohinc in sod., 2014). Večja hrapavost površine pomeni večjo razpoložljivo površino, ki daje na razpolago več aktivnih mest za adhezijo (Giraldez in sod., 2010).

Adhezija *P. aeruginosa* in *E. coli* na steklenih površinah naraste desetkrat, če hrapavost naraste od 0,07 μm do 5,8 μm , v primeru *S. Aureus* pa samo petkrat (Bohinc in sod., 2014). Bakterija *S. Aureus* je veliko bolj hidrofobna kot *P.aeruginosa* in *E. Coli*. Bolj hidrofobne bakterije se bolje adherirajo na bolj hidrofobno površino, vendar se hidrofobnost materiala smatra za bolj pomembno od hidrofobnosti bakterij. V manjši meri na adhezijo bakterij vpliva tudi naboj površin in bakterij (Bohinc in sod., 2014).

3 ADHEZIJA NA KOVINSKE POVRŠINE

Avtorji Bohinc in sod., (2016) so raziskovali vpliv obdelave površin nerjavčnega jekla (brušene, krtačene, elektropolirane, 3D polirane in neobdelane 304-3C) na stopnjo adhezije bakterij. 3-D polirane površine so imele hrapavost 25 nm, krtačene 72 nm, neobdelane 161 nm, brušene 986 nm in elektropolirane 369 nm. Mejni koti preiskovanih površin so bili med 70⁰ in 90⁰. Največji mejni kot so imele 3D polirane površine (90⁰), krtačene površine so imele najmanjši mejni kot 69⁰. Stopnja adhezije sledi hrapavosti. Najmanjša stopnja adhezije je bila na najbolj gladkih 3D površinah, največja pa na brušenih površinah. Povečana adhezija posledica hrapavosti, večje učinkovite površine in več defektov na površinah (Bohinc in sod., 2016). *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) in *P. aeruginosa* sta se na neobdelani in brušeni površini adherirala bolj od

ostalnih mikroorganizmov, najslabše pa *Bacillus cereus* (*B. cereus*) in *S. aureus*.

4 ADHEZIJA BAKTERIJ NA KUHINJSKE POVRŠINE

Mikroorganizmi na kuhinjskih površinah predstavljajo velik izziv za možno kontaminacijo hrane v smislu kvara hrane ali prenosa patogenih mikroorganizmov. Sposobnost adhezije mikroorganizmov je ena od strategij preživetja mikroorganizmov (Melo in sod., 2017) na površinah in je predstopnja za tvorbo biofilmov, v katerem se kolonije mikrobov zaščitijo z lastno proizvodnjo zunajceličnega matriksa (Khelissa in sod., 2017). Stopnja adhezije mikroorganizmov je odvisna od lastnosti površine (hidrofobnost, hrapavost, zeta potencial) in lastnosti celic mikroorganizmov (površinska hidrofobnost in zeta potencial celic, zunajcelične značilnosti, signalne molekule, pH, ionska jakost, temperatura, prisotnost soli, itd.) (Fink in sod., 2015).

Pri študiji adhezije *P. aeruginosa*, *E. coli* in *Campilobacter jejuni* (*C. jejuni*) na keramično in teflonsko površino kuhinjskega pulta so Zore in sod., (2020) pokazali, da je največja stopnja adhezije prisotna pri bakteriji *P. aeruginosa*, sledita *E. coli* in *C. jejuni*. Stopnja adhezije bakterij na teflonsko površino je bila manjša kot stopnja adhezije na keramično površino. Hrapavost obeh površin je bila relativno nizka, vendar je teflon imel 10 krat večjo hrapavost od keramične površine. Površina teflona je hidrofobna, medtem ko je keramična površina hidrofilna. Zeta potencial obeh površin je bil negativen, keramična površina je bolj negativna kot teflonska. Vsi trije mikroorganizmi so negativno nabiti. Hidrofobnost je imela odločilno vlogo pri adheziji. Statistično značilna negativna korelacija je bila ugotovljena med hidrofobnostjo in stopnjo adhezije *E. coli* in *C. jejuni*. Hidrofobne površine zavirajo tvorbo biofilmov (Carter in sod., 2016). V primeru bakterije *C. jejuni* ima hidrofobnost večji vpliv na preprečevanje adhezije kot pa zeta potencial (Nguyen in sod., 2011). Hidrofilne kuhinjske površine predstavljajo veliko večje tveganje za tvorbo biofilmov kot hidrofobne površine. V omenjenem primeru ima na stopnjo adhezije hrapavost manj pomembno vlogo (Zore in sod., 2020).

5 ZAKLJUČEK

V prispevku je predstavljena adhezija bakterij na različne materiale, ki prihajajo v stik z živili. Materiali so pomembni vzdolž celotne živilsko prehranske oskrbovalne verige. Materiali imajo različne karakteristike površine, ki vplivajo na adhezijo mikroorganizmov kvarljivcev in patogenih mikroorganizmov. Hrapavost velja za najvplivnejši faktor za adhezijo, za manj pomembna faktorja veljata hidrofobnost materiala in v manjši meri hidrofobnost bakterij. Hidrofobni materiali imajo boljše antiadhezivne lastnosti. Izbira prave kombinacija hrapavosti in hidrofobnosti da najboljše antiadhezivne lastnosti. Hrapavost, manjša od 800 nm deluje zaviralno na adhezijo bakterij in se smatra za bolj higiensko. Poleg omenjenih faktorjev vplivajo na adhezijo še zeta potencial površine materiala in zeta potencial bakterij.

V prihodnosti bi bilo potrebno narediti študijo stopnje adhezije še na preostalih vrstah kuhinjskih materialov ter razširiti izbor mikroragnizmov. Tak celovit pristop bi omogočal izbor najbolj optimalne kuhinjske površine

ZAHVALA: Iskra Pio d.o.o., projekt Obvladovanje mikrobne adhezije na kontaktnih površinah, ARRS, L1-4067 v letih od 2011 do 2014.

6 VIRI

- Bohinc K., Dražić G., Abram A., Jevšnik M., Jeršek B., Nipič D., Kurinčič M., Raspor P. J. I. J. o. A., Adhesives 2016. Metal surface characteristics dictate bacterial adhesion capacity. 68: 39-46
- Bohinc K., Dražić G., Fink R., Oder M., Jevšnik M., Nipič D., Godič-Torkar K., Raspor P. 2014. Available surface dictates microbial adhesion capacity. *International Journal of Adhesion and Adhesives* 50: 265-272
- Carter M. Q., Louie J. W., Feng D., Zhong W., Brandl M. T. 2016. Curli fimbriae are conditionally required in *Escherichia coli* O157:H7 for initial attachment and biofilm formation. *Food Microbiol* 57: 81-89
- Di Bonaventura G., Piccolomini R., Paludi D., D'Orto V., Vergara A., Conter M., Ianieri A. 2008. Influence of temperature on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on various food-contact surfaces: relationship with motility and cell surface hydrophobicity. *Journal of Applied Microbiology* 104: 1552-1561
- Fink R., Oder M., Rangus D., Raspor P., Bohinc K. 2015. Microbial adhesion capacity. Influence of shear and temperature stress. *International journal of environmental health research* 25: 1-14
- Giraldez M. J., Resua C. G., Lira M., Oliveira M. E., Magariños B., Toranzo A. E., Yebra-Pimentel E. 2010. Contact lens hydrophobicity and roughness effects on bacterial adhesion. *Optom Vis Sci* 87: E426-431
- Katsikogianni M., Missirlis Y. F. 2004. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater* 8: 37-57
- Khelissa S., Abdallah M., Jama C., Faille C., Chihib n. e. 2017. Bacterial contamination and biofilm formation on abiotic surfaces and strategies to overcome their persistence. *Journal of Materials and Environmental Science* 8: 3326-3346
- Melo R. T., Mendonça E. P., Monteiro G. P., Siqueira M. C., Pereira C. B., Peres P., Fernandez H., Rossi D. A. 2017. Intrinsic and Extrinsic Aspects on *Campylobacter jejuni* Biofilms. *Front Microbiol* 8: 1332
- Nguyen V. T., Turner M. S., Dykes G. A. 2011. Influence of cell surface hydrophobicity on attachment of *Campylobacter* to abiotic surfaces. *Food Microbiol* 28: 942-950
- Zore A., Bezek K., Jevšnik M., Abram A., Runko V., Slišković I., Raspor P., Kovačević D., Bohinc K. 2020. Bacterial adhesion rate on food grade ceramics and Teflon as kitchen worktop surfaces. *International Journal of Food Microbiology* 332: 108764

VLOGA KVASOVKE VRSTE *Kregervanrija fluxuum* PRI FERMENTACIJI JABOLČNEGA VINA

Neža ČADEŽ¹, Tatjana KOŠMERL²

Povzetek: Tradicionalni fermentirani izdelki ponovno pridobivajo na nekdanjem pomenu, čeprav je danes njihova priljubljenost podkovana z drugačnim razlogom kot nekdanj. Poleg zdravstvenih učinkov potrošnika privlači njihova kompleksnost okusov, ki je rezultat mikrobnega metabolizma. Tradicionalno, naravno fermentirano jabolčno vino pridelujejo iz starih sort jablan z uporabo lesene predelovalne opreme na razpršenih gorskih kmetijah Koroške regije. Namen dela je bil določiti vpliv avtohtonih sevov v obliki združene starterske kulture z ne-*Saccharomyces* kvasovko vrste *Kregervanrija fluxuum*, na kemijske in senzorične lastnosti jabolčnega vina. Izvedli smo več mikrofermentacijskih poskusov sterilnega jabolčnega soka s posamičnimi in združenimi kulturami kvasovk *Kregervanrija fluxuum*, *Saccharomyces uvarum*, *Dekkera bruxellensis* in mlečnokislinskih bakterij *Oenococcus oeni*. V združeni starterski kulturi se je takoj po doseženi stacionarni fazi število celic *K. fluxuum* začelo zmanjševati ter na koncu fermentacije je nismo več detektirali. Po končani fermentaciji smo z analizo WineScan določili kemijske parametre vina, z opisno senzorično analizo pa ovrednotili njihovo kakovost. Med fermentacijo jabolčnega soka *K. fluxuum* ni tvorila alkohola, vendar pa je prispevala k večji tvorbi glicerola, žal pa dodana posamična kultura *K. fluxuum* ni imela pozitivnega vpliva na senzorične lastnosti jabolčnega vina.

Ključne besede: jabolčno vino, cider, ne-*Saccharomyces* kvasovke, *Kregervanrija fluxuum*, kinetika fermentacij, kakovost

THE ROLE OF YEAST SPECIES *KREGERVANRIJA FLUXUUM* IN CIDER FERMENTATIONS

Abstract: Traditional fermented foods have regained on their importance although their current popularity has a different reason as before. Beside their impact on human health, they provide a complexity of flavours by microbial metabolic footprint. The artisanal cider produced from old apple varieties with wooden cellar equipment is one of few alcoholic beverages produced on dispersed mountain regions of Koroška region. The purpose of the work was to determine the influence of the autochthonous mixed starter cultures with non-*Saccharomyces* yeasts of the species *Kregervanrija fluxuum* on the chemical and sensory properties of apple wine. We carried out a series of microfermentation trials of sterile apple juice with mono- and co-cultures of *Kregervanrija fluxuum*, *Saccharomyces uvarum*, *Dekkera bruxellensis* and lactic acid bacteria *Oenococcus oeni*. In the case of pure culture, its number increased slightly during the course of apple juice fermentation. In mixed starter culture, immediately after the stationary phase was reached, the number of *K. fluxuum* cells began to decrease and at the end of the fermentation it was not detected. After fermentation, the chemical parameters of the wines were determined by the WineScan analysis and the wine quality was evaluated by the descriptive sensory analysis. During the fermentation of apple juice, *K. fluxuum* did not produce alcohol, but it contributed to a greater formation of glycerol. Unfortunately, the added pure culture *K. fluxuum* did not have a positive effect on the sensory properties of apple wine.

Key words: apple wine, cider, non-*Saccharomyces* yeasts, *Kregervanrija fluxuum*, fermentation kinetics, quality

¹ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: neza.cadez@bf.uni-lj.si

² prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: tatjana.kosmerl@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Alkoholna fermentacija in posamična starterska kultura *Saccharomyces cerevisiae* sta nerazdružljiva pojma. Sposobnost kvasovk *S. cerevisiae*, da tvorijo visoke koncentracije etanola in so hkrati nanj tolerantne, je odlična fenotipska lastnost, tako kot tudi nezmožnost tvorbe zdravju-škodljivih toksinov. To je le nekaj od številnih značilnosti, zaradi katerih je idealen fermentativni organizem. V nekaterih razmerah ali za določene specifične fermentacijske procese pa fiziološke meje te vrste omejujejo njeno uporabnost. Zato trenutno obstaja veliko zanimanje za nekonvencionalne kvasovke s posebnimi lastnostmi, ki ne spadajo v rod *Saccharomyces* in lahko nadomestijo ali spremljajo *S. cerevisiae* pri posebnih industrijskih fermentacijah (Steensels in sod., 2015).

Kvasovke rodov *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Saccharomyces* in *Zygosaccharomyces* veljajo za kvarljivke vin, saj so pogosto izolirane med upočasjenimi ali zaustavljenimi fermentacijami ali iz vin s senzoričnimi in/ali fizikalno-kemijskimi napakami ali boleznimi (Fernandez in sod., 2000). Poleg tega, da ne-*Saccharomyces* kvasovke lahko tvorijo velike količine etil acetata, so tudi zelo dobre tvorke drugih estrov, kot sta izoamil acetat (aroma po banani) in 2-feniletil acetat (sadna in cvetlična aroma), kar prispeva k sadni aromi vina (Ciani in sod., 2006; Moreira in sod., 2005; Rojas in sod., 2003). Z uporabo selekcioniranih »divjih« ne-*Saccharomyces* vrst kvasovk, selekcioniranih iz tradicionalnih izdelkov, lahko razvijemo obsežno paleto fermentirane hrane, ne da bi se izgubila njena unikatna aroma in specifične lastnosti (Sánchez in sod., 2010; Leroy in Vuyst, 2004).

Pri spontanah fermentacijah jabolčnega soka običajno sodeluje vsaj pet različnih vrst kvasovk in mlečnokislinskih bakterij (MKB). Mi smo tako želeli preveriti sodelovanje različnih mikroorganizmov, ki pozitivno vplivajo na kakovost jabolčnega vina in imajo potencial za združeno startersko kulturo. Predvsem pa smo želeli potrditi pozitiven prispevek kvasovk vrste *Kregervanrija fluxuum* na fizikalno-kemijske in senzorične lastnosti pridelanega jabolčnega vina, kot tradicionalnega proizvoda Koroške regije.

2 JABOLČNO VINO

2.1 POJEM IN DEFINICIJA JABOLČNEGA VINA

Jabolčno vino je svetovno popularna alkoholna pijača, narejena s spontano fermentacijo jabolčnega soka, pri čemer v nobeni fazi tehnološkega postopka ni bil dodan destilirani alkohol (AICV, 2018).

Lobo in sod. (2016) navajajo, da pojem jabolčno vino ali »cider« vključuje dva inovativna produkta, kot sta jabolčna vina z okusom (mešanica jabolk z jagodami, eksotičnim sadjem, kivijem, limeto...), ter domača jabolčna vina, ki so močno povezana z geografsko lego pridelave, izpopolnjena s tradicionalno dobro proizvodno prakso.

Izraz »cider« je sicer splošno sprejet kot pijača, narejena iz jabolk. V Severni Ameriki se pojem »cider« uporablja za moten nepasteriziran jabolčni sok, pojem »hard cider« pa se nanaša na fermentiran izdelek, narejen iz trpkih, kislih in jabolk ostrega okusa, ki ne smejo biti sladka

(Kelkar in Dolan, 2012).

2.2 PROIZVODNJA IN PORABA JABOLČNEGA VINA

Največja proizvodnja jabolčnega vina je v Evropi. Med največje proizvajalce se uvrščajo: Francija, Španija, Velika Britanija, ter izven Evrope, ZDA. Francija je največja proizvajalka jabolčnega vina na svetu. Znana je po penečih (gaziranih), lahkih jabolčnih vinih, pridelanih iz jabolk in hrušk ali iz lahkih jabolk, polnjenih v dizajniranih steklenicah za penine. V Španiji uporabljajo kompleksno aromo s kombinacijo zelenih jabolk, medu, sliv in vanilje. Pridelovalci v Veliki Britaniji uporabljajo tradicionalen postopek pridelave jabolčnega soka iz visoko kakovostnih jabolk ali iz jabolčnega koncentrata. Znani so po alkoholno močnejšem in temneje obarvanem »ciderju«. ZDA imajo pestro izbiro različnih stilov »cidera«, kategoriziranega v fermentirani jabolčni sok, hard cider ali sladek jabolčnik (ang. freshly expressed juice) (Specific gravity cider, 2019).

Poraba jabolčnega vina je v zadnjih letih v precejšnjem porastu (Antón-Díaz in sod., 2016). Globalno pa tržni potencial te pijače napoveduje, da bo do leta 2020 dosegel 12,9 milijarde dolarjev (Lobo in sod., 2016).

2.3 FERMENTACIJA JABOLČNEGA SOKA

Fermentacija jabolčnega soka ali mošta je zelo kompleksen mikrobiološki proces, ki vključuje razvoj številnih vrst kvasovk in bakterij (Valles in sod., 2007). Razvoj, dinamika in frekvenca pojavljanja različnih vrst kvasovk med fermentacijo pa določajo karakteristike okusa in arome izdelka (Suarez in sod., 2005). Zaporedje pojavljanja različnih vrst mikroorganizmov je univerzalen fenomen, opažen pri spontanah fermentacijah. Ta fenomen je odsev interakcij med mikroorganizmi, tekmovanja za intrinzične rastne faktorje, kot so hranila, in odpornost proti inhibitornim okoljskim pogojem, kot je visoka kislost. Mikroorganizmi posledično kažejo selektivno prednost v določenem obdobju kot dominantna populacija med fermentacijo (Sánchez in sod., 2010).

Že preliminarne študije o dinamiki kvasovk med fermentacijo navajajo, da ne-*Saccharomyces* kvasovke z nizkim fermentacijskim potencialom, kot so rodovi *Starmerella*, *Pichia*, *Hanseniaspora* in *Metschnikowia*, pretežno rastejo v prvih fazah fermentacije, avtohtone kvasovke rodu *Saccharomyces* z dobro toleranco na alkohol pa so dominantne v naslednjih fazah alkoholne fermentacije (Bedriñana in sod., 2010). Različni dejavniki, kot so geografska lokacija, klimatske razmere, sorte jabolk in tehnologija predelave jabolk, lahko vplivajo na diverzitetu prisotnih kvasovk v moštu (del Campo in sod., 2003). Dinamiko pojavljanja in rasti različnih vrst kvasovk med fermentacijo jabolčnega mošta so podrobneje proučili Morrissey in sod. (2004), sam fermentacijski proces pa so razdelili v tri fermentacijske faze: zgodnjo, srednjo in zadnjo.

Jabolčni mošt je podvržen številnim biokemijskim transformacijam, ki potekajo med fermentacijskem procesom (alkoholno in jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo) proizvodnje jabolčnega vina. Njihov nadzor je bistvenega pomena za doseganje visoke kakovosti (de la Roza in sod., 2003). Med alkoholno fermentacijo kvasovke pretvarjajo večino sladkorjev v

etanol in CO₂ (de la Roza in sod., 2003), istočasno pa potekajo številne druge reakcije, pri katerih se tvorijo različni sekundarni produkti. S senzoričnega stališča so med najpomembnejšimi sekundarnimi produkti organske kisline, višji alkoholi in estri (de la Roza in sod., 2003). Estri imajo značilen vpliv na aromo jabolčnega vina, čeprav so prisotni samo v majhnih koncentracijah. Večina estrov se tvori na začetku fermentacije, tekom in proti koncu fermentacije se njihova hitrost tvorbe zmanjša ali ostaja ista (de la Roza in sod., 2003). Na biosintezo estrov vplivajo: aeracija, temperatura fermentacije in zrelost sadja (de la Roza in sod., 2003).

Običajno po končani alkoholni fermentaciji sledi še jabolčno-mlečnokislinska fermentacija, ki se lahko začne tudi že med alkoholno fermentacijo (Henríquez-Aedo in sod., 2016). Poteka pretvorba L-jabolčne kisline v L-mlečno kislino in CO₂, ki jo vršijo mlečnokislinske bakterije (MKB). Jabolčno-mlečnokislinska fermentacija vpliva na treh različnih, vendar povezanih vidikih kakovosti vina: kislost, mikrobiološka stabilnost in senzorična kompleksnost vina (Volschenk in sod., 2006). MKB so prisotne na grozdju, v moštu in vinu, dominantni rodovi so *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* in *Oenococcus* (Lonvaud-Funel, 1995; Versari in sod., 1999). Garcia-Moruno in Munoz (2012) navajata, da je najbolj opazna vrsta med jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo *Oenococcus oeni*, ki naj bi bila zmožna preživetja in rasti tudi v neugodnih okoljskih razmerah v vinu, kot je nizek pH (okrog 3,5), večja vsebnost alkohola (14 vol. %), večja koncentracija SO₂ (50-80 mg/L) in nizke temperature (18-20 °C) (Versari in sod., 1999).

2.4 PRISPEVEK NE-SACCHAROMYCES KVASOVK K FERMENTACIJI

Kvasovke rodu *Saccharomyces* se pogosto uporabljajo v fermentacijah različnih živilih, na primer v vinarstvu, pivovarstvu ali pekarstvu. V preteklosti, zlasti v 19 stoletju so se uporabljali kot posamične starterske kulture v živilskih fermentacijah, danes pa tradicionalne metode živilskih fermentacij vse pogosteje vključujejo združene starterske kulture *Saccharomyces* in ne-*Saccharomyces* kvasovk (Gamero in sod., 2016).

Ne-*Saccharomyces* kvasovke, ki jim v literaturi pravijo tudi nekonvencionalne kvasovke, vključujejo širok spekter različnih rodov ne-*Saccharomyces* kvasovk. V preteklosti so jih smatrali kot nezaželene oziroma kvarljivce, danes igrajo pomembno vlogo v tvorbi sestave in aromatičnega profila vin in alkoholnih pijač. Prve študije o nekonvencionalnih kvasovk opisujejo njihovo vlogo v spontanah fermentacijah in njihovo sposobnost vpliva na različne okuse. Zadnje študije razkrivajo vlogo ne-*Saccharomyces* kvasovk v kontrolirani fermentaciji, v ko-fermentaciji z izbranimi *Saccharomyces* kvasovkami, predvsem v vinu. Omenjajo tudi pozitiven vpliv na kakovost drugih pijač, kot so pivo, sadna vina in žgane pijače zanimiva je tudi omenjena aplikacija ne-*Saccharomyces* kvasovk kot orodje za zmanjšanje potencialne vsebnosti etanola v vinih (Gschaedler, 2017).

Nekonvencionalne kvasovke se danes uporabljajo predvsem kot sredstvo za izboljšanje senzorične kompleksnosti in aromatskega profila vina. Združene starterske kulture se uporabljajo za izboljšanje primarne in sekundarne arome vina (Gschaedler, 2017). Drug, zelo zanimiv vidik uporabe ne-*Saccharomyces* kvasovk, je za zmanjšanje vsebnosti etanola v vinih.

Contreras in sod. (2015) navajajo, da je *Metschnikowia pulcherrima* zmožna zmanjšanja vsebnosti etanola za 0,9-1,6 vol. %, če jo uporabijo v zaporednih inokulacijah, ter z še znatno večjim zmanjšanjem etanola, če je uporabljena kot združena starterska kultura s *Saccharomyces uvarum* (Contreras in sod., 2014).

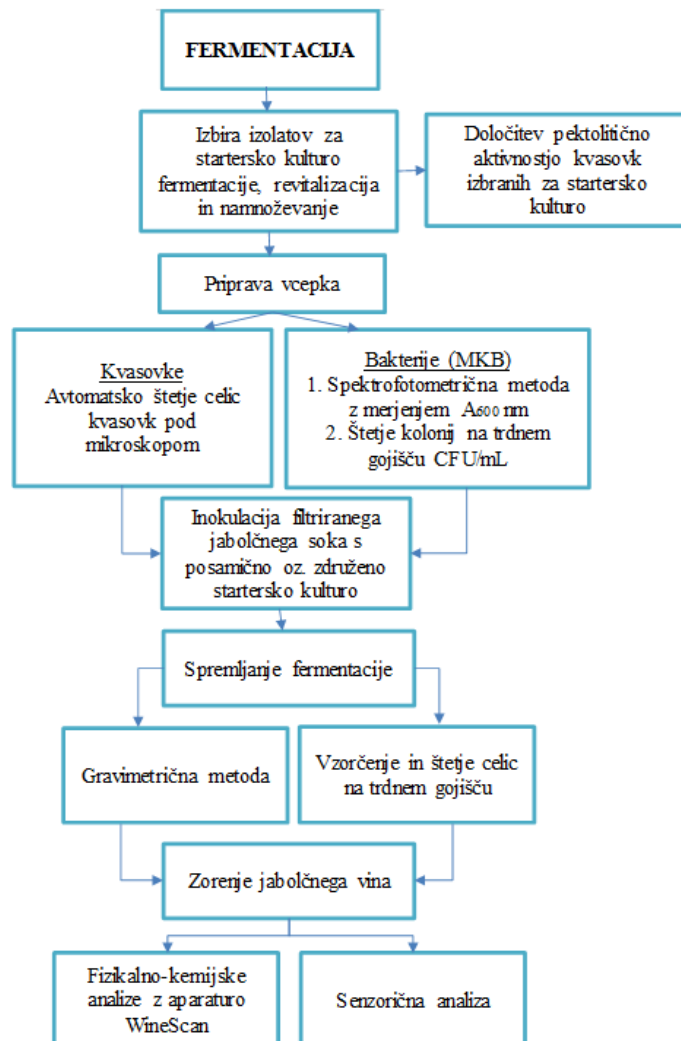
2.5 UPORABNOST NEKONVEKIONALNE KVASOVKE *KREGERVANRIJA FLUXUUM*

Gamero in sod. (2016) so v obsežno raziskavo vključili 143 vrst ne-*Saccharomyces* kvasovk, ki so jih primerjali s *Saccharomyces cerevisiae* glede tvorbe aromatskih spojin med fermentacijo. V študiji je bila obravnavana tudi *Kregervanrija fluxuum*, ki so jo izolirali iz sadja. Glede na tvorbo aromatskih spojin se je omenjena vrsta uvrstila med zgornjih 10 % kvasovk. V primerjavi z referenčnim sevom *S. cerevisiae*, je *K. fluxuum* tvorila statistično značilno večje količine izoamil in izobutil alkohola ter etil kaproata, izstopala pa je tudi po vsebnostih etil butirata in etil izovalerata. Vseh pet omenjenih estrov je opisanih v fermentiranih izdelkih kot prijetno sadni, po ananasu in/ali po jabolkih, hruškah (Gamero in sod., 2006).

Pri proučevanju odpornosti na SO₂, tvorbi H₂S, in encimske aktivnosti (esterazne, glukozidazne, proteazne in »killer« aktivnost) so Domizio in sod. (2011) analizirali 55 ne-*Saccharomyces* kvasovk, ki pripadajo 16 različnim vrstam rodov *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Saccharomycodes* in *Zygosaccharomyces*, ki so pokazale biotsko raznovrstnost tako med rodovi kot znotraj samega rodu. Oba seva *K. fluxuum* nista imela β-glukozidazne aktivnosti, tvorila sta veliko H₂S, pokazala nizko esterazno aktivnostjo, medtem ko proteazne aktivnosti nista imela. Od enoloških parametrov sta v skladu s pričakovanju seva *K. fluxuum* tvorila zelo malo etanola (0,87±0,10 oz. 0,10±0,00 vol. %), vendar pa veliko hlapnih kislin. Etil acetat in acetaldehid, ki sta velikokrat povezana z neprijetnim priokusom, sta bila prisotna v veliki koncentraciji v vinu. Kvasovke rodu *Pichia* so pokazale najmanjšo tvorbo acetaldehida, in sicer *K. fluxuum* le 3,85 oz. 2,09 mg/L. Ne-*Saccharomyces* kvasovkah so tvorile večje koncentracije polisaharidov v primerjavi s *S. cerevisiae*, in ravno kvasovke rodu *Pichia* (*Kregervanrija*) in *Saccharomycodes* so pokazale največjo sposobnost tvorbe polisaharidov, ki izboljšajo polnost in aromatičnost vin (Domizio in sod., 2011).

3 MATERIAL IN METODE DELA

Eksperimentalni del je obsegal spremljanje kinetike fermentacije sterilnega jabolčnega soka, fizikalno-kemijske analize in ovrednotenje senzorične kakovosti vzorcev pridelanega jabolčnega vina. Shema (Slika 1) prikazuje celoten potek raziskovalnega dela.



Slika 1: Shema eksperimentalnega dela

3.1 PRIPRAVA SUBSTRATA ZA FERMENTACIJO

Substrat – jabolčni sok smo prefiltrirali skozi predfilter in potem skozi 0,45 µL filter, s čimer smo zagotovili mikrobiološko neoporečnost soka. To smo tudi testirali tako, da smo 100 µL prefiltriranega soka nacepili na gojišče YPD in 1 mL prefiltriranega soka dodali tekočemu gojišču YPD. Gojišča smo inkubirali pri 28 °C, 2-3 dni, tekoče gojišče smo tudi dali na stresalnik (220 rpm). Prefiltriran jabolčni sok smo razdelili v 11 centrifugirk po 45 mL, pri čemer smo eno falkonko takoj zmrznili (negativna kontrola).

3.2 PRIPRAVA VCEPKA

Priprava vcepka za fermentacijo je zajemala več faz. Po uspešnem namnoževanju kvasovk v tekočem gojišču YPD smo žive celice prešteli neposredno pod mikroskopom. Število mlečnokislinskih bakterij v tekočem gojišču MRS s paradižnikovo mezgo pa smo določili kot korelacijo med podatki o izmerjeni absorbanci (A) pri 600 nm tik pred inokulacijo in podatki o A₆₀₀ in CFU/mL, ki smo jih predhodno določili.

3.3 NASTAVITEV FERMENTACIJE JABOLČNEGA SOKA

Motna tekoča gojišča smo prelili v centrifugirke po 40 mL in centrifugirali pri 3000 g 5 minut. Supernatant smo zavrgli, ter v centrifugirke dodali po 10 mL fiziološke raztopine (FR) in premešali z obračanjem. Zopet smo centrifugirali pri 3000 g 5 minut, in supernatant zavrgli, s tem smo sprali ostanke gojišča. Pelet smo resuspendirali v 10 oz. 5 mL FR, odvisno od velikosti peleta. Število kvasovk v vzorcu smo določili s štetjem pod mikroskopom, število mlečnokislinskih bakterij pa z merjenjem OD₆₀₀ (na dan inokulacije) v korelaciji s podatki o OD₆₀₀ in CFU/mL, izmerjenimi oz. izračunanimi 2-3 dni pred inokulacijo.

Izračunani volumen inokuluma smo aseptično dodali sterilnemu jabolčnemu soku v centrifugirkah. Delali smo v treh ponovitvah, tako za posamično kot za združeno startersko kulturo. Za vsako fermentacijo smo imeli tudi kontrolo, kar je predstavljal sterilni jabolčni sok v centrifugirki, ki je bil tretiran kot vzorec inokuliranega jabolčnega soka ter negativno kontrolo, kar je predstavljal sterilni jabolčni sok zamrznjen ob začetku fermentacije. Po inokulaciji smo v vzorce dodali magnetke, z namenom omogočiti konstantno mešanje med fermentacijo in s tem preprečiti usedanje biomase, jih tesno oblepili s parafilmom ter jim nastavili vrelnе vehe (da lahko nastali CO₂ pri fermentaciji izhaja). Vzorce smo odnesli v tehnološki prostor, kjer smo jih dali na magnetno mešalo. Fermentacija je potekala 16-17 dni, pri 15 °C.

3.4 SPREMLJANJE FERMENTACIJE IN ZORENJE

Fermentacijo smo spremljali z dvema metodama, in sicer gravimetrično ter s štetjem kolonij na trdnem gojišču.

- Gravimetrična metoda: potek fermentacije smo spremljali z gravimetrično metodo. S tehtanjem na analitski tehtnici smo spremljali izgubo mase, na račun sproščenega CO₂.
- Vzorčenje in štetje kolonij na trdnem gojišču: Potek fermentacije smo spremljali tudi tako, da smo vzorčili v določenih točkah fermentacije in nacepili na ustrezna gojišča, s tem smo spremljali rasti in razmerje med različnimi vrstami kvasovk in bakterijami. Vzročili smo v točkah 0, 24, 117 in 294 ur. Za spremljanje rasti in razmerja med kvasovkami smo uporabili gojišče WL, za bakterije pa gojišče MRS s paradižnikovo mezgo. Inkubacija je potekala 2-3 dni, pri 28 °C, aerobno (gojišče WL) oz. anaerobno (gojišče MRS). Prešteli smo kolonije in rezultat podali kot CFU/mL vzorca.

Po končani fermentaciji je potekalo 3-tedensko zorenje vzorcev jabolčnega vina pri temperaturi 15 °C.

3.5 KEMIJSKE ANALIZE IN OPISNA SENZORIČNA ANALIZA

Kemijske analize vzorcev jabolčnega vina smo opravili v akreditiranem laboratoriju na Kmetijsko gozdarskem zavodu v Novi Gorici (KGZ NG), s pomočjo aparature WineScan Foss. Vzorce po končani fermentaciji smo scentrifugirali in prelili v centrifugirke po 14 mL. Sledila je analiza na KGZ NG, pridobili pa smo rezultate naslednjih parametrov: vsebnosti alkohola,

reducirajočih sladkorjev, skupnega ekstrakta, skupnih in hlapnih kislin, pH, glicerola ter vsebnosti posameznih organskih kislin v vzorcih jabolčnega vina.

Tudi senzorično analizo vzorcev jabolčnih vin smo opravili na KGZ NG s 5-članskim panelom pooblaščenih senzoričnih preskuševalcev, ki so ocenjevali videz (bistrost in barvo), vonj, okus in harmonijo jabolčnega vina.

4 REZULTATI

V sklopu fermentacijskih poskusov smo poskušali oponašati spontano fermentacijo jabolčnega vina tako, da smo kot startersko kulturo uporabili kvasovke rodu *Saccharomyces*, *Dekkera* in za nas najbolj zanimivo kvasovko *K. fluxuum*, ki naj bi opravile alkoholno fermentacijo, ter dodali še mlečnokislinske bakterije (MKB) rodu *Oenococcus*, ki naj bi opravile jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo. Tako smo dejansko uporabili združene starterske kulture, vse v razmerju 1:1:1:1 (*S. uvarum*, *K. fluxuum*, *D. bruxellensis* in *O. oeni*) oziroma 1:1:1 (*S. uvarum*, *K. fluxuum* in *O. oeni*, ter kombinacijo *S. uvarum*, *D. bruxellensis* in *O. oeni*).



Slika 2: Vizualni prikaz fermentacij jabolčnih vin po 24 ur alkoholne fermentacije

Vse fermentacije (Slika 2) smo izvedli v treh paralelkah, kot negativno kontrolo smo uporabili neinokuliran sterilni jabolčni sok.

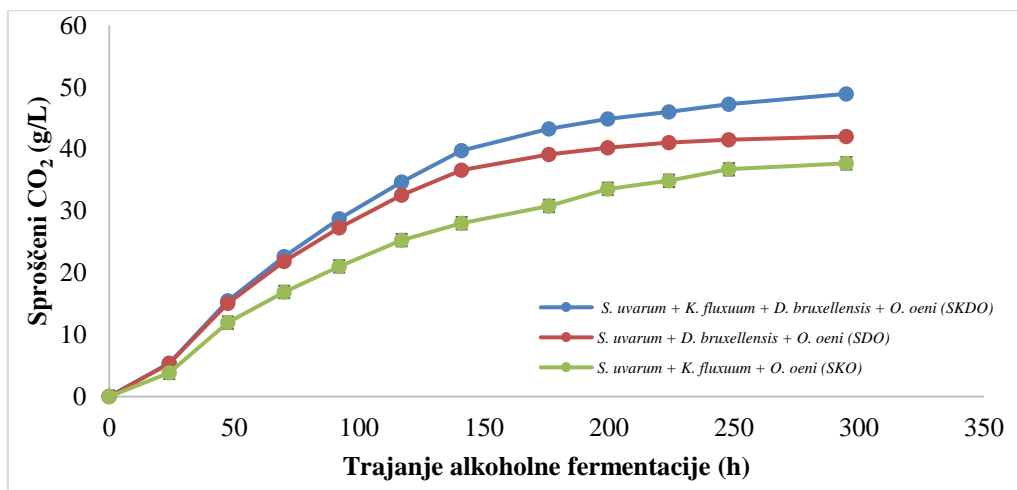
4.1 REZULTATI KINETIKE FERMENTACIJ

Slika 3 prikazuje sproščanje CO₂ med alkoholno fermentacijo sterilnega filtriranega jabolčnega soka. Iz grafa je razvidno, da je lag faza oziroma faza prilagajanja kvasovk zelo kratka, ter da se AF začne hitro. Kinetiki fermentacij združenih kultur *Saccharomyces uvarum*, *K. fluxuum*, *D. bruxellensis*, *O. oeni* (SKDO) in *S. uvarum*, *D. bruxellensis*, *O. oeni* (SDO) sta na začetku identični, vendar se na sredini log faze njuni krivulji ločita oziroma se stacionarna faza začne bolj zgodaj pri fermentaciji SDO. AF pri združeni kulturi *S. uvarum*, *K. fluxuum*, *O. oeni* (SKO) je manj intenzivna, saj je manj sproščene CO₂, faza prilagajanja je malenkost daljša, eksponentna faza je potekla počasneje v primerjavi z ostalima dvema fermentacijama. Alkoholna fermentacija se je zaključila po 250 urah.

V prisotnosti vseh treh vrst kvasovk in *O. oeni* se AF začne najhitreje ter je največ sproščene CO₂. V odsotnosti *K. fluxuum* se AF začne enako hitro in učinkovito, vendar je manj

sproščenega CO₂, saj stacionarna faza nastopi nekoliko prej. V odsotnosti *D. bruxellensis* se AF začne kasneje in je bistveno manj sproščenega CO₂.

V drugem sklopu fermentacij smo poskusili oponašati spontano fermentacijo jabolčnega vina tako, da smo kot startersko kulturo uporabili kvasovke *Saccharomyces*, *Dekkera* in vrsto *K. fluxuum*, ki naj bi opravile alkoholno fermentacijo, ter dodali še MKB rodu *Oenococcus*, ki naj bi opravile jabolčno-mlečnokislinsko fermentacijo.



Slika 3: Kinetika fermentacije jabolčnega soka, inokuliranega z združenimi kulturami *Saccharomyces uvarum*, *Kregervanrija fluxuum*, *Dekkera bruxellensis* in *Oenococcus oeni* v treh paralelakah

4.2 REZULTATI DINAMIKE RASTI KVASOVK

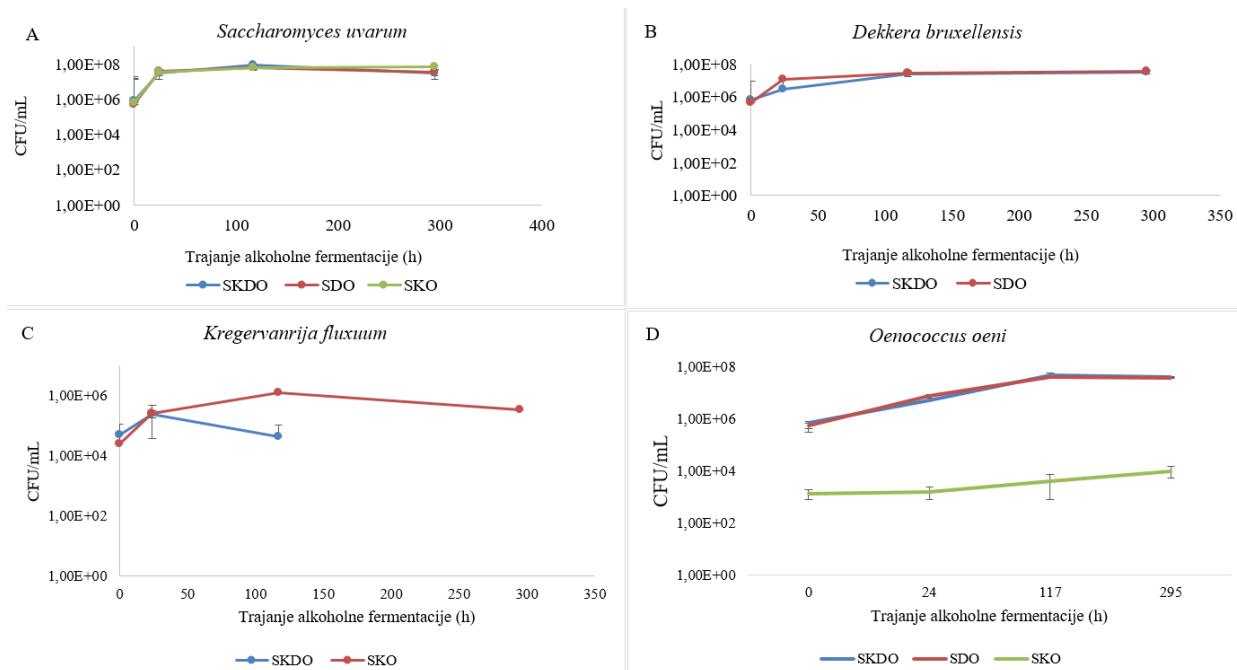
Z metodo določanja kolonijskih enot na različnih trdnih gojiščih smo spremljali rast kvasovk in bakterij med fermentacijo jabolčnega vina. Rast kvasovke *S. uvarum* je podobna pri vseh fermentacijah (Slika 4A), zato sklepamo, da na rast kvasovke *S. uvarum* ne vplivajo kvasovke *K. fluxuum*, *D. bruxellensis* in mlečnokislinske bakterije *O. oeni*. Opazna je zelo kratka lag faza (okoli 5 ur) kvasovke *S. uvarum*, na kar ji sledi eksponentna faza rasti. Po približno 25 ur fermentacije se začne stacionarna faza, kar pomeni, da kvasovke *S. uvarum* ne rastejo več.

Slika 4B prikazuje, da je *D. bruxellensis* dosegla večje koncentracije, če ni bilo prisotne kvasovke *K. fluxuum*. V fermentacijah SKDO, v katere smo dodali vse tri kvasovke in bakterijo *O. oeni*, ima *D. bruxellensis* daljšo fazo prilagajanja in faza eksponentne rasti ni tako intenzivna, kot pri fermentacijah SDO, v katere nismo dodali kvasovke *K. fluxuum*. V slednji faza prilagajanja ni prisotna, takoj se začne faza rasti kvasovke *D. bruxellensis* in število celic stalno narašča, vse do 117. ure fermentacije, ko se je začela stacionarna faza, saj je število celic ostalo enako. Kvasovka *K. fluxuum* je v prisotnosti kvasovk *S. uvarum*, *D. bruxellensis* in bakterij *O. oeni*, rastle le prvih 24 ur od začetku fermentacije (vidna eksponentna faza), potem se je že začela faza odmiranja in število živih kvasovk je strmo padlo v prvih 100 urah fermentacije. Nazadnje smo jo detektirali pri 117 ur fermentacije. Ob koncu alkoholne fermentacije (t=300 ur) kvasovke *K. fluxuum* ni bilo oziroma je njeno število padlo pod mejo detekcije.

Pri fermentacijah, v katere smo dodali kvasovke *K. fluxuum*, *S. uvarum* in bakterije *O. oeni* (SKO) je opazna večja rast kvasovk *K. fluxuum*. Zelo strma krivulja navzgor nakazuje

povečanje koncentracije kvasovk do 117 ur fermentacije, vendar je takoj zatem tudi strma krivulja navzdol, kar kaže na odmiranje/zmanjšanje celic *K. fluxuum*. Kvasovka *K. fluxuum* je prisotna tudi na koncu alkoholne fermentacije samo pri fermentacijah brez kvasovke *D. bruxellensis* (Slika 4C).

Bakterije *O. oeni* rastejo slabše v prisotnosti kvasovke *K. fluxuum* oziroma v odsotnosti kvasovke *D. bruxellensis* (Slika 4D). V obeh fermentacijah (kombinaciji *S. uvarum*+*K. fluxuum*+*D. bruxellensis* in *S. uvarum*+*D. bruxellensis*) je rast bakterij *O. oeni* primerljiva.



Slika 4: Dinamika rasti kvasovke *Saccharomyces uvarum* (A), kvasovke *Dekkera bruxellensis* (B), kvasovke *Kregervanrija fluxuum* (C) in bakterije *Oenococcus oeni* (D) med fermentacijo jabolčnega vina

Legenda: SKDO: *S. uvarum* + *K. fluxuum* + *D. bruxellensis* + *O. oeni*; SDO: *S. uvarum* + *D. bruxellensis* + *O. oeni*; SKO: *S. uvarum* + *K. fluxuum* + *O. oeni*

4.3 REZULTATI KEMIJSKE ANALIZE

Preglednica 1 prikazuje rezultate fizikalno-kemijskih parametrov za vzorce drugega sklopa fermentacij. V preglednici so izračunana povprečja treh paralelk vsakega vzorca in standardni odklon (SD). Vsebnost alkohola fermentiranih jabolčnih vin se je gibala med 4,95-5,25 vol. %, kar je za jabolčna vina običajna vsebnost alkohola od 4,5 do 7,0 vol. % (Qin in sod., 2018). Največ alkohola je vsebovalo jabolčno vino fermentirano s SKO in najmanj s SKDO, ki je temu ustrezno vsebovalo tudi največ reducirajočih sladkorjev (RS). Vrednosti RS ustrezajo Pravilniku o pogojih ... (2004) oz. ne presegajo več kot 9 g/L za suha vina, medtem ko jabolčno vino SKDO vsebuje največ CO₂ (487,00 mg/L).

Koncentracija suhega skupnega ekstrakta je bila med fermentacijami zelo podobna in se je gibala med 25,34-26,16 g/L. Jabolčno vino SKDO je imelo največjo in jabolčno vino SDO najmanjšo vsebnost SSE. Vrednosti pepela jabolčnega vina SKDO in SDO sta praktično isti (2,43 oz. 2,42 g/L), jabolčno vino SKO je imelo večjo vrednost pepela, in sicer 2,51 g/L.

Pravilnik o pogojih ... (2004) določa, da naj bi bila koncentracija glicerola v vinu najmanj 4 g/L, kar pomeni, da so naše fermentacije dosegle kriterije, saj so vrednosti od 6,82 do 7,07 g/L, največjo vsebnostjo je imelo jabolčno vino SKO in najmanjšo SDO. Vrednosti metanola jabolčnega vina SKO in SDO ustrezajo kriteriju Pravilniku o pogojih ... (2004), ki omejuje vsebnost metanola v belem in rose vinu na manj kot 150 mg/L, medtem ko je imelo jabolčno vino SKDO povečano vrednost metanola (0,16 g/L). Po omejitvah Mednarodne organizacije za trto in vino (OIV) ta vsebnost ni prekoračena, saj je vsebnost metanola omejena na 250 mg/L za bela in rose oziroma na 400 mg/L za rdeča vina (OIV, 2015). Jabolčna vina SDO in SKO imata podoben FC indeks (24,55 oz. 24,77), medtem ko je imelo jabolčno vino SKDO manjšo vrednost (21,59). FC indeks podaja oceno o vsebnosti fenolov v vzorcu.

Vrednosti pH jabolčnih vin so se gibale med 3,20-3,22, kar sodi v normalne meja vrednosti pH v jabolčnem vinu (2,91-3,89) glede na Qin in sod. (2018). Največjo vsebnost skupnih kislin je imelo jabolčno vino fermentacija SKDO (10,41 g/L), medtem ko sta imela ostala dva vzorca jabolčnih vin malenkost manjšo vsebnost SK, vendar več kot 3,5 g/L, kar predpisuje kot minimum Pravilnik o pogojih ... (2004) za mirna vina. Koncentracija hlapnih kislin v vseh treh fermentacijah ustreza pogojem Pravilnika o pogojih ... (2004), torej za bela vina manj kot 1,0 g/L, izraženo kot očetna kislina. Jabolčno vino SKO je vsebovalo največ vinske in jabolčne kisline (2,80 oz. 6,94 g/L), medtem ko ju je jabolčno vino SKDO vsebovalo najmanj (2,60 oz. 6,70 g/L). Največjo vsebnost citronske kisline je vsebovalo jabolčno vino SKDO (0,43 g/L).

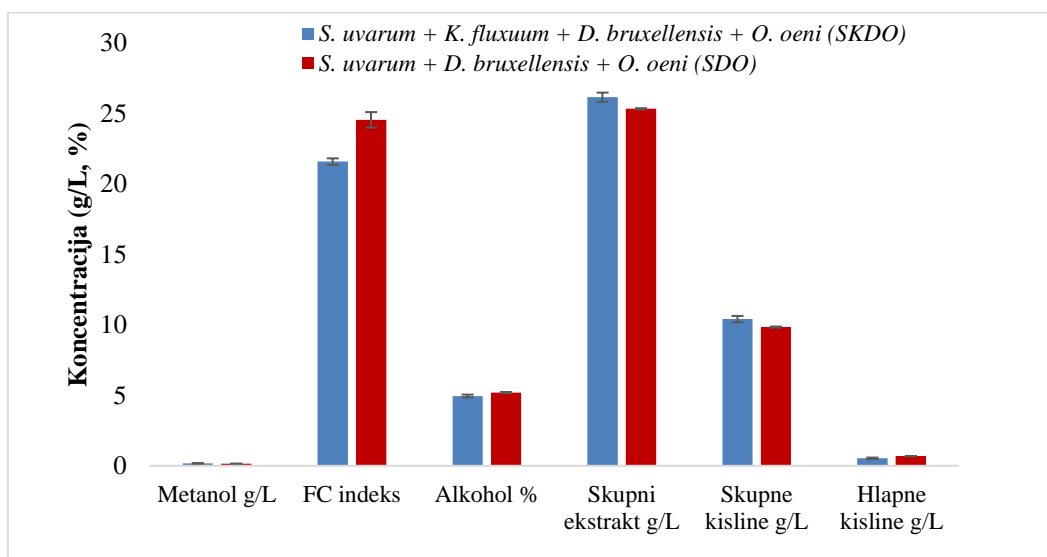
Preglednica 1: Fizikalno-kemijski parametri vzorcev jabolčnega vina fermentiranega z združenimi kulturami *Kregervanrija fluxuum*, *Saccharomyces uvarum*, *Dekkera bruxellensis* in *Oenococcus oeni*

Parameter	Enota	Fermentacije		
		SKDO	SDO	SKO
CK	g/L	0,43 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,42 ± 0,0
VK	g/L	2,6 ± 0,08	2,70 ± 0,16	2,80 ± 0,14
GLIC	g/L	6,88 ± 0,11	6,82 ± 0,10	7,07 ± 0,02
MeOH	g/L	0,16 ± 0,0	0,14 ± 0,0	0,14 ± 0,0
FC indeks	/	21,59 ± 0,23	24,55 ± 0,55	24,77 ± 0,41
ALK	vol. %	4,95 ± 0,10	5,20 ± 0,01	5,25 ± 0,03
SSE	g/L	26,16 ± 0,33	25,34 ± 0,04	25,88 ± 0,08
RS	g/L	2,72 ± 0,11	2,60 ± 0,08	2,61 ± 0,02
SK	g/L	10,41 ± 0,23	9,84 ± 0,04	9,95 ± 0,09
HK	g/L	0,54 ± 0,05	0,69 ± 0,0	0,66 ± 0,02
pH	/	3,20 ± 0,01	3,22 ± 0,0	3,21 ± 0,0
Pepel	g/L	2,43 ± 0,04	2,42 ± 0,03	2,51 ± 0,02
JK	g/L	6,70 ± 0,14	6,78 ± 0,02	6,94 ± 0,11
CO ₂	mg/L	487 ± 72,2	414,67 ± 0,94	461,67 ± 45,51

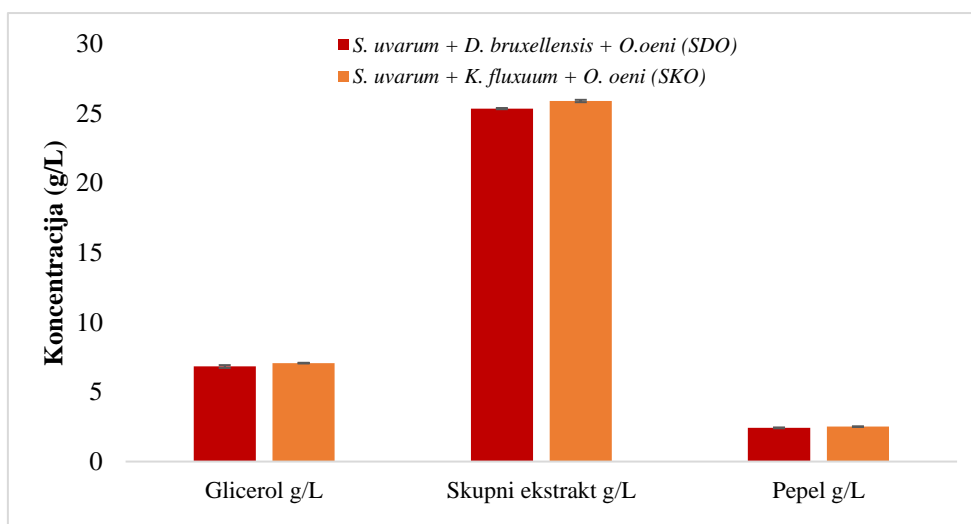
Legenda: SKDO: *S. uvarum* + *K. fluxuum* + *D. bruxellensis* + *O. oeni*; SDO: *S. uvarum* + *D. bruxellensis* + *O. oeni*; SKO: *S. uvarum* + *K. fluxuum* + *O. oeni*; citronska kislina (CK), vinska kislina (VK), glicerol (GLIC), metanol (MeOH), ocena vsebnosti fenolov (FC indeks), alkohol (ALK), skupni suhi ekstrakt (SSE), reducirajoči sladkorji (RS), skupne kisline (SK), hlapne kisline (HK), jabolčna kislina (JK), topni oziroma raztopljen (CO₂)

4.4 VPLIV VRSTE *KREGERVANRIJA FLUXUUM* NA KEMIJSKE PARAMETRE JABOLČNEGA VINA FERMENTIRANEGA Z ZDRUŽENO STARTERSKO KULTURO

Kvasovka *Kregervanrija fluxuum* v primeru združene starterske kulture prispeva k večji koncentraciji glicerola, metanola, skupnih kislin in skupnega suhega ekstrakta ter k nižjemu FC indeksu jabolčnega vina. Prispeva pa tudi k manjši koncentraciji alkohola in hlapnih kislin (Sliki 5 in 6).



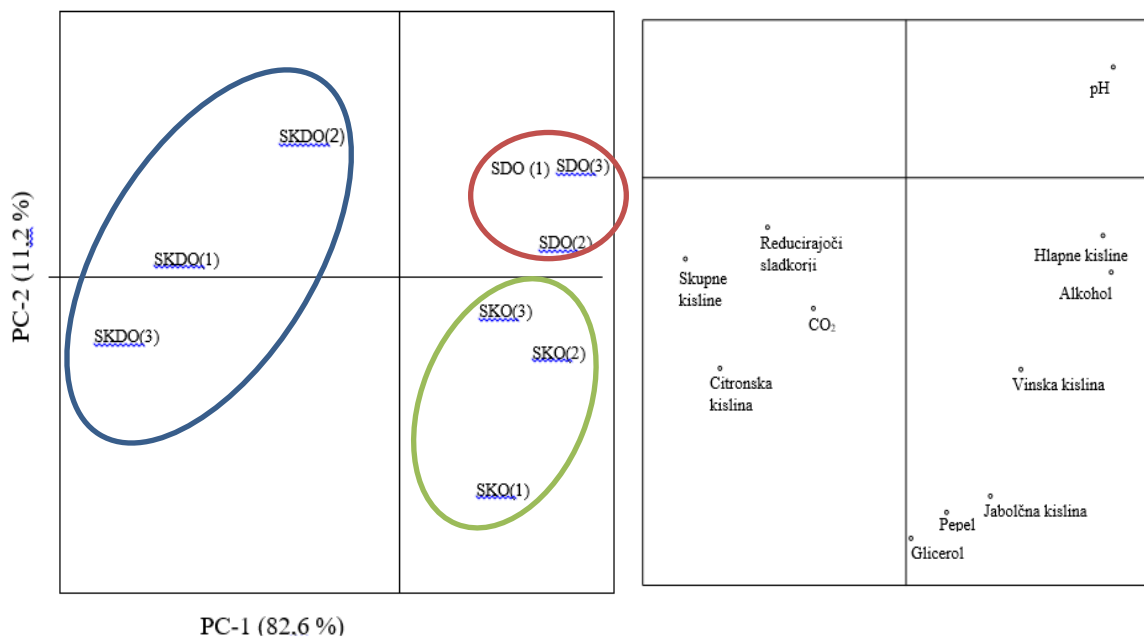
Slika 5: Statistično značilne razlike v koncentracijah metanola, alkohola, FC indeksa, skupnega suhega ekstrakta, skupnih kislin in hlapnih kislin v vzorcih jabolčnih vin fermentiranih z ali brez *Kregervanrija fluxuum* v združeni starterski kulturi



Slika 6: Statistično značilne razlike v koncentracijah glicerola, skupnega ekstrakta in pepela v vzorcih jabolčnih vin fermentiranih z ali brez *Kregervanrija fluxuum* v združeni starterski kulturi

4.5 ANALIZA GLAVNIH KOMPONENT

Analizo glavnih komponent (PCA) smo naredili vzorcem zadnjega oz. tretjega sklopa fermentacij. Glede na sliko 7 se ponovitve vzorcev lepo korelirajo, z izjemo vzorca SKDO (2), ki le malo odstopa od ostalih dveh ponovitev. Fermentacija SKDO se od fermentacij SDO in SKO razlikuje po vsebnosti reducirajočih sladkorjev, citronske kisline, skupnih kislin in CO₂. PC-1 razloži 82,6 % variance, PC-2 razloži 11,2 % variance (Slika 7).



Slika 7: Analiza glavnih komponent (PCA) fizikalno-kemijskih parametrov jabolčnih vin fermentiranih z različnimi kombinacijami vrst kvasovk in MKB

Legenda: SKDO – *Saccharomyces uvarum* + *Kregervanrija fluxuum* + *Dekkera bruxellensis* + *Oenococcus oeni*, SKO – *Saccharomyces uvarum* + *Kregervanrija fluxuum* + *Oenococcus oeni*, SDO – *Saccharomyces uvarum* + *Dekkera bruxellensis* + *Oenococcus oeni*

4.6 REZULTATI OPISNE SENZORIČNE ANALIZE

Vzorci jabolčnega vina z dodano posamično startersko kulturo *S. uvarum* so bili ocenjeni kot svetlejši (lepši videz), z lepimi, sveže-cvetnimi notami, vendar po okusu kot grenki. Vzorci jabolčnega vina z dodano posamično startersko kulturo *K. fluxuum* so bili ocenjeni kot edini s čistim H₂S, v ozadju je bil zaznan vonj po hlevu, vendar po okusu kot sladki. Vzorci jabolčnega vina z dodano združeno startersko kulturo *S. uvarum* in *K. fluxuum* so bili ocenjeni kot trpki in prazni, z ostrim vonjem po mokrih krpah, okus še najbolj prijeten. Vzorci jabolčnega vina z dodano združeno startersko kulturo *S. uvarum*, *K. fluxuum*, *D. bruxellensis* in *O. oeni* so bili ocenjeni kot oksidirani, grenki ter z vonjem po hlevu. Vzorci jabolčnega vina z dodano združeno startersko kulturo *S. uvarum*, *D. bruxellensis* in *O. oeni* so imeli še bolj intenziven vonj po hlevu, v vonju oksidacija ni zaznavna, je pa v barvi. Vzorci jabolčnega vina z dodano združeno startersko kulturo *S. uvarum*, *K. fluxuum* in *O. oeni* so bili ocenjeni kot manj grenki, s plesnivo noto (po gorgonzoli) ter z izstopajočo kislino.

5 ZAKLJUČEK

V spontani fermentaciji jabolčnega vina sodeluje mešanica vrst kvasovk in bakterij, o katerih določene lahko pozitivno vplivajo na kakovost jabolčnega vina in imajo potencial za združeno startersko kulturo. Kvasovke vrste *Kregervanrija fluxuum* so nefermentativne, vendar med fermentacijo tvorijo veliko glicerola. V primeru posamične kulture tvorijo tudi več vinske in glukonske kisline kot v primeru združene starterske kulture s *S. uvarum*.

V primeru posamične starterske kulture *K. fluxuum* alkoholna fermentacija ni intenzivna, že po 24 oziroma 48 urah fermentacije doseže stacionarno fazo, čeprav koncentracija sproščene CO₂ rahlo narašča med celotno fermentacijo jabolčnega soka. V združeni starterski kulturi *S. uvarum* + *K. fluxuum* + *D. bruxellensis* + *O. oeni* kvasovka *K. fluxuum* doseže stacionarno fazo že po 24 urah fermentacije, na koncu fermentacije ni prisotna, medtem ko v odsotnosti kvasovke *D. bruxellensis* raste boljše in je prisotna tudi na koncu fermentacije. V odsotnosti *D. bruxellensis* v združeni starterski kulturi *S. uvarum* + *K. fluxuum* + *O. oeni* se alkoholna fermentacija začne kasneje in je bistveno manj oddanega CO₂. Mlečnokislinske bakterije vrste *O. oeni* med fermentacijo jabolčnega vina rastejo slabše v odsotnosti kvasovke *D. bruxellensis*.

Vzorci jabolčnega vina z dodano posamično kulturo *K. fluxuum* so bili senzorično ocenjeni z neprijetnim vonjem po hlevu in v ozadju po čistem H₂S, vendar sladki po okusu. Vzorci jabolčnega vina z združeno kulturo, kjer je bila prisotna tudi *K. fluxuum*, pa so bili ocenjeni kot oksidirani, nekoliko grenki in z vonjem po hlevu. To pomeni, da kvasovka *K. fluxuum* ni imela pozitivnega vpliva na senzorične lastnosti jabolčnega vina. Poleg znanega dejstva, da *K. fluxuum* tvori zelo veliko H₂S, predvidevamo tudi na sintezo hlapnih fenolov med alkoholno fermentacijo, saj se bil vonj po hlevu zaznaven v jabolčnih vinih, kjer je bila *K. fluxuum* dodana kot posamična ali združena starterska kultura.

6 VIRI

- AICV. 2018. Definitions. Brussels, European Cider and Fruit Wine Association: 1 str.
<http://www.aicv.org/pages/aicv/definitions.html> (27.01.2018)
- Antón-Díaz M. J., Valles B. S., Mangas-Alonso J. J., Fernández-García O., Picinelli-Lobo A. 2016. Impact of different techniques involving contact with lees on the volatile composition of cider. *Food Chemistry*, 190: 1116-1122
- Bedriñana R. P., Simon A. Q., Valles B. S. 2010. Genetic and phenotypic diversity of autochthonous cider yeasts in a cellar from Asturias. *Food Microbiology*, 27: 503-508
- Ciani M., Beco L., Comitini F. 2006. Fermentation behaviour and metabolic interactions of multistarter wine
- Contreras A., Curtin C., Varela C. 2015. Yeast population dynamics reveal a potential 'collaboration' between *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum* for the production of reduced alcohol wines during Shiraz fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99: 1885-1895
- Contreras A., Hidalgo C., Henschke P. A., Chambers P. J., Curtin C., Varela C. 2014. Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Applied and Environmental Microbiology*, 80: 1670-1678
- de la Roza C., Laca A., Garcia L. A., Diaz M. 2003. Ethanol and ethyl acetate productin durig the cider fermentation from laboratory to industrial scale. *Process Biochemistry*, 38: 1451-1456
- del Campo G., Santos J. L., Berregi I., Velasco S., Ibarburu I., Dueñ as M. T., Irastorza A. 2003. Ciders produced by two types of presses and fermented in stainless steel and wooden vats. *Journal of the Institute of Brewing*, 109: 342-348

- Domizio P., Romani C., Lencioni L., Comitini F., Gobbi M., Mannazzu I., Ciani M. 2011. Outlining a future non-Saccharomyces yeasts: Selection of putative spoilage wine strains to be used in association with *Saccharomyces cerevisiae* for grape juice fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 147: 170-180
- Fernandez M., Ubeda J. F., Briones A. I. 2000. Typing of non-Saccharomyces yeasts with enzymatic activities of interest in wine-making. *International Journal of Food Microbiology*, 59: 29-36
- Gamero A., Quintilla R., Groenewald M., Alkema W., Boekhout T., Hazelwood L. 2016. High-throughput screening of a large collection of non-conventional yeasts reveals their potential for aroma formation in food fermentation. *Food Microbiology*, 60: 147-159
- Garcia-Moruno E., Munoz R. 2012. Does *Oenococcus oeni* produce histamine?. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 2: 121-129
- Gschaedler A. 2017. Contribution of non-conventional yeast in alcoholic beverages. *Current Opinion in Food Science*, 13: 73-77
- Henríquez-Aedo K., Durán D., Garcia A., Hengst M. B., Aranda M. 2016. Identification of biogenic amine-producing lactic acid bacteria isolated from spontaneous malolactic fermentation of Chilean red wines. *LWT - Food Science and Technology*, 68: 183-189
- Kelkar S., Dolan K. 2012. Modeling the effects of initial nitrogen content and temperature on fermentation kinetics of hard cider. *Journal of Food Engineering*, 109: 588-596
- Leroy F., De Vuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 67-78
- Lobo A. P., Antón-Díaz M. J., Alonso J. J. M., Valles B. S. 2016. Characterization of Spanish ciders by means of chemical and olfactometric profiles and chemometrics. *Food Chemistry*, 213: 505-513
- Lonvaud-Funel A. 1995. Microbiology of the malolactic fermentation: molecular aspects. *FEMS Microbiology Letters*, 126: 209-214
- Moreira N., Mendes F., Hogg T., Vasconcelos I. 2005. Alcohols, esters and heavy sulphur compound production by pure and mixed cultures of apiculate wine yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, 103: 285-294
- Morrissey W. F., Davenport B., Querol A., Dobson A. D. W. 2004. The role of indigenous yeasts in traditional Irish cider fermentations. *Journal of Applied Microbiology*, 97: 647-655
- Pravilnik o pogojih, ki jih mora izpolnjevati grozdje za predelavo v vino, o dovoljenih tehnoloških postopkih in enoloških sredstvih za pridelavo v vino in o pogojih glede kakovosti vina, mošta in drugih proizvodov v prometu. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 43: 5336-5358
- Qin Z., Petersen M. A., Bredie W. L. P. 2018. Flavor profiling of apple ciders from the UK and Scandinavian region. *Food Research International*, 105: 713-723
- Rojas V., Gil J. V., Piñaga F., Manzanera P. 2003. Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 181-188
- Sánchez A., Rodríguez R., Coton M., Coton E., Herrero M., Garcia L. A., Diaz M. 2010. Population dynamics of lactic acid bacteria during spontaneous malolactic fermentation in industrial cider. *Food Research International*, 43: 2101-2107
- Specific gravity cider. 2018. Top cider producing countries: 1 str. <http://specificgravitycider.com/top-cider-producing-countries/> (08.05.2019)
- Steensels J., Daenen L., Malcorps P., Derdelinckx G., Verachtert H., Verstrepen J. K. 2015. *Brettanomyces* yeasts – From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. *Industrial Journal of Food Microbiology*, 206: 24-38
- Suárez B., Pando R., Fernández N., González A., Rodríguez R. 2005. Analytical differentiation of cider inoculated with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) isolated from Asturian (Spain) apple juice. *LWT - Food Science and Technology*, 38: 455-461
- Valles B. S., Bedriñana R. P., Tascón N. F., Simón A. Q., Madrera R. R. 2007. Yeast species associated with spontaneous fermentation of cider. *Food Microbiology*, 24: 25-31
- Versari A., Parpinello G. P., Cattaneo M. 1999. *Leuconostoc oenos* and malolactic fermentation in wine: a review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 23, 6: 447-455
- Volschenk H., van Vuuren H. J. J., Viljoen-Bloom M. 2006. Malic acid in wine: origin, function and metabolism during vinification. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 27, 2: 123-136

ZVEZA MED PROTIMIKROBNO IN ANTIOKSIDATIVNO AKTIVNOSTJO TER VSEBNOSTJO FENOLNIH SPOJIN V RAZLIČNIH VRSTAH MEDU SLOVENSKEGA POREKLA

Nika HORVAT¹, Ajda KUNČIČ¹, Andreja KANDOLF BOROVSŠAK²,
Jasna BERTONCELJ¹, Sonja SMOLE MOŽINA¹

Povzetek: Med je zaradi svojih funkcionalnih lastnosti postal vse bolj zanimiv za proučevanje. V raziskavi nas je zanimala povezava med protimikrobno in antioksidativno aktivnostjo ter vsebnostjo fenolnih spojin v različnih vrstah slovenskega medu. Protimikrobno učinkovitost smo določali proti bakterijam vrste *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* in *Pseudomonas aeruginosa*. Z metodo razredčevanja v mikrotitrski ploščici smo določili minimalno inhibitorno koncentracijo. Z metodo Folin-Cicoltaeu smo določili vsebnost skupnih fenolnih spojin, z metodama DPPH in FRAP pa antioksidativno delovanje vzorcev cvetličnega, akacijevega, gozdnega, lipovega, ajdovega, kostanjevega in hojevega medu ter medu oljne ogrščice. Rezultati so pokazali, da so temne vrste medu bolj protimikrobno aktivne, imajo boljše antioksidativno delovanje in večjo vsebnost fenolnih spojin kot svetlejšje vrste medu. Potrdili smo, da obstaja povezava med antioksidativno aktivnostjo in vsebnostjo fenolnih spojin pri različnih vrstah medu, medtem ko nismo potrdili statistično značilne zveze med raziskovanimi parametri – protimikrobno in antioksidativno aktivnostjo ter vsebnostjo fenolnih spojin.

Ključne besede: med, protimikrobna aktivnost, antioksidativna aktivnost, fenolne spojine, patogene bakterije, minimalna inhibitorna koncentracija, DPPH, FRAP

CORRELATION BETWEEN ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN DIFFERENT TYPES OF HONEY OF SLOVENIAN ORIGIN

Abstract: Honey is becoming more and more interesting to study because of its functional properties. In this study, we were interested in the relationship between antimicrobial and antioxidant activity and phenolic compound content in different types of Slovenian honey. Antimicrobial activity was determined against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The minimum inhibitory concentration was determined by broth microdilution method. The Folin-Cicoltaeu method was used to determine the total phenolic compound content, while DPPH and FRAP methods were used to determine the antioxidant activity of the samples of multifloral, acacia, forest, linden, buckwheat, chestnut, fir, and rapeseed honey. The results show that dark honeys are more antimicrobial active, have higher antioxidant activity and phenolic compounds content than light honeys. We confirmed that there is a positive correlation between antioxidant activity and phenolic compound content in different types of honey, while we did not find a statistically significant correlation between the studied parameters – antimicrobial and antioxidant activity and phenolic compound content.

Key words: honey, antimicrobial activity, antioxidant activity, phenolic compound, pathogens, minimal inhibitory concentration, DPPH, FRAP

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana, Slovenija

² Čebelarstva zveza Slovenije, Brdo pri Lukovici 8, 1225 Lukovica, Slovenija

1 UVOD

Med je naravno sladilo, katerega uporaba sega daleč v zgodovino. Že od antičnih časov se uporablja v prehrani ter za zdravljenje različnih bolezni, poškodb, ran in opeklin. Med kot naravno zdravilo so izpodrinila druga različna zdravilna sredstva, predvsem antibiotiki. Zaradi svojih lastnosti, kot so antioksidativni, protivnetni, protibakterijski in protiglivični učinek, je zopet postal zelo cenjen in zanimiv za raziskovanje. Cilj naše raziskave je bil ugotoviti ali obstaja povezava med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in protimikrobno ter antioksidativno aktivnostjo medu.

2 MATERIAL IN METODE

Raziskava je bila opravljena v okviru aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov v skladu z Uredbo o izvajanju programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022, izvajalec Čebelarstva zveza Slovenije (ČZS). Uporabili smo 62 vzorcev medu iz različnih statističnih regij po celi Sloveniji. V analizo smo vključili vzorce osmih različnih vrst medu: cvetlični (n=11), akacijev (n=5), gozdni (n=12), lipov (n=10), ajdov (n=5), hojev (n=4) in kostanjev med (n=10) ter med oljne ogrščice (n=5). Razdelili smo jih na svetle in temne vrste medov. V skupino svetlih medov smo uvrstili cvetlični, akacijev in lipov med ter med oljne ogrščice (skupno 31 vzorcev). Gozdni, ajdov, hojev in kostanjev med pa smo uvrstili v skupino temnih medov, skupno prav tako 31 vzorcev.

Bakterijske seve, ki smo jih testirali, smo pridobili iz zbirke Laboratorija za živilsko mikrobiologijo, Katedre za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil, Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani. V raziskavo smo vključili naslednje seve bakterij: *Staphylococcus aureus* ŽMJ72, *Listeria monocytogenes* ŽM58, *Bacillus cereus* ŽMJ164, *Escherichia coli* ŽM370 in *Pseudomonas aeruginosa* ŽMJ87.

2.1 DOLOČANJE PROTIMIKROBNE AKTIVNOSTI

Analize določanja protimikrobne aktivnosti so bile opravljene v Laboratoriju za živilsko mikrobiologijo na Katedri za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete med majem 2020 in majem 2021.

2.1.1 Priprava delovne raztopine medu

Za določanje protimikrobne aktivnosti medu smo pripravili delovne raztopine (DR) medu s koncentracijo 1 g/mL v tekočem gojišču (angl. *Tryptic Soy Broth*, TSB). Delovno raztopino medu smo sterilizirali s filtracijo skozi filter z velikostjo por 0,45 µm.

2.1.2 Metoda razredčevanja v mikrotitrski ploščici

Različnim vrstam medu smo določili protimikrobno aktivnost z metodo razredčevanja v mikrotitrski ploščici (Klančnik in sod., 2010). V prvo vrstico mikrotitrške ploščice smo odpipetirali 100 µL DR medu. V vse ostale luknjice smo odpipetirali 50 µL gojišča TSB. Delovno raztopino medu smo serijsko redčili (2-kratne redčitve) in 50 µL zadnje razredčitve

zavrgli. Nato smo v vse luknjice dodali 50 μL inokuluma s koncentracijo celic okoli 5×10^5 CFU/mL. Kot pozitivno kontrolo smo uporabili 50 μL TSB z dodatkom 50 μL inokuluma, kot negativno kontrolo 100 μL TSB in kot negativno kontrolo medu 50 μL TSB z dodatkom 50 μL DR medu. Ploščice smo pred inkubacijo premešali na stresalniku mikrotitrskih ploščic (650 RPM; 2 min) in jih 24 ur inkubirali pri temperaturi 37 °C. Po inkubaciji smo v vsako luknjico dodali 20 μL rastnega indikatorja p-iodo-nitro-tetrazolijev klorid (INT), premešali na stresalniku in 3 ure inkubirali pri temperaturi 37 °C. Minimalno inhibitorno koncentracijo (MIK) smo določili vizualno preko spremembe barve indikatorja.

2.2 DOLOČANJE VSEBNOSTI FENOLNIH SPOJIN IN ANTIOKSIDATIVNE AKIVNOSTI MEDOV

Analize določanja vsebnosti skupnih fenolnih spojin (angl. *total phenolic content*, TPC) in antioksidativne aktivnosti (AA) medov so bile opravljene na ČZS. Vsebnost TPC smo določili z metodo Folin-Cicoltaeu (FC), pri kateri se kot standard uporablja galna kislina, AA pa z metodo DPPH in FRAP. Slednja metoda je enostavna spektrofotometrična metoda za ugotavljanje antioksidativnega delovanja, metoda DPPH pa se uporablja za določanje sposobnosti lovljenja radikalov. Rezultate metode DPPH smo izrazili kot IC50, to je koncentracija antioksidanta, potrebna za 50 % zmanjšanje absorbance radikala DPPH oz. koncentracija substrata, ki vodi do 50 % zmanjšanja absorbance DPPH in se kaže kot izguba intenzivnosti vijolične barve. Manjša vrednost IC50 pomeni večjo AA (Molyneux, 2004).

3 REZULTATI

3.1 PROTIMIKROBNA AKTIVNOST MEDU

Preglednica 1: Vrednosti MIK (mg/mL) različnih vrst medu za izbrane bakterijske seve.

	Gram-pozitivne bakterije									Gram-negativne bakterije						
	<i>S. aureus</i>			<i>L. monocytogenes</i>			<i>B. cereus</i>			<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>			
	n	Mo	razpon	n	Mo	razpon	n	Mo	razpon	n	Mo	razpon	n	Mo	razpon	
SVETLI MEDOVI																
cvetlični	11	500	31,25 - 500	11	250	250 - 500	11	500	125 - 500	11	500	125 - 500	11	500	125 - 500	
akacijev	5	62,5	62,5 - >500	5	250	250 - >500	5	250	250 - >500	5	250	250 - >500	5	250	125 - >500	
oljna ogrščica	5	31,25; 500	31,25 - 500	5	500	125 - 500	5	250	250 - 500	5	500	62,5 - 500	5	500	125 - 500	
lipov	10	250	250 - >500	10	250	125 - >500	10	250	125 - >500	10	250	250 - >500	10	250	125 - >500	
TEMNI MEDOVI																
gozdni	12	250	15,63 - 500	12	250	62,5 - 250	12	250	125 - 500	12	250	62,5 - 500	12	125; 250	125 - 500	
ajdov	5	125	125 - >500	5	125	125 - >500	5	125; 250	125 - >500	5	125	125 - >500	5	125	125 - >500	
kostanjev	10	31,25; 250	31,25 - 250	10	250	62,5 - 250	10	250	250	10	250	125 - 250	10	250	125 - 250	
hojev	4	250	31,25 - 250	4	250	125 - 250	4	250	125 - 250	4	250	125 - 250	4	125; 250	125 - 250	

Legenda: n: število vzorcev medu; Mo: modus; razpon: razpon vrednosti MIK (od minimalne do maksimalne vrednosti).

V Preglednici 1 smo predstavili le končne rezultate modusa (Mo) vrednosti MIK, ki smo jih izračunali iz skupno opravljenih več kot 930 mikrobioloških preiskav protimikrobne aktivnosti medov, zbranih v letu 2020. Dodan je razpon dobljenih rezultatov (min-max) za posamezne vrste medov in testnih mikroorganizmov. Pri nekaterih rezultatih Mo je v preglednici vpisanih več vrednosti (zaradi izračunanih več modusov). Ugotovili smo, da je največ vzorcev medu

doseglo Mo vrednosti MIK od 125 do 250 mg/mL. Pri vseh testnih bakterijah so vrednosti MIK nižje pri temnejših vrstah medu kot pri svetlejših.

Ugotovili smo, da so bile vse testirane bakterije občutljive na analizirane vzorce medu. Za najbolj občutljive so se izkazale bakterije vrste *S. aureus*, sledile pa so bakterije vrste *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* in *B. cereus*. Najnižjo koncentracijo medu, ki je potrebna za inhibicijo rasti, smo določili pri bakterijah vrste *S. aureus* (MIK = 15,63 mg/mL) pri nekaterih vzorcih gozdnega medu, ki so izvirali iz koroške regije. Vsi vzorci medu, razen lipovega in ajdovega, so izkazovali veliko variabilnost v protimikrobnem delovanju proti bakterijam vrste *S. aureus*, lipov in ajdov sta imela tudi večje vrednosti MIK. Opazili smo, da je večina medov, ki so imeli manjše MIK proti bakterijam *S. aureus*, imela večje vrednosti MIK proti bakterijam *E. coli* in *P. aeruginosa*. Literaturni viri niso enotni o tem, npr. Goslinski in sod. (2020) so prav tako dokazali, da je protimikrobno delovanje medu proti grampozitivnim bakterijam večje kot proti gramnegativnim, Đogo Mračević in sod. (2020) pa poročajo, da medovi z boljšim protimikrobnim delovanjem na bakterije *E. coli* slabše delujejo proti bakterijam vrste *S. aureus*.

3.2 3.2 DOLOČANJE VSEBNOSTI FENOLNIH SPOJIN IN ANTIOKSIDATIVNE AKIVNOSTI MEDOV

Rezultati so pokazali, da se je vsebnost TPC v posameznih vrstah medu močno razlikovala (Preglednica 2). Najmanjšo povprečno vsebnost TPC smo določili v akacijevem medu, sledita lipov in cvetlični med. Največjo vsebnost TPC je vseboval ajdov med, približno štirikrat več kot akacijev. Ajdovemu medu pa sledita hojev in kostanjev med.

Preglednica 1: Vsebnost TPC (mg GA/kg) ter AA kot vrednosti DPPH (IC₅₀ (mg/ml)) in FRAP (μM (FeII)) različnih vrst medu (podano je število vzorcev, povprečna vrednost in standardni odklon).

Vrsta medu	n	TPC (mg GA/kg)	DPPH - IC ₅₀ (mg/ml)	FRAP (μM (FeII))
cvetlični	11	175,5 ± 74,9	33,7 ± 11,7	197,7 ± 30,6
akacijev	5	81,3 ± 34,6	87,0 ± 24,4	100,0 ± 35,2
oljna ogrščica	5	204,2 ± 52,5	20,7 ± 8,1	232,7 ± 12,9
lipov	10	110,6 ± 55,4	37,9 ± 11,7	199,8 ± 63,3
gozdni	12	212,6 ± 66,5	13,0 ± 1,8	333,3 ± 86,0
ajdov	5	357,7 ± 63,2	10,6 ± 33,1	490,6 ± 56,4
kostanjev	10	229,8 ± 81,9	13,4 ± 4,0	394,7 ± 105,3
hojev	4	226,5 ± 11,1	10,8 ± 1,8	435,1 ± 70,0

Legenda: n: število vzorcev medu; TPC: vsebnost skupnih fenolnih spojin; GA: galna kislina.

Iz Preglednice 2 je razvidno, da je najmanj učinkovit akacijev med, sledita pa mu lipov in cvetlični med. Najmanjše povprečne vrednosti IC₅₀ sta imela ajdov in hojev med, sledila pa sta gozdni in kostanjev med, kar pomeni, da je bila njihova AA največja. Akacijev med je imel največjo povprečno vrednost IC₅₀ ter najmanjšo povprečno vrednost FRAP, torej je bil najmanj antioksidativno učinkovit. Ajdov in hojev med sta imela največjo AA, kar izkazujejo rezultati obeh uporabljenih metod, saj smo določili najmanjšo povprečno vrednost IC₅₀ ter največjo povprečno vrednost FRAP.

Preglednica 2: Vsebnost TPC (mg GA/kg) ter AA kot vrednosti DPPH (IC₅₀ (mg/ml)) in FRAP (μM (FeII)) za skupini svetlih in temnih medov (podano je število vzorcev, povprečna vrednost in standardni odklon).

Skupina medu	n	TPC (mg GA/kg)	DPPH - IC ₅₀ (mg/ml)	FRAP (μM (FeII))
svetli	31	142,9 ± 54,4	44,8 ± 14,0	182,6 ± 35,5
temni	31	256,6 ± 55,7	11,9 ± 10,2	413,4 ± 79,5

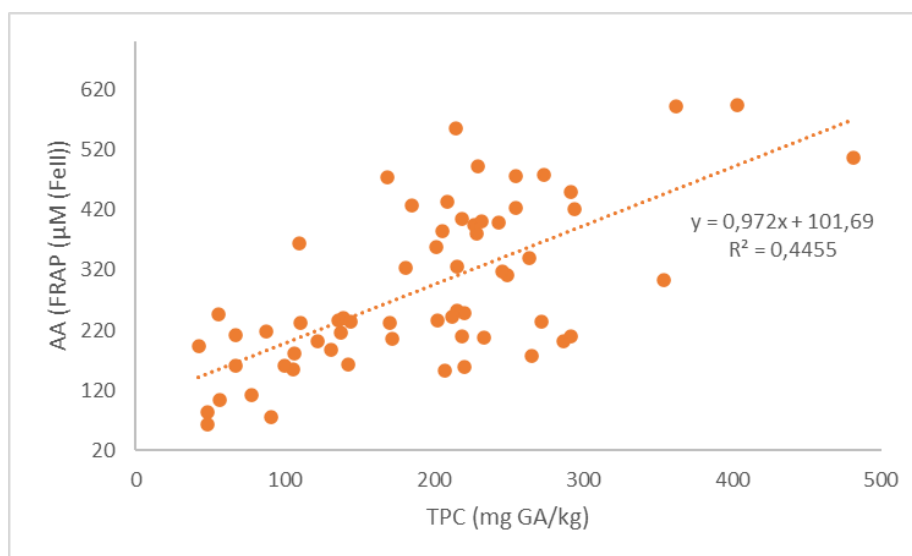
Legenda: n: število vzorcev medu; TPC: vsebnost skupnih fenolnih spojin; GA: galna kislina.

Ugotovili smo, da je vsebnost TPC pri temnih vrstah medu bistveno večja kot pri svetlih in je vrednost IC₅₀ pri svetlih medovih skoraj štirikrat večja kot pri temnih, torej so temni medovi bistveno učinkovitejši lovilci prostih radikalov kot svetli medovi (Preglednica 3).

3.3 POVEZAVA MED PROTIMIKROBNO AKTIVNOSTJO, AA IN TPC

Med ima močno protimikrobno in antioksidativno aktivnost. Kljub temu, da smo opazili povezavo med protimikrobnim delovanjem medu in AA ter vsebnostjo TPC, pa za delovanje medu niso odgovorne samo fenolne spojine, temveč tudi ostali dejavniki kot so nizka vrednost pH, visoka koncentracija sladkorjev, vsebnost vodikovega peroksida, vsebnost metilglioksala (Chang in sod., 2017).

S Spearmanovim testom smo želeli potrditi oz. zavreči postavljene hipoteze. Za izračun korelacije smo zajeli vse vzorce medu. Vrednosti korelacijskih koeficientov (r), 0,611 za zvezo med AA (metoda FRAP) in vsebnostjo TPC, ter 0,679 za zvezo med AA (metoda DPPH) in vsebnostjo TPC, kažeta na to, da so fenolne spojine odgovorne za AA medu. Povezava je močna in statistično značilna (p<0,05) (Slika 1).



Slika 8: Povezava med vsebnostjo TPC (mg GA/kg) in AA (metoda FRAP (μM (FeII))).

Med vsebnostjo TPC, določeno z metodo FC, in AA, določeno z metodama FRAP in DPPH, ter rezultati MIK pri bakterijah vrste *S. aureus* ni bilo statistično značilne povezave (p>0,05). Koeficienti korelacije so bili <0,2, torej je povezanost neznatna (podatki niso prikazani).

4 ZAKLJUČEK

Temne vrste medu (ajdov, kostanjev, hojev in gozdni med) so izkazale boljše protimikrobno delovanje kot svetle vrste medu (med oljne ogrščice in cvetlični med).

Tudi vsebnost TPC in AA je bila večja pri temnih medovih. Ugotovili smo, da obstaja močna povezava med AA in vsebnostjo TPC, medtem ko statistično značilne povezave med protimikrobno aktivnostjo in AA ter vsebnostjo TPC nismo potrdili. To ugotovitev povezujemo z dejstvom, da na protimikrobno aktivnost ne vplivajo le fenolne spojine, temveč tudi ostale bioaktivne spojine (encimi in njihova aktivnost ter produkti kot je npr. vodikov peroksid ter druge sestavine medu, predvsem vsebnost sladkorjev in drugih bioaktivnih spojin, npr. peptidov). Razlog za statistično neznačilne povezave bi lahko bila velika heterogenost vzorcev in majhno število vzorcev posameznih botaničnih vrst medu. Težavo predstavlja tudi relativno grob način merjenja protimikrobne aktivnosti z vrednostmi MIK. Za nadaljnje raziskave bi potrebovali večje število vzorcev posameznih vrst medu in natančnejšo določitev protimikrobne aktivnosti oz. MIK medov proti izbranim mikroorganizmom.

Največjo vsebnost TPC, odlično AA in protimikrobno aktivnost smo določili pri ajdovem medu. Ker je ta vrsta medu še relativno slabo raziskana, bi bile nadaljnje raziskave delovanja te vrste medu zelo zanimive in upravičene.

5 ZAHVALA

Doseženi rezultati so nastali v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije.

6 VIRI

- Aljadi A.M., Kamaruddin M.Y. 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry*, 85, 4: 513-518
- Chang N., Wang Y., Cao W. 2017. The protective effect of whole honey and phenolic extract on oxidative DNA damage in mice lymphocytes using comet assay. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72, 4: 388-395
- Đogo Mračević S., Krstić M., Lolić A., Ražić S. 2020. Comparative study of the chemical composition and biological potential of honey from different regions of Serbia. *Microchemical Journal*, 152: 104420, doi: 10.1016/j.microc.2019.104420: 9 str.
- Gošliński M., Nowak D., Kłębukowska L. 2020. Antioxidant properties and antimicrobial activity of manuka honey versus Polish honeys. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 4: 1269–1277
- Horvat N. 2021. Zveza med protimikrobno in antioksidativno aktivnostjo ter vsebnostjo fenolnih spojin v različnih vrstah medu slovenskega porekla. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 27 str.
- Klančnik A., Piskernik S., Jeršek B., Smole Možina S. 2010. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81: 121-126
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH•) for estimating antioxidant activity. *Songlanakaran Journal of Science and Technology*, 26, 2: 211-219

VPOGLED V ODZIV JABOLKA NA OBSEVANJE Z MODRO LED-SVETLOBO NA RAVNI MOLEKUL

Nik MAHNIČ¹, Emil ZLATIC¹, Rajko VIDRIH¹, Anja RUTAR, Urban KUNEJ², Jernej JAKŠE²,
Nataša TOPLAK³, Simon KOREN³, Polona JAMNIK¹, Barbka JERŠEK¹

Povzetek: Plodovi jabolka so med skladiščenjem podvrženi gnitju, kar predstavlja ogromne ekonomske izgube. V večini primerov so povzročitelji okužbe plesni vrste *Penicillium expansum*. Z željo po zmanjšani uporabi fitofarmaceutskih sredstev v sadovnjaku ali po obiranju, so raziskave usmerjene v iskanje alternativnih, fizikalnih načinov zatiranja razvoja gnilobe. Modra LED-svetloba se je že izkazala kot učinkovita metoda inhibicije razvoja mnogih mikroorganizmov. Iz vzorcev jabolka, ki so bila okužena s plesnimi vrste *P. expansum*, smo po obsevanju z modro LED-svetlobo izolirali RNA in proteine, da bi iz molekulskega vidika proučili vpliv obsevanja na jabolka in tudi na plesni vrste *P. expansum*. Rezultati kažejo, da ima modra svetloba znaten vpliv na razvoj patogenih plesni in na imunski odziv gostitelja. Za določitev specifičnih procesov in metabolnih poti obeh proučevanih organizmov so potrebne nadaljnje bolj podrobne analize.

Ključne besede: jabolko, transkriptom, proteom, modra LED-svetloba, poobiralni postopki

INSIGHT OF APPLE'S RESPONSE TO IRRADIATION WITH BLUE LED LIGHT ON MOLECULAR LEVEL

Abstract: Apple fruits are subject to rot during storage, which represents a huge economic loss and in most cases is caused by *Penicillium expansum* infection. With the desire to reduce the use of phytopharmaceuticals as an orchard treatment or after harvesting, research is focused on finding alternative, physical ways to suppress the development of rot. Blue LED light has already proven to be an effective method of inhibiting the development of many microorganisms, so we tested it on apples infected with *P. expansum*. RNA and proteins were isolated from samples of *P. expansum*-infected apples after irradiation with blue LED light to study the effect of irradiation on both, apples and *P. expansum* from a molecular point of view. The results show that blue light has a significant effect on the course of colonization of pathogenic molds and on the immune response of the host. Furthermore, detailed analyses are needed to determine the specific processes and metabolic pathways of the two organisms studied.

Key words: apple, transcriptome, proteome, blue LED light, postharvest treatments

¹ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: nik.mahnic@bf.uni-lj.si

² Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana

³ Omega d.o.o, Dolinškova ulica 8, Ljubljana

1 UVOD

Obstojnost in kakovost jabolk po obiranju je omejena z različnimi fiziološkimi spremembami, ki jih lahko upočasnimo s skladiščenjem pri nizki temperaturi in znižani vsebnosti kisika. Med skladiščenjem se pri jabolkih lahko razvijejo različne mikrobiološke bolezni, katerih posledica je gniloba, najpogostejši povzročitelji pa so plesni (*Colletotrichum*, *Neofabraea*, *Penicillium*, *Botrytis*). Največjo ekonomsko škodo povzročajo plesni vrste *Penicillium expansum* (Di Francesco in sod., 2018, Gandía in sod., 2021). Pri pridelavi in skladiščenju se uporabljajo različni fungicidi, vendar je njihova uporaba vse bolj omejena, predvsem zaradi vedno višjih zahtev potrošnikov po čim manjši uporabi biocidov ter razvoja proti fungicidom prilagojenih ali celo odpornih sevov.

Trenutni trendi na področju alternativnih ne-termičnih metod gredo v smeri uporabe ultrazvoka, visokega hidrostatskega tlaka, ozonizaciji, pulzirajočega električnega toka in obsevanja s svetlobo različnih valovnih dolžin. Med temi protimikrobnimi postopki je zelo obetavna metoda obsevanje živil z LED (ang. light emitting diode)-svetlobo določene valovne dolžine v vidnem območju (Cossu in sod., 2021). Modra LED-svetloba (400-460 nm) ima bioaktivno delovanje proti različnim mikrobom, ker vzbudi endogene na svetlobo občutljive porfirinske molekule, ki katalizirajo tvorbo znotrajceličnih ROS (reaktivne kisikove zvrsti). Pride do oksidacije celičnih sestavin, nastale poškodbe pa vodijo do inhibicije rasti ali celične smrti. Raziskave so pokazale, da je uporaba vidne LED-svetlobe za učinkovito zmanjšanje mikrobne populacije na/v živilih (npr. sadje, sadni sokovi) dolg postopek, ki lahko vpliva na zmanjšano kakovost živil. Zato so čas obsevanja skrajšali z dodatkom eksogenih na svetlobo občutljivih snovi, ki imajo z obsevanjem z vidno-LED svetlobo sinergistično protimikrobno delovanje, in postopek poimenovali fotodinamična inaktivacija (PDI, ang. photodynamic inactivation). Sinergističen učinek modre LED-svetlobe je bil določen s kurkuminom, srebrovimi nano delci, eteričnimi olji in z naravno prisotnimi polifenolnimi komponentami sadja in oreščkov (Wang in sod., 2017).

P. expansum je nekrotrofična plesen, ki okuži jabolko preko rane ali pore z glavnim namenom pridobitve hranil iz mrtvih celic gostitelja. Novejše raziskave so pokazale, da nekrotrofične plesni med kolonizacijo in kasnejšimi fazami bolezni tvorijo efektorje – to so proteinske in nekatere druge molekule (npr. majhne molekule RNA), ki jih tvorijo zato, da spremenijo fiziologijo gostiteljevega tkiva ter si s tem pridobijo hranila (Shao in sod., 2021). Pri nekrotrofičnih plesnih so poleg poznanih efektorjev, ki sodelujejo npr. kot encimi pri razgradnji celičnih sten gostitelja (CWDE, ang. cell wall degrading enzymes), s sekvenciranjem genomov in transkriptomov odkrili tudi zelo veliko različnih efektorjev, katerih kompleksni mehanizmi delovanja še niso razjasnjeni. Odziv jabolka na okužbo s plesnimi je v splošnem povečana tvorba ROS, ki delujejo direktno na celice plesni tako, da poškodujejo plazemsko membrano in mitohondrijske proteine ter hkrati aktivirajo druge obrambne mehanizme jabolka; poveča se tvorba askorbata, glutationa in fenolnih spojin zaradi aktivacije genov vključenih v fenilpropanoidno pot. V naši študiji gre za specifičen odziv jabolka na plesni vrste *P. expansum*, saj jabolko prepozna plesen, čemur pravimo s patogenom povezan molekularni vzorec (PAMP, ang. Pathogen associated molecular pattern), ki sproži imunski odziv (PTI, ang. PAMP triggered immunity). Jabolko lahko plesen prepozna tudi preko efektorjev, ki jih plesen izloči, kar privede

do imunskega odziva, sproženega z efektorji (ETI, ang. Effector triggered immunity) in posledično preobčutljivostni odziv (HR, ang. Hipersensitive response). Poleg odziva na plesen pa se jabolko odzove tudi na modro svetlobo, posledica pa je povečana tvorba sekundarnih metabolitov, med katerimi so tudi polifenolne spojine (Kokalj in sod., 2019).

Namen raziskave je bil določiti vpliv obsevanja z modro LED-svetlobo na jabolko, kontaminirano s plesnimi vrste *P. expansum*, na nivoju transkriptoma in proteoma.

2 MATERIALI IN METODE

Jabolka (*Malus domestica*, cv. Idared) smo v tehnološki zrelosti obrali v intenzivnem sadovnjaku v Kasazah (46° 13' 27.012" N 15° 11' 9.168" E). Plodove smo razkužili (2 min, 0,2 % NaOCl) ter inokulirali s plesnimi vrste *P. expansum* CBS 281.97 (7 dnevna kultura s 10^8 konidijev/mL) ter jih 24 h obsevali z modro LED-svetlobo (445 nm, 11,4 $\mu\text{mol/m s}$) pri 25 °C. Kontrolna skupina inokuliranih jabolk je bila pri enaki temperaturi skladiščena v temi. Vzorčenje smo izvedli po 9 h za transkriptomsko analizo in po 24 h za proteomsko analizo. S plutovrtom (2r = 16 mm, d = 2 mm) smo zarezali diske okoli mesta inokulacije in jih takoj zamrznili v tekočem dušiku ter jih shranili pri -80 °C. Ekstrakcijo proteinov in RNA smo opravili s kitom GenElute™ RNA/DNA/Protein Purification Plus Kit po navodilih proizvajalca (Sigma, Nemčija).

Za analizo transkriptoma smo uporabili pristop sekvenciranja celotnega transkriptoma (RNA-seq). Knjižnice za sekvenciranje so bile narejene z uporabo Ion Total RNA-Seq Kit v2 (Thermo Fischer Scientific, ZDA). V tem koraku smo izvedli reverzno transkripcijo, sintezo in obogatitev cDNA, ligacijo adapterjev in črtno kodiranje vzorcev, določili kakovosti knjižnic cDNA z Bioanalyzer 2100 in visoko občutljivim DNA kompletom (Agilent Technologies, ZDA). V zadnjem koraku priprave knjižnic smo le-te združili in vzorec sekvencirali z instrumentom Ion Proton semiconductor sequencing system (Thermo Fischer Scientific, ZDA). Nukleotidna zaporedja smo identificirali s primerjavo z genomom jabolka (iris.angers.inra.fr/gddh13/index.html), analizo diferencialno izraženih genov smo izvedli z uporabo standardnih orodij (DESeq2, edgeR, NOISeq, EBSeq ali RNA-Seq, (CLC Genomics Workbench, Nemčija)). Geni z vsaj 2-kratno spremembo izražanja z vrednostjo $p < 0,05$ so bili ocenjeni kot diferencialno izraženi geni (DEG).

Proteine smo po izolaciji očistili z uporabo kompleta 2-D Clean-Up Kit (GE Healthcare, ZDA) po navodilih proizvajalca in jih nato raztopili v pufru s 5 M ureo in 50 mM amonijevim hidrogenkarbonatom. Nadaljnjo obdelavo vzorca in analizo proteoma z masno spektrometrijo smo opravili po protokolu Masten Rutar in sod. (2021). Proteini z vsaj 1,5-kratno spremembo v vsebnosti med obsevanimi in ne-obsevanimi jabolki s plesnijo z vrednostjo $p < 0,05$ so bili ocenjeni kot diferencialno spremenjeni proteini (DSP).

3 REZULTATI

3.1 ODZIV JABOLKA IN PLESNI NA MODRO LED-SVETLOBO NA NIVOJU TRANSKRIPTOMA

Po obsevanju z modro LED-svetlobo smo za jabolko in plesni vrste *P. expansum* določili 201 oz. 222 DEG, pri čemer je bilo v večjem obsegu povečano izražanje genov (pri jabolku (84,6 % UR in pri plesni 67,6 % UR) in v manjšem obsegu zmanjšano izražanje genov (pri jabolku 15,4 % DR in pri plesni 32,4 % DR).

Funkcijska analiza DEG jabolka je pokazala povečano izražanje skupin genov, ki so vključeni v svetlobne reakcije fotosinteze. Poleg teh so bile obogatene tudi skupine, vključene v biosintezo flavonoidov, flavonolov in cianidin 3-O-glukozida, za katere je znano, da delujejo protiglivno. Obogatena je bila tudi skupina za pozitivno regulacijo preobčutljivostnega odziva, kar nakazuje na ETI in posledično HR.

Glavni biološki procesi, ki so povezani s povečanim izražanjem genov pri plesnih vrste *P. expansum*, so hidrolitična razgradnja gostiteljevih celic (npr. pektinaze), proteinska lipoilacija, prekinitve aktinskih filametrov, biosintezne poti melanina, oksidacije NADH in negativna regulacija iniciacije mitotske DNA replikacije. Glavni procesi, ki so povezani z zmanjšanim izražanjem genov, so vidni v odzivu mnogih procesov vezanih na poškodbo DNA, katabolizem prolina v glutamat in spremembe plazemske membrane. Tudi pri plesnih gre, podobno kot pri jabolku, za več različnih efektorjev, ki temu patogenu omogočajo kolonizacijo in rast v gostiteljevem tkivu (Wang in sod., 2019).

3.2 ODZIV JABOLKA IN PLESNI NA MODRO LED-SVETLOBO NA NIVOJU PROTEOMA

Pri primerjavi proteoma jabolka s plesnijo z in brez obsevanja smo, glede na omenjene kriterije, po filtriranju identificiranih proteinov pridobili 76 proteinov jabolka in plesni ter jih razvrstili glede na biološke procese z uporabo genskih ontologij. Pri jabolkih je bil največji delež proteinov (24 %) vpleten v stresni odgovor, sledijo proteini s strukturno vlogo v celični organizaciji ter proteini vpleteni v izražanje genov, metabolizem aminokislin, transport, sekundarni metabolizem ter proteolizo. Manjši delež identificiranih proteinov je bil vključen v metabolizem ogljikovih hidratov, biosintezo etilena, vezavo železa in v metabolne procese nukleozidov. Pri plesnih pa je bilo največ identificiranih proteinov vpletenih v procese izražanja genov, kar nekaj pa tudi v sintezo proteinov. Kar 18 % proteinov je bilo vpletenih v metabolizem ogljikovih hidratov, vendar je bila med njimi večina takšnih, katerih vsebnosti so bile po obsevanju nižje kot v temi. 10 % proteinov je bilo vpletenih v metabolizem aminokislin, med katerimi je večina pokazala povišane vsebnosti. 8 % proteinov je bilo vpletenih v transport proteinov in stresni odgovor ter 8 % v proteolizo. Med slednjimi smo identificirali dve proteazi, ki prispevata k virulenci ter podenoto proteasoma. Preostali proteini so bili vključeni v proces metabolizma lipidov, virulenco, sintezo piridoksal fosfata in biosintezo pirimidinov.

4 ZAKLJUČEK

Preliminarni rezultati obsevanja jabolka, ki je bilo okuženo s plesnimi vrste *P. expansum*, z modro LED-svetlobo so pokazali odziv na ravni transkriptoma in proteoma pri obeh proučevanih organizmih in so dobra osnova za nadaljnje raziskave vpliva svetlobe na razvoj plesni pri skladiščenju jabolka.

5 VIRI

- Cossu M, Ledda L. Cossu A. 2021. Emerging trends in the photodynamic inactivation (PDI) applied to the food decontamination. *Food Research International*, 144: 110358, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110358>
- Di Francesco A., Marta M., Roberta R. 2018. Defense response against postharvest pathogens in hot water treated apples. *Scientia Horticulturae*, 227: 181-186.
- Gandía M., Kakar A., Moisés G.L., Holzknacht J., Martínez-Culebras P., Galgóczy L., Marx F., Marcos J.F., Manzanares P. 2021. Potential of Antifungal Proteins (AFPs) to Control *Penicillium* Postharvest Fruit Decay. *MDPI, Fungi* 2021, 7, 449. <https://doi.org/10.3390/jof7060449> .
- Kokalj D., Zlati E., Cigić B., Kobav M.B., Vidrih R. 2019. Postharvest flavonol and anthocyanin accumulation in three apple cultivars in response to blue-light-emitting diode light. *Scientia horticulturae* 257: 108711.
- Masten Rutar J., Cillero-Pastor B., Mohren R., Poklar Ulrich N., Ogrinc N., Jamnik P. 2021. Insight into the antioxidant effect of fermented and non-fermented *Spirulina* water and ethanol extracts at the proteome level using a yeast cell model. *Antioxidants*, 10, 9: 1366, doi: 10.3390/antiox10091366: 15 str.
- Nybohm H. Ahmadi-Afzadi M., Rumpunen K., Tahir I. 2020. Review of the Impact of Apple Fruit Ripening, Texture and Chemical Contents on Genetically Determined Susceptibility to Storage Rots. *MDPI, Plants*, 9, 831; doi:10.3390/plants9070831.
- Shao D., Smith D. L., Kabbage, M., Roth M. G. 2021. Effectors of Plant Necrotrophic Fungi. *Frontiers in Plant Science*, 12:687713. doi: 10.3389/fpls.2021.687713.
- Wang K., Zheng X., Zhang X, Zhao L., Yang Q., Boasteng N. A. S., Ahima J., Liu J. Zhang. H. 2019. Comparative Transcriptomic Analysis of the Interaction between *Penicillium expansum* and Apple Fruit (*Malus pumila* Mill.) during Early Stages of Infection. *MDPI Microorganisms*, 7, 495, doi:10.3390/microorganisms7110495
- Wang Y., Wang Y., Wang Y. Murray C. K., Hamblin, M. R., Hooper D. C., Dai T. 2017. Antimicrobial blue light inactivation of pathogenic microbes: State of the art. *Drug Resistance Updates*, 33-35, 1-22.

AEROSENZITIVNOST BAKTERIJ *Campylobacter* IN PREŽIVETJE BAKTERIJ MED DEKONTAMINACIJO POVRŠINE PERUTNINSKEGA MESA

Eva MILJEVIČ¹, Meta STERNIŠA², Michael STELZL³, Sonja SMOLE MOŽINA⁴

Povzetek: Bakterije rodu *Campylobacter* so glavni povzročitelj črevesnih okužb v razvitem svetu. Kampilobaktri so pogosto prisotni na perutninskem mesu in ker že majhno število celic lahko povzroči okužbo pri ljudeh, se raziskovalci in proizvajalci perutninskega mesa intenzivno usmerjajo v razvoj tehnik zmanjševanja kontaminacije. Kljub visoki občutljivosti kampilobaktrov so ti sposobni preživeti stresno okolje živilsko-predelovalne industrije. Velika genetska raznolikost znotraj vrste pripomore k preživetju v neugodnih razmerah. Tako so nekateri kampilobaktri, kljub njihovi mikroaerofilni naravi, aerotolerantni. Ta lastnost dodatno definira njihovo občutljivost na tehnike, ki jih uporabljamo za zmanjšanje njihovega števila na perutninskem mesu. V našem delu smo določili občutljivost na kisik bakterijam *C. jejuni* in *C. coli* ter občutljivost na tretiranje z mlečno in perocetno kislino in pakiranje v modificirani atmosferi s kisikom. Skupno je bilo 65 % testiranih sevov aerosenzitivnih in 35 % aerotolerantnih. V obeh skupinah so bili sevi obeh vrst bakterij, ne glede na njihov izvor. Obe testirani kislini sta zmanjšali obremenitev s kampilobaktri za več kot 1 log₁₀, kar pomeni več kot 90 % zmanjšanje, a boljše je delovala perocetna kislina, ki je močnejši oksidant. Tudi pakiranje v modificirani atmosferi s kisikom je zmanjšalo število kampilobaktrov, več v aerosenzitivni skupini. Z rezultati analize smo nakazali povezavo med aerotoleranco in občutljivostjo na uporabljene tehnike za zmanjšanje njihovega števila za izbrane seve, a so potrebne nadaljnje raziskave za potrditev. Učinkovitost metod je potrebno še dodatno testirati v industrijskih pogojih in analizirati tudi vpliv na celotno mikrobioto perutninskega mesa, kemijske in senzorične analize.

Ključne besede: *Campylobacter*, perutninsko meso, aerosenzitivnost, MAP, mlečna kislina, perocetna kislina

AEROSENSITIVITY OF *Campylobacter* AND BACTERIAL SURVIVAL DURING DECONTAMINATION OF POULTRY MEAT SURFACE

Abstract: *Campylobacter* spp. are the major cause of intestinal infections in the developed world. *Campylobacter* is commonly found present in poultry meat, and because even small numbers of bacteria can cause infection in humans, researchers and poultry meat producers are intensely focused on developing techniques to reduce contamination. Despite high sensitivity of *Campylobacter*, they are able to survive in the stressful environment of the food processing industry. High genetic diversity within a species contributes to survival under adverse conditions. Thus, some campylobacters, despite their microaerophilic nature, are aerotolerant. This characteristic also determined their sensitivity to the techniques used to reduce their numbers in poultry meat. In our work, we determined the oxygen sensitivity of *C. jejuni* and *C. coli* and their sensitivity to treatment with weak acids (lactic, peracetic) and packaging in a modified atmosphere with oxygen. Of the strains tested, 65% were found to be aerosensitive and 35% aerotolerant. Both types of bacteria are classified in both groups regardless of their origin. Both acids tested reduced *Campylobacter* loads by more than 1 log₁₀, representing more than 90% reduction, but peracetic acid, a stronger oxidant, performed better. Oxygen-modified packaging also reduced the number of *Campylobacter*, more so in the aerosensitive group. Further analysis revealed a link between aerotolerance and sensitivity to the techniques used to reduce the number of selected strains, but further analyses are needed. The

¹ e-mail: eva.miljevic@gmail.com

² asist. dr., Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: meta.sternisa@bf.uni-lj.si

³ dr., Hygienicum GmbH, Institut za varnost hrane in higieno, Robert-Viertl-Straße 7, Graz, AT, e-mail: M.Stelzl@hygienicum.at

⁴ prof. dr., Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: sonja.smole@bf.uni-lj.si

efficacy of the methods needs to be further tested under industrial conditions, and the effects on the overall poultry meat microbiota and chemical and sensory analysis also need to be analysed.

Key words: *Campylobacter*, poultry meat, aerosensitivity, MAP, lactic acid, peracetic acid

1 UVOD

Bakterije rodu *Campylobacter* so glavni povzročitelj črevesnih okužb v razvitem svetu. Do okužb pri ljudeh pride predvsem preko uživanja kontaminiranega perutninskega mesa (EFSA in ECDC, 2021). Glavni vrsti, ki povzročata kampilobakteriozo pri ljudeh, sta termofilni vrsti *C. jejuni* in *C. coli*. Črevesje perutnine je njihov naravni rezervoar in ob izlitju črevesja pri predelavi perutninskih trupov po zakolu lahko pride do kontaminacije mesa, namenjenega končnemu potrošniku. Mogoča je tudi kontaminacija z vodo (Humphrey in sod., 2007). Pri ljudeh je infektivna doza zelo nizka, saj že <500 celic povzroči znake okužbe (Bolton, 2015). Evropska zakonodaja je šele z letom 2018 uvedla omejitve števila bakterij kampilobakter na piščančjih trupih. Uredba Komisije EU 2017/1495 določa, da s 1. 1. 2018 20/50 vzorcev ne sme preseči mejne vrednosti 1000 CFU/mL, od 1. 1. 2020 te meje ne sme preseči 15/50 vzorcev in od 1. 1. 2025 10/50. Zato se raziskovalci in proizvajalci perutninskega mesa intenzivno usmerjajo v razvoj tehnik zmanjševanja kontaminacije – tako v jatah kot tudi v klavnici in na predelovalni liniji. Kljub visoki občutljivosti kampilobaktrov so ti sposobni preživeti na perutninskem mesu od zakola, tekom predelave, pakiranja, distribucije in končno tudi pri potrošniku, kjer pride do okužbe zaradi nepravilnega rokovanja s perutninskim mesom – navzkrižne kontaminacije in nezadostne toplotne obdelave (Gözl in sod., 2018). Tako je poleg dobre higienske prakse v perutninskih klavnicah ključna tudi uporaba učinkovitih ukrepov za zmanjšanje števila kampilobaktrov na perutninskem mesu, kot so npr. uporaba različnih kislin za dekontaminacijo perutninskih trupov in uporaba modificirane atmosfere za pakiranje. Za uspešno delovanje teh metod je poleg zadostne kontaminacije uporabljenih snovi ključna tudi sama občutljivost kampilobaktrov.

2 2 AEROSENZITIVNOST BAKTERIJ KAMPILOBAKTER

Bakterijski vrsti *C. jejuni* in *C. coli* sta občutljivi na okoljske dejavnike in zahtevata posebne pogoje rasti, a sta sposobni preživeti v okolju živilsko-predelovalne verige z obvladovanjem oksidativnega stresa. V ta namen se kampilobaktri z aerotakso in kemotakso premaknejo v ugodnejše pogoje (Alter in Scherer, 2006) ali se zaščitijo s sistemi encimske obrambe (Atack in Kelly, 2009). Velika genetska raznolikost znotraj vrste pripomore k preživetju v neugodnih razmerah (Alter in Scherer, 2006, Gözl in sod., 2018). Tako so kampilobaktri različno odporni na aerobne pogoje. Prav toleranca na stresne dejavnike kampilobaktrov je ključna determinanta za razvoj kampilobakterioze pri ljudeh.

Pri testiranju aerosenzitivnosti bakterij *C. jejuni* in *C. coli* iz različnih virov (Preglednica 1) smo seve ovrednotili kot aerosenzitivne, če so preživeli manj kot 24 ur v aerobnih razmerah, in aerotolerantne, če so preživeli več kot 24 ur v aerobnih razmerah. Od testiranih sevov *C. jejuni* in *C. coli* se jih je 65 % uvrstilo v skupino aerosenzitivnih in 35 % v skupino aerotolerantnih. V obe skupini se razvrščata obe vrsti bakterij, ne glede na njihov izvor. Primerljive rezultate poročajo tudi v drugih študijah (Kim in sod., 2019; Oh in sod., 2015;). Pri aerotolerantnih sevih je ugotovljena povečana aktivnost encimov katalaze in superoksid dismutaze, ki sodelujeta v obrambi pred reaktivnimi kisikovimi zvrstmi (Oh in sod., 2015). Zaradi tega aerotoleranti sevi bolje preživijo aerobne pogoje kot aerosenzitivni sevi.

Preglednica 1: Bakterijski sevi *C. jejuni* in *C. coli* uporabljeni pri eksperimentalnem delu

Vrsta	Oznaka seva	Vir	Občutljivost na kisik ³
<i>C. jejuni</i> ¹	IVZ 540	Piščančje meso	AS
<i>C. jejuni</i> ¹	IVZ 955	Piščančje meso	AT
<i>C. jejuni</i> ¹	IVZ 1286	Piščančje meso	AT
<i>C. jejuni</i> ¹	60057	Piščančje meso	AS
<i>C. jejuni</i> ²	160	Slepo črevo piščanca	AT
<i>C. jejuni</i> ²	91	Slepo črevo piščanca	AS
<i>C. jejuni</i> ²	162	Slepo črevo piščanca	AS
<i>C. coli</i> ¹	33759	Piščančje meso	AS
<i>C. coli</i> ¹	36356	Piščančje meso	AS
<i>C. coli</i> ¹	52236	Piščančje meso	AS
<i>C. coli</i> ¹	17343.21	Rečna voda	AS
<i>C. coli</i> ¹	17343.22	Rečna voda	AT
<i>C. coli</i> ¹	07.803	Površinska voda	AS
<i>C. coli</i> ²	172	Bris transportne kletke	AT
<i>C. coli</i> ²	105	Slepo črevo piščanca	AS
<i>C. coli</i> ²	153	Slepo črevo piščanca	AS
<i>C. coli</i> ²	14.1	Procesna voda	AT

¹iz zbirke Katedre za biotehnologijo, mikrobiologijo in varnost živil Oddelka za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani; ²iz zbirke Univerze za veterinarsko medicino na Dunaju; ³AS – aerosenzitivni, AT - aerotolerantni

Prisotnost aerotolerantnih kampilobaktrov poveča možnost za prenos okužbe s kampilobaktri preko hrane. Aerotolerantni sevi imajo znano večjo toleranco na različne strese (tudi hlajenje, zamrzovanje, toplotno obdelavo in osmotski stres), večjo prevalenco virulentnih genov in večjo odpornost proti protimikrobnim sredstvom v primerjavi z aerosenzitivnimi (Oh in sod., 2019). Zaradi splošnega razumevanja občutljivosti kampilobaktrov na stres je bila kontaminacija hrane s temi bakterijami razmeroma podcenjena v primerjavi z drugimi robustnimi patogenimi bakterijami, ki se prenašajo s hrano. Trenutna politika varnosti hrane v povezavi s kampilobaktri temelji na skupnem številu bakterij *Campylobacter* v živilu. Ker ugotovitve študij kažejo, da so kampilobaktri s toleranco na različne strese (angl. *multistress tolerance*) prvi cilj za spremljanje in nadzor reševanja glavnih vprašanj javnega zdravja pri okužbah s kampilobaktri (Oh in sod., 2018), bi se z diferenciacijo sevov na aerosenzitivne in aerotolerantne bolje spopadali s to problematiko.

3 PREŽIVETJE KAMPILOBAKTROV OB UPORABI RAZLIČNIH TEHNIK DEKONTAMINACIJE PERUTNINSKEGA MESA

Dekontaminacija perutninskega mesa lahko pripomore k zmanjšanju pojavnosti bakterijskih okužb s hrano pri ljudeh – pri tem uporaba dekontaminacijskih tehnik ne sme zanemariti procesne higiene (Bolder, 1997). Trenutno je kontaminacija perutninskega mesa s kampilobaktri skoraj neizogibna, zato je potrebna dekontaminacija oz. zmanjšanje števila bakterij med obdelavo perutninskega mesa. Obstajajo kemijski in fizikalni načini dekontaminacije (Preglednica 2) površine perutninskega mesa, a je njihova uporaba omejena zaradi negativnih učinkov – senzorične spremembe, korozija opreme, visoki stroški, toksičnost, omejena učinkovitost in zakonske omejitve (Cosansu in Ayhan, 2008; Kumar in sod., 2020).

Preglednica 2: Kemijski in fizikalni postopki dekontaminacije površine perutninskih trupov (Bolder, 1997; Soro in sod., 2020)

Kemijski postopek ¹	Fizikalni postopek
Klor (hipoklorit, klorov dioksid)	Hlajenje
Organske kisline (mlečna kislina, očetna kislina)	Zamrzovanje
Anorganski fosfati (trinatrijev fosfat, polifosfati)	Kriogeno zamrzovanje
Organski konzervansi (benzoati, propionati)	Parjenje
Bakteriocini (nizin, magainin)	Ultrazvok
Oksidanti (hidrogen peroksid, ozon)	Pulzirajoče električno polje
	Ionizirajoče sevanje
	UV svetloba
	Modificirana atmosfera

¹naštete so kemične snovi, ki se uporabljajo v kemijskih postopkih

3.1 UPORABA ŠIBKIH KISLIN

Šibke kisline, kot sta mlečna kislina in perocetna kislina, se v živilstvu uporabljajo predvsem kot zaviralci mikrobne rasti. Toleranca na protimikrobna sredstva za zaviranje rasti kampilobaktrov se lahko zelo razlikuje med državami, saj imajo države različno politiko glede uporabe protimikrobnih sredstev. Mlečna kislina velja za netoksično in ima status GRAS (splošno priznana kot varna snov). Po mnenju FSIS (2021; Služba za varnost hrane in inšpekcijske preglede, ZDA) se mlečna kislina lahko uporablja na perutninskem mesu v koncentraciji do 5 %. V EU dekontaminacija trupov perutnine z mlečno kislino še ni dovoljena (Gonzalez-Fandos in sod., 2020). Od leta 2013 je dovoljena uporaba na govejih trupih v koncentraciji 2 do 5 % in od 2018 je bila ocenjena varnost uporabe na svinjini (EFSA, 2018). Prav tako obe agenciji definirata uporabo perocetne kisline – FSIS (2021) priporoča uporabo koncentracije do 2000 ppm za potapljanje, razprševanje, spiranje. EFSA (2014) pa priporoča uporabo do 2000 ppm za potapljanje trupov do treh minut in do 230 ppm za potapljanje trupov 1 do 2 uri. Za razprševanje naj bi tretiranje trajalo do 10 s s koncentracijo perocetne kisline med 400 in 700 ppm.

Tako smo testirali občutljivost izbranih sevov bakterij *Campylobacter* na 10 % raztopino mlečne kisline (MK₁₀) ter 0,5 % in 1 % raztopino perocetne kisline (PA_{0,5}, PA₁). Perocetna kislina je izkazala boljše delovanje kot mlečna kislina in bolje je delovala 1 % raztopina. PA₁ je pod mejo zaznavnosti zmanjšala število petih aerosenzitivnih sevov in enega aerotolerantnega ter v povprečju zmanjšala število aerosenzitivnih sevov za 4,57 log CFU/mL in aerotolerantnih za 4,68 log CFU/mL. PA_{0,5} je pod mejo zaznavnosti zmanjšala število treh aerosenzitivnih sevov ter v povprečju zmanjšala število aerosenzitivnih sevov za 3,85 log CFU/mL in aerotolerantnih za 3,62 log CFU/mL. Tako je povprečno zmanjšanje števila kampilobaktrov med uporabljenimi 1 % in 0,5 % raztopino perocetne kisline 0,72 log CFU/mL za aerosenzitivne in 1,06 log CFU/mL za aerotolerantne seve, kar predstavlja več kot 80 % in 90 % povečanje delovanja perocetne kisline ob uporabi večje koncentracije. MK₁₀ je bila manj učinkovita, vendar je tudi ta dosegla več kot 1 log CFU/mL zmanjšanje, kar že predstavlja več kot 90 % zmanjšanje števila prisotnih kampilobaktrov.

3.2 POVEČANA KONCENTRACIJA KISIKA V MODIFICIRANI ATMOSFERI

Perutninsko meso je hitro pokvarljivo živilo, kjer prevlada mikrobiološki kvar. Zato je pakiranje v modificirano atmosfero (MAP) dobra metoda za zaviranje rasti bakterij. V Preglednici 3 so navedeni glavni plini, ki se uporabljajo in njihovi učinki.

Preglednica 3: Plini, uporabni pri MAP in njihovi učinki (Rao in Sachindra, 2002; Meredith in sod., 2014)

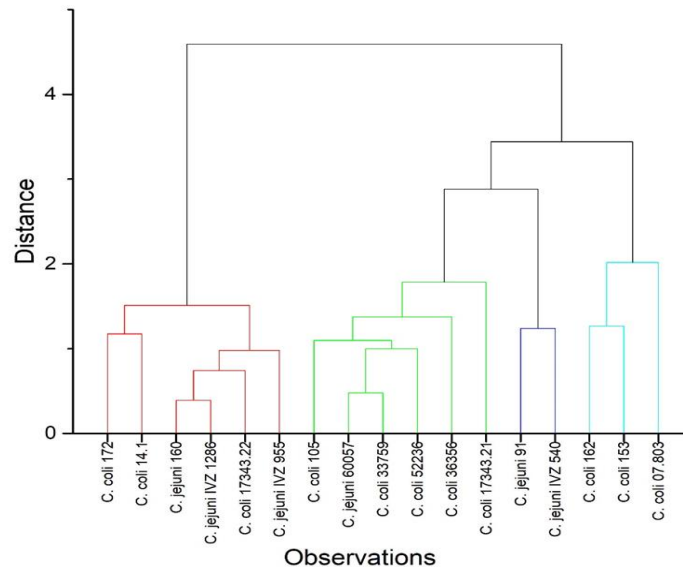
Plin	Učinek
O ₂	ohranjanje barve rdečega mesa, oksidacija maščobe, zaviranje rasti anaerobnih bakterij
CO ₂	zaviranje rasti aerobnih bakterij, povzroča kolaps embalaže
N ₂	inertni plin, ohranja obliko embalaže

MAP perutninskega mesa je dobra metoda za zatiranje rasti aerobnih kvarljivcev, kot so bakterije *Pseudomonas*. Psihrotrofne fermentativne bakterije, kot so mlečnokislinske bakterije, so manj občutljive na CO₂, prav tako bakterije družine Enterobacteriaceae. Podatki o učinkih različnih kombinacij plinov za zmanjšanje števila kampilobaktrov so omejeni in optimalna kombinacija plinov za eliminacijo kampilobaktrov ni znana. Podjetje Air Products (2022), ki je specializirano za plinske mešanice in MAP, priporoča za zmanjšanje bakterij *Campylobacter* mešanico 70 % O₂ in 30 % CO₂.

V našem delu smo testirali občutljivost izbranih sevov bakterij *Campylobacter* na povečano koncentracijo kisika v modificirani atmosferi (MAP-O₂). Uporabili smo mešanico plinov 70 % O₂ in 30 % CO₂. MAP-O₂ je v povprečju zmanjšalo število aerosenzitivnih kampilobaktrov za 1,96 log CFU/mL in aerotolerantnih za 0,89 log CFU/mL. Primerljive podatke so dobili tudi v drugih študijah (Boysen in sod., 2007).

4 POVEZAVA AEROSENZITIVNOSTI IN OBČUTLJIVOSTI NA TEHNIKE DEKONTAMINACIJE PIŠČANČJEGA MESA

Da bi povezali občutljivost kampilobaktrov na kisik z učinkovitostjo šibkih kislin, smo pridobljene rezultate uporabili za analizo glavnih komponent in hierarhično razvrščanje. Ta analiza je seve razdelila v štiri skupine (Slika 1). Prva delitev sevov je bila glede na aerotoleranco (rdeča – aerotolerantni; zelena, temno modra in svetlo modra – aerosenzitivni), nato je sledila delitev znotraj aerosenzitivnih sevov na tiste, pri katerih MAP nima večjega vpliva (zelena in temno modra) ter na tiste, ki jih MAP zmanjša v večji meri (svetlo modra). Znotraj skupine sevov, na katere MAP nima bistvenega vpliva, se sevi razdelijo v 2 skupini glede na občutljivost na perocetno kislino (zelena – zmanjšanje, temno modra – inaktivacija). Za bolj jasno določitev korelacij bi morali izvesti poskus z večjim številom sevov. Kljub temu naši rezultati kažejo, da so aerotolerantni sevi tudi manj občutljivi na perocetno kislino, ki velja za močen oksidant. Aerotolerantni sevi so bolj odporni na oksidante, kot sta vodikov peroksid in perocetna kislina (Oh in sod., 2015). Verjetno je povečana odpornost na aerobne razmere povezana s povečano aktivnostjo encimov za zaščito pred oksidativnim stresom, ker lahko poveča tudi sposobnost razgradnje perocetne kisline, ki je mešanica peroksida in očetne kisline. To podpira tudi povečano preživetje aerotolerantnih sevov po izpostavljenosti različnim vrstam oksidantov (Oh in sod., 2015).



Slika 1: Rezultati hierarhičnega razvrščanja bakterij *Campylobacter* v skupine

5 ZAKLJUČEK

Delovanje metod za zmanjšanje števila kampilobaktrov je odvisna od občutljivosti mikrobnega seva, prisotnosti drugih mikroorganizmov, sestave živila, uporabljene koncentracije in sestave protimikrobnega sredstva, kontaktnega časa ter časa in temperature skladiščenja. Predstavljene tehnike za zmanjšanje števila kampilobaktrov na perutninskem mesu predstavljajo učinkovite metode za njihov nadzor, ki lahko izboljšajo mikrobiološko varnost in kakovost izdelka. Učinkovitost metod je potrebno dodatno testirati v industrijskih pogojih in analizirati tudi vpliv na celotno mikrobioto perutninskega mesa, kemijske in senzorične analize.

6 ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujejo podjetju Hygienicum GmbH v Grazu za možnost izvajanja in sofinanciranja eksperimentov. Raziskava je bila podprta tudi s sredstvi ARRS (P4-0116 in J4-2542).

7 VIRI

- Air Products. 2022. Freshline ® Solutions find out your optimum gas mix... Raw Poultry and Game. https://microsites.airproducts.com/com/map_selector/results/Raw_Poultry_and_Game.htm (maj 2022).
- Alter T., Scherer K. 2006. Stress response of *Campylobacter* spp. and its role in food processing. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 53, 8: 351-357
- Atack J. M., Kelly D. J. 2009. Oxidative stress in *Campylobacter jejuni*: responses, resistance and regulation. *Future Microbiology*, 4, 6: 677-690
- Bolder N. M. 1997. Decontamination of meat and poultry carcasses. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 7: 221-227
- Bolton D. J. 2015. *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiology*, 48: 99-108
- Boysen L., Knøchel S., Rosenquist H. 2007. Survival of *Campylobacter jejuni* in different gas mixtures. *FEMS Microbiology Letters*, 266, 2: 152-157

- Coşansu S., Ayhan K. 2010. Effect of lactic acid and acetic acid treatments on *Campylobacter jejuni* inoculated onto chicken leg and breast meat during storage at 4 °C and -18 °C. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34: 98-113
- EFSA. 2014. Scientific opinion on the evaluation of the safety and efficacy of peroxyacetic acid solutions for reduction of pathogens on poultry carcasses and meat. *EFSA Journal*, 12, 3: e3599, <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2014.3599>: 60 str.
- EFSA. 2018. Scientific opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid and acetic acids to reduce microbiological surface contamination on pork carcasses and pork cuts. *EFSA Journal*, 16, 12, e5482, <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2018.5482>: 76 str.
- EFSA, ECDC. 2021. The European Union one health 2019 zoonoses report. *EFSA Journal*, 19, 2: e6406, <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2021.6406>: 286 str.
- FSIS. 2021. Directive 7120.1, Revision 56: Safe and suitable ingredients used in the production of meat, poultry and egg products. Washington, USDA, Food Safety and Inspection Service: 7 str.
- Gölz G., Kittler S., Malakauskas M., Alter T. 2018. Survival of *Campylobacter* in the food chain and the environment. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5: 126-134
- Gonzalez-Fandos E., Maya N., Martínez-Laorden A., Perez-Arnedo I. 2020. Efficacy of lactic acid and modified atmosphere packaging against *Campylobacter jejuni* on chicken during refrigerated storage. *Foods*, 9, 1: 109, doi: 10.3390/foods9010109, 15 str.
- Humphrey T., O'Brien S., Madsen M. 2007. *Campylobacters* as zoonosis pathogens: a food production perspective. *International Journal of Food Microbiology*, 117, 3: 237-57
- Kim J., Park H., Kim J., Kim J. H., Jung J. I., Cho S., Ryu S., Jeon B. 2019. Comparative analysis of aerotolerance, antibiotic resistance, and virulence gene prevalence in *Campylobacter jejuni* isolates from raw chicken and duck meat in South Korea. *Microorganisms*, 7, 10: 433, doi: 10.3390/microorganisms7100433: 13 str.
- Kumar S., Singh M., Cosby D. E., Cox N. A., Thippareddi H. 2020. Efficacy of peroxy acetic acid in reducing *Salmonella* and *Campylobacter* spp. populations on chicken breast fillets. *Poultry Science*, 99, 5: 2655-2661
- Meredith H., Walsh D., McDowell D. A., Bolton D. J. 2013. An investigation of the immediate and storage effects of chemical treatments on *Campylobacter* and sensory characteristics of poultry meat. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 2, 309-315
- Oh E., McMullen L., Jeon B. 2015. High prevalence of hyper-aerotolerant *Campylobacter jejuni* in retail poultry with potential implications in human infection. *Frontiers in Microbiology*, 12, 6: 1263, doi: 10.3389/fmicb.2015.01263: 8 str.
- Oh E., Chui L., Bae J., Li V., Ma A., Mutschall S. K., Taboada E. N., McMullen L. M., Jeon B. 2018. Frequent implications of multistress-tolerant *Campylobacter jejuni* in human infections. *Emerging Infectious Diseases*, 24, 6: 1037-1044
- Oh E., Andrews K. J., McMullen L. M., Jeon B. 2019. Tolerance to stress conditions associated with food safety in *Campylobacter jejuni* strains isolated from retail raw chicken. *Scientific Reports* 9, 1: 11915, doi: 10.1038/s41598-019-48373-0: 9 str.
- Rao D. N., Sachindra N. M. 2007. Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products. *Food Reviews International*, 18, 4: 263-293
- Soro A. B., Whyte P., Bolton D. J., Tiwari B. K. 2020. Strategies and novel technologies to control *Campylobacter* in the poultry chain: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 4: 1353-1377
- Uredba Komisije (EU) 2017/1495 z dne 23. avgusta 2017 o spremembi Uredbe (ES) št. 2073/2005 glede kampilobakterja v truplih brojlerjev. 2017. Uradni list Evropske Unije, L218: 1-

VPLIV FERMENTACIJE NA NEKATERE PREHRANSKO POMEMBNE KOMPONENTE PSEVDŽIT

Mateja STIPIČ¹, Jasna BERTONCELJ², Petra TERPINC³

Povzetek: Psevdožita odlikujejo lastnosti kot so velika vsebnost beljakovin, prehranske vlaknine, vitaminov, mineralov in fenolnih spojin z možnim antioksidativnim delovanjem. Zaradi majhne vsebnosti maščob in nizkega glikemičnega indeksa so lahko del uravnotežene prehrane ter tako zmanjšujejo tveganje za nastanek kroničnih nenalezljivih bolezni. Ker ne vsebujejo glutena, so psevdožita primerna tudi za prehrano bolnikov s celiakijo. Ugodno hranilno sestavo psevdožit omejujejo netopne fenolne spojine, ki so vezane na celični matriks, s čimer je omejeno tudi njihovo antioksidativno delovanje. Prisotnost fitinske kisline v psevdožitih povzroča zmanjšano absorpcijo nekaterih mineralov v prebavnem traktu, kar lahko negativno vpliva na preskrbo telesa z minerali. Eden izmed postopkov, ki vodijo v izboljšanje hranilne vrednosti psevdožit, je fermentacija. Ta ugodno vpliva na sproščanje fenolnih spojin iz celičnega matriksa in posledično na povečanje antioksidativnega delovanja, kot tudi na zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline in s tem boljše razpoložljivost mineralov. Nadalje se v zrnih spremeni struktura prehranske vlaknine in razmerje med netopno in topno prehransko vlaknino. Med postopki, s katerimi lahko potrošniki sami v domačem gospodinjstvu izboljšajo prehransko vrednosti ajde, amaranta in kvinoje, na osnovi rezultatov naše raziskave priporočamo uporabo neaktivnega kislega testa in 48-urno fermentacijo pri 30 °C.

Ključne besede: psevdožita, fermentacija, fenolne spojine, antioksidanti, fitinska kislina, prehranska vlaknina

THE IMPACT OF FERMENTATION ON SOME IMPORTANT NUTRITIONAL COMPONENTS OF PSEUDOCEREALS

Abstract: Pseudocereals are distinguished by their high content of protein, dietary fibre, vitamins, minerals and phenolic compounds with possible antioxidant activity. Due to their low fat content and low glycemic index, they can be a part of a balanced diet and can reduce the risk of chronic non-communicable diseases. As they are gluten-free, they are also suitable for patients with celiac disease. The favourable nutritional composition of pseudocereals is limited by the insoluble form of phenolic compounds and their binding to the cell matrix, which also limits their antioxidant activity. The presence of phytic acid reduces the absorption of certain minerals in the digestive tract, which can lead to mineral deficiency. One of the processes that improve the nutritional value of pseudocereals is fermentation. It has a beneficial effect on the release of phenolic compounds from the cell matrix, resulting in an increased antioxidant activity, as well on decreased phytic acid content and thus better mineral availability. It can also change the structure of dietary fibre and the ratio between insoluble and soluble dietary fibre. Among the procedures that consumers themselves can use at home to improve the nutritional value of buckwheat, amaranth and quinoa, our research recommends the use of inactive sourdough and fermentation at 30 °C for 48 hours.

Key words: pseudocereals, fermentation, phenolic compounds, antioxidants, phytic acid, dietary fibre

¹ Mag. inž. živ., e-mail: mateja.stipic@gmail.com

² Izr. prof. dr., Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: jasna.bertoncelj@bf.uni-lj.si

³ Doc. dr., Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: petra.terpinc@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Psevdožita so dvokaličnice (*Dicotyledoneae*), ki v prehrani predstavljajo alternativo klasičnim vrstam žit (Alvarez-Jubete in sod., 2009). Najbolj znani predstavniki psevdožit so ajda, kvinoja in amarant. Imajo ugodno hranilno vrednost ter predstavljajo dober vir beljakovin, prehranske vlaknine in fenolnih spojin s sposobnostjo antioksidativnega delovanja (Vollmannová in sod., 2013). Za predelavo in uživanje so psevdožita zanimiva tudi zato, ker ne vsebujejo glutena (Martínez-Villaluenga in sod., 2020).

Večinski delež fenolnih spojin psevdožit se nahaja v zunanjem delu zrn (Repo-Carrasco-Valencia, 2017). Največ fenolnih spojin vsebuje ajda, ki ima hkrati tudi najvišji antioksidativni potencial (Gorinstein in sod., 2007). Vsebuje veliko flavonoidov v kalčku zrna, v alevronski plasti pa se nahajajo vezane in proste fenolne kisline (Naczki in Shahidi, 2006). Kvinoja in amarant vsebujeta predvsem flavonoide in proste fenolne kisline (Klimczak in sod., 2002; Carciochi in sod., 2016). Največja omejitev pri dostopnosti fenolnih spojin iz psevdožit predstavlja njihova netopna oblika kot posledica interakcije s celičnim matriksom (Dey in sod., 2016). Zaradi povečanega delovanja endogenih in eksogenih encimov, lahko pride med fermentacijo do razpada celične stene (Adebo in Medina-Meza, 2020). S tem se fenolne spojine sprostijo, poveča pa se tudi njihov antioksidativni potencial (Dey in sod., 2016).

Psevdožita imajo nizek glikemični indeks ter majhen delež maščob (Rollán in sod., 2019), zato so primerna za bolnike s kroničnimi nenalezljivimi boleznimi, zmanjšujejo tveganje za njihov nastanek in lahko učinkovito nadomestijo klasična žita v prehrani (Ciudad-Mulero in sod., 2019). Prehranska vlaknina se v psevdožitih nahaja pretežno v zunanjem delu zrn. V veliki meri jo sestavljajo celuloza, lignin in necelulozni polisaharidi (Békés in sod., 2017), amarant pa vsebuje tudi razvejane ksiloglukane in pektine (Martínez-Villaluenga in sod., 2020). Med fermentacijo lahko prihaja do sprememb v sestavi prehranske vlaknine, pri čemer se v psevdožitih največkrat poveča vsebnost skupne in topne prehranske vlaknine (Rizzello in sod., 2016; Zhao in sod., 2017).

Enega izmed negativnih prehranskih vidikov psevdožit predstavlja vsebnost fitinske kisline. Ta tvori stabilne, netopne komplekse z nekaterimi minerali in s tem zavira njihovo absorpcijo v prebavnem traktu. Vsebnost ter sočasno negativne učinke fitinske kisline je mogoče zmanjšati z nekaterimi postopki obdelave živil (Castro-Alba in sod., 2019). Med učinkovite postopke za zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline spada fermentacija, ki povzroči znižanje vrednosti pH ter oblikuje optimalne pogoje za delovanje encimov fitaz (Hammes in sod., 2005).

2 MATERIALI IN METODE

2.1 PRIPRAVA VZORCEV IN FERMENTACIJA PSEVDOŽIT

V raziskavo smo vključili psevdožita ajdo, kvinojo in amarant. Fermentirali smo jih spontano, z dodatkom suhega pekovskega kvasa, neaktivnega suhega pšeničnega kislega testa ter z dodatkom mešane starterske kulture mlečnokislinskih bakterij in kvasovk (LV1). Semena psevdožit smo pregledali in homogenizirali. Takšna semena smo zatehtali, dodali vodo v razmerju 1:1,5 ter vzhajalno sredstvo po navodilih proizvajalca. Vzorce smo fermentirali v

termostatirani komori v štirih različnih časovnih in temperaturnih režimih: 24 h pri 20 °C, 48 h pri 20 °C, 24 h pri 30 °C ter 48 h pri 30 °C. Da je fermentacija zares potekla, smo se prepričali vizualno preko tvorbe mehurčkov CO₂ in senzorično zaradi vonja po kislinah. Fermentirane vzorce smo liofilizirali ter jim določili vsebnost vode.

2.2 PRIPRAVA EKSTRAKTOV FENOLNIH SPOJIN

Ekstrakcijo fenolnih spojin s pomočjo metanola smo opravili tako, da smo vzorcem semen dodali metanol v ustreznem razmerju ter stresali falkon epruvete na stresalniku. Takšne ekstrakte smo centrifugirali in shranili supernatant. Ekstraktom smo v nadaljevanju določili vsebnost ekstraktabilnih fenolnih spojin v fermentiranih vzorcih psevdožit.

2.3 DOLOČITEV VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN

Vsebnost skupnih (ekstraktabilnih) fenolnih spojin v vzorcih smo določili s Folin-Ciocalteujevo metodo, ki temelji na redukciji reagenta in ovrednotenju modro obarvanega kompleksa z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 765 nm. Višja kot je izmerjena vrednost absorbance, večja je v vzorcu vsebnost fenolnih spojin (Gutfinger, 1981).

Pri analizi smo uporabili destilirano vodo (1300 µL) in razredčen Folin-Ciocalteujev reagent (300 µL), ki smo ju dodali ustrezno razredčenemu metanolnemu ekstraktu vzorca. Mešanici smo dodali 300 µL Na₂CO₃ ter jo inkubirali v temi 1 h. Absorbanco mešanice smo izmerili s pomočjo spektrofotometra pri valovni dolžini 765 nm. Vsebnost fenolnih spojin smo izrazili kot ekvivalent klorogenske kisline v 1 g suhe snovi.

2.4 DOLOČITEV ANTIOKSIDATIVNE UČINKOVITOSTI

Antioksidativno učinkovitost fermentiranih vzorcev smo določili z DPPH metodo, ki temelji na reakciji radikala DPPH ter antioksidanta iz vzorca. Radikal DPPH, ki absorbira svetlobo pri valovni dolžini 517 nm, ulovi vodikov atom, ki ga odda antioksidant. DPPH se reducira v DPPH-H obliko, vrednost absorbance pa se zmanjša. Večje zmanjšanje vrednosti absorbance pomeni večjo antioksidativno učinkovitost (Brand-Williams in sod., 1995).

Za določitev antioksidativne učinkovitosti vzorcev smo odpipetirali 1000 µL 0,2 mM raztopine radikala DPPH, mu dodali 800 µL metanola, v določenih časovnih zamikih pa še 200 µL ustrezno redčenega metanolnega ekstrakta vzorca. Potekala je 1 h inkubacija pri sobni temperaturi v temi. Pripravljeno mešanico smo centrifugirali 3 min (13000 obr./min) ter ji izmerili absorbanco pri valovni dolžini 517 nm proti slepemu vzorcu (99,9 % metanol). Pripravili smo tudi referenčni vzorec, za katerega smo zmešali ustrezno količino metanola in delovne raztopine DPPH (0,2 mM). Nadaljnji postopek je potekal enako kot za analizo vzorcev.

Vsebnost antioksidantov v vzorcu smo podali kot ekvivalent troloksa v 1 g suhe snovi.

2.5 DOLOČITEV VSEBNOSTI FITINSKE KISLINE

Za določitev vsebnosti fitinske kisline v fermentiranih vzorcih smo izvedli indirektno spektrofotometrično metodo, ki temelji na ekstrakciji fitinske kisline s pomočjo klorovodikove

kislina HCl. Ob dodatku FeCl_3 znane koncentracije v prebitku, se fitinska kislina v vzorcu obori. Njeno vsebnost je mogoče določiti posredno preko prebitne količine FeCl_3 . Železovi ioni in bipiridin tvorijo kompleks, ki absorbira pri valovni dolžini 540 nm. Koncentracija kompleksa Fe(II)-2,2-bipiridin in vsebnost fitinske kisline v vzorcu sta tako obratno sorazmerni (Haug in Lantzsch, 1983).

Zatehti 1 g liofiliziranega vzorca smo dodali 1 mL 1 M klorovodikove kisline HCl. Mikrocentrifugirko z vsebino smo 45 min termostatirali v vodni kopeli s temperaturo 100 °C ter jo mešali v 5 min intervalih. Po termostatiranju smo vsebino centrifugirali 5 min (13000 obr./min). Supernatantu (500 µL) smo dodali ustrezno količino destilirane vode, nato pa odvezli 400 µL ter mešanici dodali 800 µL raztopine FeCl_3 . Vsebino smo ponovno termostatirali 45 min pri 100 °C, nato ohladili ter centrifugirali 5 min (13000 obr./min). Supernatant (600 µL) smo odpipetirali, dodali ustrezno količino bipiridina ter pri sobni temperaturi mešanico inkubirali 15 min. Absorbanco mešanice smo izmerili pri valovni dolžini 540 nm. Maso fitinske kisline smo izrazili v mg/g suhe snovi.

2.6 DOLOČITEV VSEBNOSTI PREHRANSKE VLAKNINE

Z encimsko-gravimetrično metodo AOAC 991.43 smo v fermentiranih vzorcih določili vsebnost netopne in topne prehranske vlaknine. Metoda temelji na gravimetrični določitvi ostanka prehranske vlaknine, ki sledi encimski razgradnji škroba in beljakovin vzorca.

Analiziranemu vzorcu (1 g) smo dodali 40 mL pufru MES/TRIS. Za encimsko razgradnjo smo mešanici vzorca dodali 50 µL raztopine encima alfa-amilaze. Suspenzijo smo inkubirali 30 min v vodni kopeli s temperaturo 95-100 °C ob stalnem mešanju z magnetnim mešalom. Po inkubaciji smo suspenzijo ohladili do 60 °C ter ji dodali 50 µL raztopine encima proteaze. Falcon epruveto s suspenzijo smo 30 min stresali v vodni kopeli s temperaturo 60 °C, nato pa ji dodali 5 mL 0,56 M klorovodikove kisline. pH vrednost smo uravnali na 4,0-4,7 s pomočjo pH metra in dodatka 5 % raztopine NaOH. Za tem smo dodali 150 µL raztopine encima amiloglukozidaze ter vsebino stresali 30 min v vodni kopeli s temperaturo 60 °C. Tako pripravljeno suspenzijo vzorca smo filtrirali preko filtrirnega lončka v presesalno bučo s pomočjo vakuumske črpalke. Filtrat smo stekali, presesalno bučo pa trikrat sprali s štirikratno maso 95 % etanola temperature 60 °C in ga dodali filtratu. Pokrite erlenmajerice z vsebino smo pustili obarjati 1 h.

Falcon epruveto od razgradnje vzorca smo trikrat sprali s 15 mL 78 % etanola, dvakrat z 10 mL 95 % etanola in trikrat z 10 mL acetona ter prelili preko filtrirnega lončka na presesalni buči, ob delovanju vakuumske črpalke. Filtrirni lonček smo sušili 5 h pri 105 °C v sušilniku, ohladili in stekali. Masa ostanka v lončku predstavlja maso netopne prehranske vlaknine analiziranega fermentiranega vzorca. Filtrat, ki smo ga obarjali 1 h smo prelili preko svežega filtrirnega lončka ter prav tako spirali z etanolom in acetonom. Ponovno smo filtrirni lonček sušili 5 h pri 105 °C, ga ohladili in stekali. Masa ostanka v filtrirnem lončku predstavlja maso topne prehranske vlaknine vzorca. Obe dobljeni masi (topne in netopne prehranske vlaknine) smo korigirali na vsebnost pepela in na vsebnost beljakovin.

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

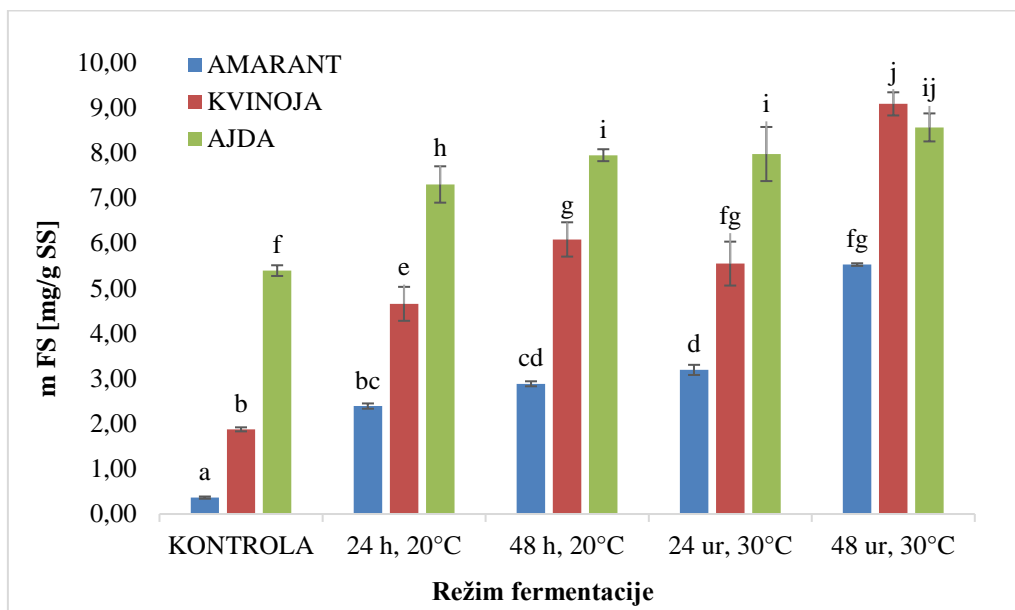
Izmed vseh načinov fermentacije se je za najboljšega izkazala fermentacija z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa, zato v nadaljevanju predstavljamo le rezultate analiz vzorcev, ki so bili fermentirani z dodatkom omenjenega sredstva.

Kislo testo nastane, ko mešanico moke in vode fermentirajo naravno prisotni mikroorganizmi ali pa selektivno izbrani sevi bakterij z ali brez dodatka kvasovk. Prisotni mikroorganizmi definirajo kakovost končnega izdelka. V procesu nastajanja kislega testa se aktivirajo endogeni encimi žit, vsebnost organskih kislin in sekundarnih metabolitov pa se poveča tudi na račun mikrobiološke aktivnosti. Zakisanje testa med fermentacijo dodatno izboljša aktivnost endogenih encimov (Gänzle, 2014). Posledično prihaja do biokemijskih sprememb substrata, pri čemer se določene spojine razgradijo ali zgolj raztopijo v tekoči fazi, druge bioaktivne spojine pa polimerizirajo ali vstopajo v nadaljnje reakcije, ki vodijo v nastanek novih metabolitov. Fermentacija je pomembna tudi z vidika nastanka spojin kot so aminokisliline, vitamini, gama-aminomaslena kislina, ekstracelularni polisaharidi itd. (Rollán in sod., 2019). Sočasno vsebnost nekaterih antinutrientov precej upade. Zhao in sod. (2017) so v pšeničnih otrobih fitinsko kislino najučinkoviteje razgradili s sočasno prisotnostjo mlečnokislinskih bakterij in kvasovk, nato z mlečnokislinskimi bakterijami, najmanj pa so bili učinkoviti s samimi kvasovkami. Ker so bili vzorci pred fermentacijo sterilizirani, se je vpliv endogenih fitaz izničil, deleži hidrolize so bili relativno nizki in neodvisni od vrednosti pH, saj je bil upad fitinske kisline izključno posledica aktivnosti mikrobnih fitaz.

K izboljšani biodostopnosti fenolnih kislin po fermentaciji vpliva tudi modifikacija strukture prehranske vlaknine in povečana vsebnost topne vlaknine. Slednja je odličen substrat za feruloil esteraze, ki omogočajo sprostitve fenolnih spojin iz vezanih oblik (Hole in sod., 2012). Presnova fenolnih kislin v mlečnokislinskih bakterijah poteka s pomočjo reduktaz in dekarboksilaz. Hidroksibenzojske in hidroksicimetne kisline se dekarboksilirajo v ustrezne fenolne ali vinilne derivate. Hidroksicimetne kisline in njene derivate lahko pretvarjajo tudi reduktaze, ki hidrogenirajo dvojno vez. Fermentacijski proces z različnimi vrstami mikroorganizmov vključuje različne encimske reakcije, kar vodi k sproščanju različnih fenolnih spojin s specifičnim antioksidativnim delovanjem. Pretvorba fenolnih kislin je specifična za vsak sev (Gänzle, 2014; Gobbetti in sod., 2020).

3.1 VPLIV FERMENTACIJE NA VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN V PSEVDOŽITIH

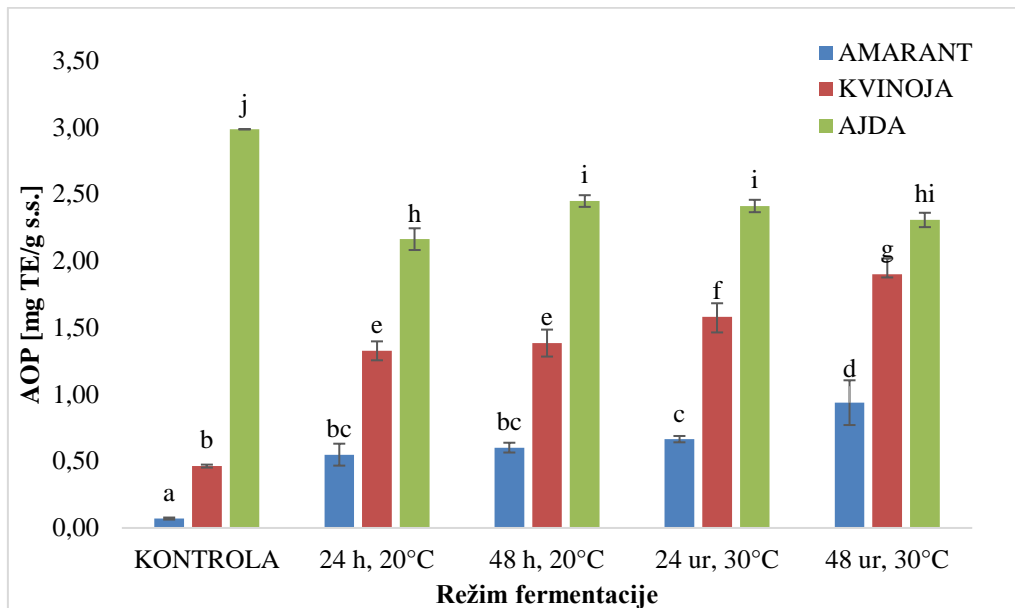
Fermentacija z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa je vplivala na povečanje vsebnosti fenolnih spojin vseh analiziranih psevdožit v primerjavi s kontrolnim vzorcem (Slika 1). Daljši čas in višja temperatura fermentacije sta imela boljši vpliv na povečanje vsebnosti fenolnih spojin. Med 48 h fermentacijo pri temperaturi 30 °C se je v amarantu in kvinoji vsebnost fenolnih spojin najbolj povečala, pri ajdi pa med režimi fermentacije 48 h/20 °C, 24 h/30 °C in 48 h/30 °C v naraščanju vsebnosti fenolnih spojin ni bilo razlik.



Slika 1: Sprememba vsebnosti fenolnih spojin v psevdožitih med fermentacijo z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa. Srednje vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo.

3.2 VPLIV FERMENTACIJE NA ANTIOKSIDATIVNI POTENCIAL PSEVDOŽIT

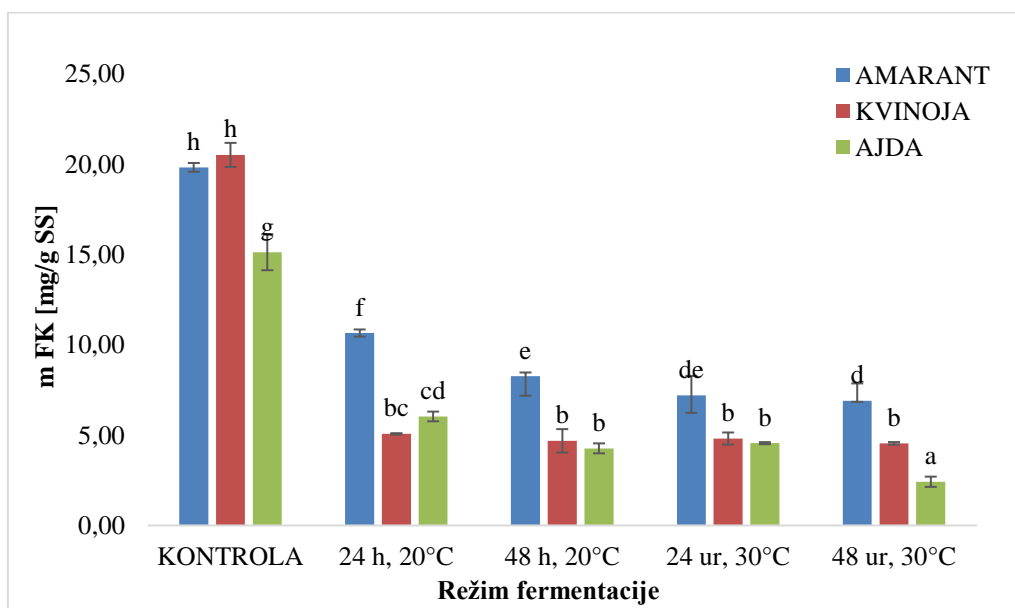
Fermentacija z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa je vplivala na porast antioksidativnega potenciala amaranta (Slika 2). Ta je bil največji po 48 h fermentacije pri 30 °C in je znašal 0,94 mg TE/g s.s. Na antioksidativni potencial kvinoje je najbolj ugodno vplivala 48 h fermentacija pri temperaturi 30 °C. Maksimalna vrednost je znašala 1,90 mg TE/g s.s. Drugače je bilo pri ajdi, kjer se je med fermentacijo njen antioksidativni potencial v primerjavi s kontrolnim vzorcem zmanjšal, med različnimi režimi pa ni bilo statistično značilnih razlik.



Slika 2: Sprememba antioksidativnega potenciala psevdžit med fermentacijo z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa. Srednje vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo.

3.3 VPLIV FERMENTACIJE NA VSEBNOST FITINSKE KISLINE V PSEVDOŽITIH

Fermentacija z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa je pozitivno vplivala na zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline pri vseh režimih in v vseh psevdžitih (Slika 3). V amarantu se je vsebnost fitinske kisline med 48 h fermentacijo pri temperaturi 30 °C zmanjšala za 65 %, v kvinoji pa se je vsebnost za 75 % zmanjšala že po 24 h pri 20 °C. Pri ajdi je daljša fermentacija pri višji temperaturi povzročila razgradnjo 84 % fitinske kisline.



Slika 3: Sprememba vsebnosti fitinske kisline v psevdžitih med fermentacijo z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa. Srednje vrednosti z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo.

3.4 VPLIV FERMENTACIJE NA VSEBNOST PREHRANSKE VLAKNINE V PSEVDOŽITIH

Na podlagi rezultatov analiz vsebnosti fenolnih spojin, antioksidativnega potenciala in vsebnosti fitinske kisline smo se odločili, da analizo vsebnosti prehranske vlaknine opravimo le na vzorcih, fermentiranih 48 h pri 30 °C.

Preglednica 1 prikazuje rezultate analize vsebnosti netopne in topne prehranske vlaknine v kontrolnih vzorcih psevdožit ter v vzorcih, fermentiranih z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa. Rezultati so pokazali, da ima izmed treh analiziranih psevdožit največ netopne prehranske vlaknine ajda (97 % skupne prehranske vlaknine), najmanj pa kvinoja (83 % skupne prehranske vlaknine). Fermentacija z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa je povzročila povečanje vsebnosti netopne prehranske vlaknine v amarantu za 23 % in je tako predstavljala 96 % skupne prehranske vlaknine. Vsebnost topne prehranske vlaknine v amarantu se je med fermentacijo zmanjšala za 16 %. V kvinoji se je vsebnost netopne prehranske vlaknine med fermentacijo zmanjšala za 32 %, vsebnost topne prehranske vlaknine pa za kar 62 %. Vsebnost netopne prehranske vlaknine se je prav tako zmanjšala v ajdi (za 13 %). Obratno se je vsebnost topne prehranske vlaknine v ajdi povečala za 15 %. Vsebnost skupne prehranske vlaknine se je v ajdi zmanjšala.

Preglednica 1: Vpliv 48 h fermentacije pri temperaturi 30 °C na vsebnost netopne, topne in skupne prehranske vlaknine. Vzorci z isto nadpisano črko v posameznem stolpcu se statistično značilno ne razlikujejo.

Psevdožito	Vzorec	NPV [g/100 g]	TPV [g/100 g]	SPV [g/100 g]
AMARANT	Kontrola	7,74 ± 0,41 ^{cd}	0,62 ± 0,29 ^{abc}	8,38 ± 0,60 ^{de}
	Kislo testo	9,52 ± 0,78 ^{ef}	0,52 ± 0,07 ^{ab}	9,87 ± 0,98 ^f
KVINOJA	Kontrola	5,86 ± 0,42 ^b	1,10 ± 0,43 ^e	7,04 ± 0,90 ^{bc}
	Kislo testo	3,96 ± 0,26 ^a	1,06 ± 0,09 ^{de}	5,02 ± 0,29 ^a
AJDA	Kontrola	24,16 ± 0,65 ^h	0,67 ± 0,27 ^{abcd}	24,83 ± 0,68 ^h
	Kislo testo	20,96 ± 0,92 ^g	0,77 ± 0,20 ^{abcde}	21,73 ± 0,80 ^g

NPV: netopna prehranska vlaknina; TPV: topna prehranska vlaknina; SPV: skupna prehranska vlaknina

Neaktivno pšenično durum kislo testo, ki smo ga v suhi obliki dodali psevdožitom ob nastavitvi fermentacije, ni vsebovalo živih mikroorganizmov, zato ti k kvalitativnim in kvantitativnim spremembam vsebnosti fenolnih spojin, antioksidantov, fitinske kisline in prehranske vlaknine niso prispevali neposredno s svojim delovanjem. Predpostavljamo, da je uporaba komercialnega pripravka pripomogla k izboljšanju prehranske vrednosti psevdožit posredno, saj je ta predstavljal vir hranil ter s tem vir dodatne energije in optimalnejše pogoje delovanja za nativno mikrobioto psevdožit. Do takšnega zaključka smo prišli, ker je tovrstno tretiranje vodilo v boljše rezultate, kot če smo semena prepustili spontani fermentaciji. Dodatno je neaktivno kislo testo že prešlo prej opisane biokemijske in mikrobiološke transformacije in morebiti že samo vsebovalo manjšo količino spojin, ki smo jih določali v naši raziskavi.

4 ZAKLJUČEK

Rezultati raziskave kažejo, da daljša fermentacija (48 h) pri višji temperaturi (30 °C) z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa ugodno vpliva na povečanje vsebnosti fenolnih spojin v psevdožitih. Poleg tega fermentacija z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa povzroči povečanje antioksidativnega potenciala psevdožit. S fermentacijo psevdožit dosežemo učinkovito zmanjšanje vsebnosti fitinske kisline. Daljši čas fermentacije pomeni posledično večji razpad fitinske kisline. Sprememba vsebnosti prehranske vlaknine ter razmerja med netopno in topno prehransko vlaknino zavisi od vrste psevdožita. Pri fermentaciji z dodatkom neaktivnega komercialnega kislega testa se vsebnost netopne prehranske vlaknine v amarantu poveča, v kvinoji in ajdi pa zmanjša. Vsebnost topne prehranske vlaknine se v amarantu in kvinoji zmanjša, v ajdi pa poveča. Na podlagi pridobljenih rezultatov lahko zaključimo, da ima fermentacija odločilen vpliv na nekatere prehransko pomembne komponente psevdožit.

5 VIRI

- Adebo O. A., Medina-Meza I. G. 2020. Impact of fermentation on the phenolic compounds and antioxidant activity of whole cereal grains: A mini review. *Molecules*, 25, 4: 927, doi: 10.3390/molecules25040927: 19 str.
- Alvarez-Jubete L., Arendt E. K., Gallagher E. 2009. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 4: 240-257
- AOAC Official Method 911.43. Total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods. 1999. V: *Official methods of analysis of AOAC international*. 16th ed. Cunniff P. (ur.). Gaithersburg, AOAC International, Chapter 32: 7-9
- Békés F., Schoenlechner R., Tömösközi S. 2017. Ancient wheats and pseudocereals for possible use in cereal-grain dietary intolerances. V: *Cereal grains: Assessing and managing quality*. 2nd ed. Wrigley C., Batey I., Miskelly D. (ur.). Duxford, Woodhead Publishing: 353-388
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 1: 25-30
- Carciochi R. A., Galván-D'Alessandro., Vandendriessche P., Chollet S. 2016. Effect of germination and fermentation process on the antioxidant compounds of quinoa seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71: 361-367
- Castro-Alba V., Lazarte C. E., Perez-Rea D., Carlsson N.-G., Almgren A., Bergenståhl B., Granfeldt Y. 2019. Fermentation of pseudocereals quinoa, canihua, and amaranth to improve mineral accessibility through degradation of phytate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 11: 5239-5248
- Ciudad-Mulero M., Fernández-Ruiz V., Matallana-González M. C., Morales P. 2019. Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 90: 83-134
- Dey B. T., Chakraborty S., Jain K. K., Sharma A., Kuhad R. C. 2016. Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 53: 60-74
- Gänzle M. G. 2014. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 37: 2-10
- Gobbetti M., De Angelis M., Di Cagno R., Polo A., Rizzello C. G. 2020. The sourdough fermentation is the powerful process to exploit the potential of legumes, pseudo-cereals and milling by-products in baking industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60, 13: 2158-2173
- Gorinstein S., Medina Vargas O. J., Jaramillo N. O., Salas A. I., Martinez Ayala A. L., Arancibia-Avila P., Toledo F., Katrich E., Trakhtenberg S. 2007. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology*, 225: 321-328
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58: 966-968
- Hammes W. P., Brandt M. J., Francis K. L., Rosenheim J., Seitter M. F. H., Vogelmann S. A. 2005. Microbial ecology of cereal fermentations. *Trends in Food Science and Technology*, 16: 4-11

- Haug W., Lantzsch H.-J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34: 1423- 1426
- Hole A.S., Rud I., Grimmer S., Sigl S., Narvhus J., Sahlstrøm S. 2012. Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 25: 6369-6375
- Klimczak I., Malecka M., Pacholek B. 2002. Antioxidant activity of ethanolic extracts of amaranth seeds. *Food/Nahrung*, 46, 3: 184-186
- Martínez-Villaluenga C., Peñas E., Hernández-Ledesma B. 2020. Pseudocereal grains: Nutritional value, health benefits and current applications for the development of glutenfree foods. *Food and Chemical Toxicology*, 137: 111178, doi: 10.1016/j.fct.2020.111178: 26 str.
- Naczki M., Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523- 1542
- Repo-Carrasco-Valencia R. 2017. Dietary fibre and bioactive compounds of kernels. V: *Pseudocereals: Chemistry and technology*. 1st ed. Haros C. M., Schoenlechner R. (ur.). Chichester, John Wiley and Sons: 71-93
- Rizzello C. G., Lorusso A., Montemurro M., Gobbetti M. 2016. Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiology*, 56: 1-13
- Rollán G. C., Gerez C. L., LeBlanc J. G. 2019. Lactic fermentation as a strategy to improve the nutritional and functional values of pseudocereals. *Frontiers in Nutrition*, 6: 98, doi: 10.3389/fnut.2019.00098: 16 str
- Vollmannová A., Margitanová E., Tóth T., Timoracká M., Urminská D., Bojnanská T., Čičová I. 2013. Cultivar influence on total polyphenol and rutin contents and total antioxidant capacity in buckwheat, amaranth, and quinoa seeds. *Czech Journal of Food Sciences*, 31, 6: 589-595
- Zhao H.-M., Guo X.-N., Zhu K.-X. 2017. Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. *Food Chemistry*, 217: 28-3

ELEKTRONSKI SENZORJI ZA ANALIZO KAKOVOSTI JABOLK ZLATI DELIŠES

Rajko VIDRIH¹, Anamarije Žalik², Mira TREBAR³

Povzetek: Za zagotavljanje primerne kakovosti sadja je zelo pomembno pod kakšnimi pogoji in koliko časa ga pred uporabo shranjujemo. Uporabljajo se različni sistemi za zajem podatkov, ki omogočajo sprotno analizo in takojšnje ukrepanje ob zaznanih spremembah pogojev, ki so pomembni za kakovost in varnost živil. Razvoj senzorskih sistemov se vse bolj uveljavlja, ker predstavlja sodobne rešitve povezljivosti strojne in programske opreme na področju živilstva in prehrane. Predstavljen je senzorski sistem, ki zagotavlja podatke o temperaturi, relativni vlažnosti in koncentracijah hlapnih organskih spojin, ki jih merimo s senzorji MQ-X (MQ-3, MQ-135, MQ-136, MQ-138). Meritve so izvedene v zaprtem steklenem kozarcu z jabolki tako, da so senzorji nameščeni na pokrovu. Rezultati kažejo, da so vsi štirje senzorji zaznali spremembe koncentracij v začetnem obdobju 6 do 8 dni, nato pa so se rahlo spreminjale, razen pri senzorju MQ-136, ki se zaznaval večje spremembe do 16 dne.

Ključne besede: elektronski senzorji, etanol, benzen, H₂S, NH₃, Zlati Delišeš

ELECTRONIC SENSORS FOR GOLDEN DELICIOUS APPLE QUALITY ANALYSIS

Abstract: To ensure the proper quality of the fruit, it is very important under what conditions and how long it is stored before use. Various data acquisition systems are used, which enable real-time analysis and immediate action in the event of perceived changes in conditions that are important for food quality and safety. The development of sensor systems is gaining ground because it represents modern hardware and software connectivity solutions in the field of food and nutrition. In this work a sensor system is presented that provides data on temperature, relative humidity and concentrations of volatile organic compounds measured with MQ-X sensors (MQ-3, MQ-135, MQ-136, MQ-138). Measurements are performed on apples in a closed glass jar with sensors mounted on the lid. The results show that all four sensors detected changes in concentrations over an initial period of 6 to 8 days and then changed only slightly, except for the MQ-136 sensor, which detected major changes up to 16 days.

Key words: electronic sensors, ethanol, benzene, H₂S, NH₃, Golden Delicious

¹ prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: rajko.vidrih@bf.uni-lj.si

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za računalništvo in informatiko, Večna pot 113, Ljubljana, e-mail: echouer33@gmail.com

³ doc. dr., Univerza v Ljubljani, Fakulteta za računalništvo in informatiko, Večna pot 113, Ljubljana, e-mail: mira.trebar@fri.uni-lj.si

1 UVOD

Sadje proizvaja med zorenjem različne hlapne organske spojine, ki pomembno prispevajo k senzorični kakovosti. Vonj in okus sta zelo pomembna senzorična parametra za potrošnika, ki se glede na individualne preference odloči za nakup ali ga zavrne (Baietto in Wilson, 2015). Poleg senzorične ocene, ki jo izvede panel šolanih preizkuševalcev se za analizo hlapnih organskih spojin uporabljajo tehnično in časovno zahtevne analitske tehnike.

Razvoj robustnih, poceni in natančnih senzorjev s posebnim poudarkom na uporabi metod in razvoju aplikacij, ki so primerne za nadzor kakovosti hrane, predvsem svežih živil in proizvodov (Tan in Xub, 2020) se vse bolj uveljavlja na številnih področjih proizvodnje hrane. Poznane so elektronske rešitve (e-nose), ki posnemajo človeško zaznavanje različnih vonjev s senzorji za zaznavanje enostavnega ali kompleksnega vonja (Geethapriya in Praveena, 2017). Ena od možnih rešitev je tudi uporaba merilnih sistemov, ki zagotavljajo analizo zorenja sadja z elektrokemičnimi senzorji v realnem času (Ma in sod., 2016). Senzorski sistem omogoča spremljanje zrelosti sadja že v sadovnjaku, kar omogoči izračun datuma obiranja (Dou in sod., 2020) in napoved kakovosti sadja po obiranju (Feng in sod., 2018). Ena od rešitev je bil elektronski nos, izdelan iz osmih polprevodniških plinskih senzorjev, ki je bil uporabljen za testiranje štirih vrst koščičastega sadja (zmajevo sadje, hruška, kivi in jabolko Fuji) za hitro in poceni ugotavljanje svežine sadja v času skladiščenja.

Vse pomembnejše postaja spremljanje stadija zrelosti sadja za zagotavljanje optimalne senzorične kakovosti za potrošnike ter zaradi planiranja prodaje za prodajalce zaradi pojava kvara (Huang in sod., 2017). Elektronski nos tako predstavlja hitro in enostavno metodo za določanje kakovosti, svežine in posledično roka uporabnosti sadja in zelenjave.

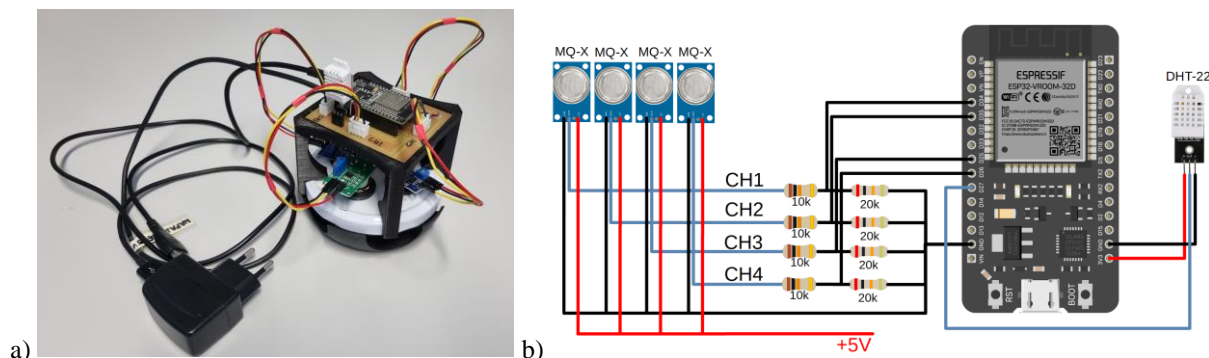
2 SENZORSKI SISTEM

Prototip senzorskega sistema (Slika 1a) sestavljajo mikrokontroler ESP32, ki je na računalnik povezan preko povezave USB, digitalna senzorja za temperaturo in vlago ter elektrokemični plinski senzorji MQ-X, ki so nameščeni na pokrovu kozarca. Zaradi velike porabe so povezani na zunanje napajanje 5V.

Slika 1b) prikazuje povezavo 4 plinskih senzorjev z oznako MQ-X⁴ na mikrokontroler ESP32⁵, ki sprejema nivo koncentracije plinov v obliki analogne napetosti od 0 do 5V. V vezju so nato uporabljeni upori kot delilniki napetosti, ki linearno preslikajo analogni signal senzorja med 0 in 5V v vrednosti med 0 in 3.3V. ESP32 nato preko analogno-digitalnega pretvornika na računalnik posreduje digitalne vrednosti kot koncentracije hlapnih organskih spojin in plinov. Temperaturo in relativno vlago v prostoru meri modul DHT-22, ki je direktno povezan na digitalni vhod mikrokontroler ESP32.

⁴ ESP32. <https://www.espressif.com/en/products/socs/esp32>

⁵ MQ-X. <https://www.open-electronics.org/presenting-mq-sensors-low-cost-gas-and-pollution-detectors/>.



Slika 1: Senzorski sistem: a) prototip z napajalnikom in povezavo USB za računalnik; b) povezava mikrokontroler ESP32 s plinskimi senzori MQ-X in modulom DHT-22 za merjenje temperature in vlage.

Senzorji MQ-X (MQ-3, MQ-135, MQ-136, MQ-138) zagotavljajo zaznavanje koncentracij plinov oz. organskih spojin:

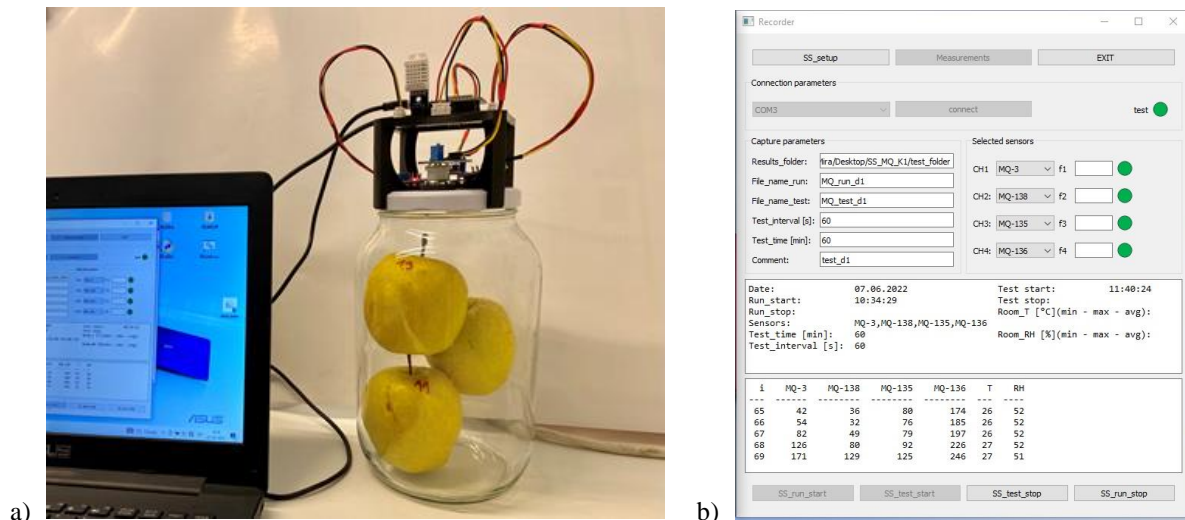
- MQ-3 je najbolj občutljiv na alkohol (etanol) z zaznavanjem koncentracij od 0,05mg/L do 10mg/L, v majhni meri pa zaznava tudi benzen. Uporablja se za analizo izdihanega alkohola v zraku.
- MQ-135 zaznava širši nabor plinov, kot so amonijak (NH_3 , zaznava od 10 do 300 ppm), alkohol zaznava od 10 do 300 ppm (etanol), benzen (zaznava od 10 do 1000 ppm), dušikove okside (NO_x), dim in ogljikov dioksid (CO_2). Uporablja se za analizo kakovosti zraka v prostoru.
- MQ-136 zaznava vodikov sulfid (H_2S) v koncentracijah od 1 do 100 ppm in se uporablja za analizo zraka v prostoru.
- MQ-138 v največji meri zaznava benzen od 10 do 1000 ppm, amonijak (NH_3) zaznava od 10 do 3000 ppm in alkohol zaznava od 10 do 1000 ppm (etanol), poleg tega pa je občutljiv tudi na dim, ogljikov monoksid (CO) in druge pline.

3 REZULTATI

Jabolka uvrščamo med klimakterijsko sadje in sodijo med manj občutljivo vrsto sadja, v hladilnicah jih lahko shranjujemo tudi več mesecev. Naš cilj je bil analizirati sproščanje hlapnih organskih spojin za obdobje 26 dni, na sobni temperaturi. S senzorskim sistemom smo izvajali meritve v zaprtem steklenem kozarcu. Zanimala nas je koncentracija hlapnih organskih spojin, ki jih pri sobni temperaturi sproščajo jabolka in jih izmerimo s senzori MQ-X.

3.1 IZVEDBA EKSPERIMENTA

V steklen kozarec, prostornine 2500 ml, smo vstavili 3 jabolka sorte Zlati delišes in ga zaprli s pokrovom, na katerem je bil nameščen senzorski sistem (slika 2a). Testiranje je potekalo 60 minut s konstantnim intervalom zajemanja meritev 1 minute v obdobju od 14. 3. 2022 do 8. 4. 2022, ob ponedeljkih, sredah in petkih na Biotehniški fakulteti. Pri vsaki meritvi sta bili izmerjeni tudi temperatura ter relativna vlaga prostora. Podatki so bili preko povezave USB shranjeni na računalniku za nadaljnjo analizo.



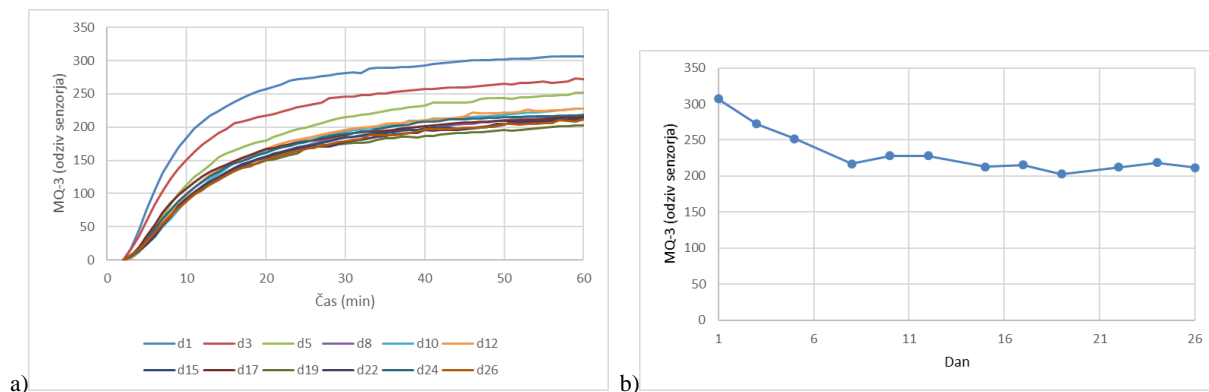
Slika 2: Izvedba eksperimenta za zajem senzorskih meritev: a) Izvajanje meritev v zaprtem kozarcu s tremi jabolkami poteka 60 min, b) Grafični vmesnik senzorskega sistema s prikazom delovanja in meritev.

Senzorski sistem se najprej poveže na napajanje in računalnik, nato pa je njegovo delovanje pred izvedbo eksperimenta potrebno definirati v namizni aplikaciji (Slika 2b). Določiti je potrebno mesto in imeni datotek za shranjevanje meritev, nastavitve intervala za zajem senzorskih meritev, čas trajanja meritve in morebiten komentar.

Programska oprema omogoča zajem meritev senzorjev. Sestavljena je iz naslednjih gradnikov: *SS setup* (inicializacija sistema); *Measurements* (grafični prikaz meritev); *Connection parameters* (Omogoča izbiro vrat na katerih se nahaja priključitev, Gumb *connect* zagotovi povezavo računalnika z napravo SS-MQ, Statusni semafor sporoča stanje sistema pri vzpostavljeni povezavi in informacije stanja pri zajemu meritev); *Selected sensors* (senzorji MQ-3, MQ-135, MQ-136, MQ-138); Okno za prikaz nastavitve merjenja (interval zajema meritev in čas testiranja) in meritev vlage in temperature okolice; Prikaz posodobljenih zadnjih 5 meritev senzorjev; Gumbi za začetek in konec izvajanja meritev: 1) *Run* (Celotno območje zajema meritev od vklopa do izklopa sistema), 2) *Test* (Območje zajema meritev plinov v zaprtem kozarcu).

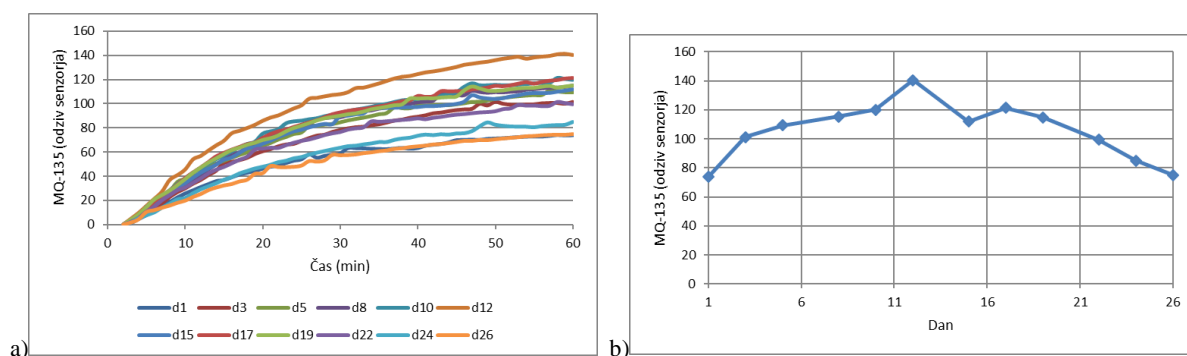
3.2 REZULTATI IN ANALIZA MERITEV

Senzorski sistem je bil postavljen v laboratoriju, kjer sta bili v času testiranja, to je 26 dni, povprečna izmerjena temperatura $20^{\circ}\text{C} < T < 23^{\circ}\text{C}$ in relativna vlaga $25\% < RH < 30\%$. Slika 3.a prikazuje potek izmerjene koncentracije etanola (senzor MQ-3) v obdobju posamezne meritve, slika 3.b pa ponazarja končne izmerjene vrednosti posameznega testa za celoten eksperiment. Prvih 8 dni se koncentracija etanola zmanjšuje od 300 do 210 enot in se v nadaljevanju ustali in znaša povprečno 225 enot.



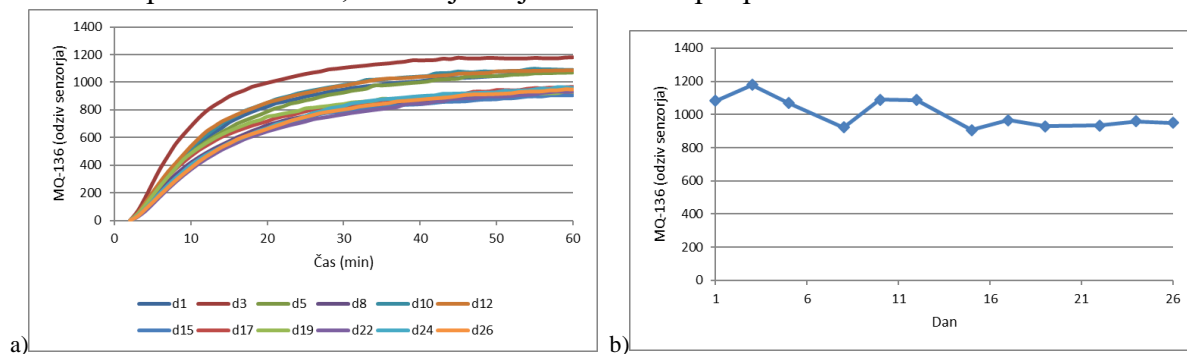
Slika 3: Sensor MQ-3: a) posamezna meritve etanola (60 min); b) koncentracija etanola po zaključku meritve za 26 dni.

Slika 4.a prikazuje potek izmerjene koncentracije hlapnih organskih spojin (senzor MQ-135) v obdobju posamezne meritve, slika 4.b pa ponazarja končne izmerjene vrednosti posameznega testa za celoten eksperiment. Prvih 13 dni koncentracija narašča od 75 do 140 enot, nato pa v nadaljevanju pada približno do začetne vrednosti.



Slika 4: Sensor MQ-135: a) posamezna meritve NH₃, etanola in benzena (60 min); b) koncentracija po zaključku meritve za 26 dni.

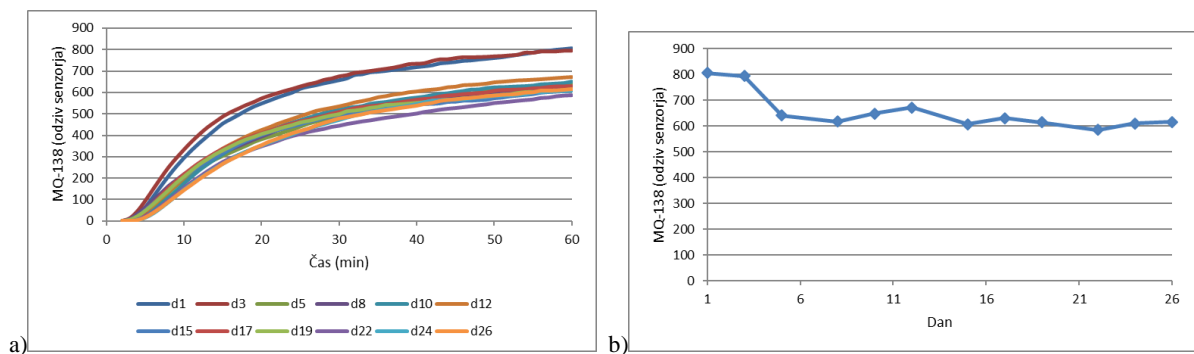
Slika 5.a prikazuje potek izmerjene koncentracije sensorja MQ-136 v obdobju posamezne meritve, slika 5.b pa ponazarja končne izmerjene vrednosti posameznega testa za celoten eksperiment. Prvih 8 dni se koncentracija narašča in zmanjšuje od 1200 do 900 enot, nato spet narašča in pada do 15 dne, v nadaljevanju nato znaša povprečno 950 enot.



Slika 5: Sensor MQ-136: a) posamezna meritve (60 min); b) koncentracija po zaključku meritve za 26 dni.

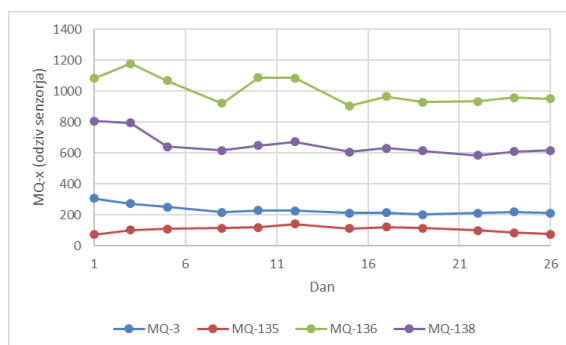
Slika 6.a prikazuje potek izmerjene koncentracije hlapnih organskih spojin (senzor MQ-138) v obdobju posamezne meritve, slika 6.b pa ponazarja končne izmerjene vrednosti posameznega testa za celoten eksperiment. Prvih 8 dni se vrednosti sensorja MQ-138 zmanjšujejo od 800 do

600 enot, v nadaljevanju pa znašajo povprečno 600 enot.



Slika 6: Sensor MQ-138: a) posamezna meritev benzena, NH₃ in etahnola (60 min); b) koncentracija po zaključku meritve za 26 dni.

Slika 7 ponazarja povzetek izmerjenih koncentracij štirih senzorjev MQ-X po 60 minutah posameznega testa za celoten eksperiment, ki je trajal 26 dni. Jabolka so bila shranjena v laboratoriju s povprečno temperaturo 21,5°C in relativno vlago 27,5%. Izmerjene vrednosti senzorjev MQ-3, MQ-135 in MQ-138 se spreminjajo prvih 6 dni, tako da koncentracija spojin pri sensorju MQ-135 narašča, sensorja MQ-3 in MQ-138 pa prikazujeta zmanjševanje skupnih koncentracij etanola. Sensor MQ-136 pa ponazarja večje spremembe koncentracij do 16 dne.



Slika 7: Koncentracije Sensorji MQ-3, MQ-135, MQ-136 in MQ-138 za 26 dni po zaključku meritve.

4 ZAKLJUČEK

Za spremljanje koncentracij hlapnih organskih spojin je bil uporabljen senzorski sistem s štirimi senzorji (MQ-3, MQ-135, MQ-136, MQ-138), ki so sicer namenjeni zaznavanju etanola, benzena, NH₃ in vodikovega sulfida, vendar zaznajo tudi druge organske hlapne spojine. Ugotovili smo, da so vsi štirje senzorji zaznali spremembe koncentracij v začetnem obdobju 6 do 8 dni, nato pa so ostale nespremenjene, razen pri sensorju MQ-136, ki se je spreminjal do 16 dne. Od omenjenih spojin proizvajajo jabolka največ etanola, vendar senzorji poleg spojin za katere so deklarirani zaznavajo tudi ostale hlapne spojine. Nabor hlapnih organskih spojin, ki jih proizvaja sadje pa je zelo velik.

5 VIRI

- Baietto, A., Wilson, A.D. 2015. Electronic-Nose Applications for Fruit Identification, Ripeness and Quality Grading. *Sensors (Basel)* 15: 899-931
- Berthiller F., Schuhmacher R., Adam G., Krska R. 2009. Formation, determination and significance of masked and other conjugated mycotoxins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395: 1243-1252
- Geethapriya, N. and Praveena, M.S. 2017. Evaluation of fruit ripeness using electronic nose. *International Journal of Advanced Information Science and Technology*, 6/5: 1-5
- Ding, Q., Zhao, D., Liu, J., Yang, Z. 2018. Detection of fruits in warehouse using Electronic nose, *MATEC Web of Conferences* 232: 04035
- Dou T.-X., Shi J.-F., Li Y., Bi F.-C., Gao H.-J., Hu C.-H., Li C.-Y., Yang Q.-S., Deng G.-M., Sheng O., He W.-D., Yi G.-J., Dong T., 2020. Influence of harvest season on volatile aroma constituents of two banana cultivars by electronic nose and HS-SPME coupled with GC-MS. *Scientia Horticulturae*, 265: 109214
- Feng L., Zhang M., Bhandari B., Guo Z., 2018. A novel method using MOS electronic nose and ELM for predicting postharvest quality of cherry tomato fruit treated with high pressure argon. *Computers and Electronics in Agriculture*, 154: 411-419
- Huang L., Meng L., Zhu N., Wu D., 2017. A primary study on forecasting the days before decay of peach fruit using near-infrared spectroscopy and electronic nose techniques. *Postharvest Biology and Technology*, 133: 104-112
- Kaushlendra T., Saurabh P., Murtaza M., Tanushri K. 2016. Fruit ripening of climacteric and non climacteric fruit. *Journal of Environmental and Applied Bioresearch*, 04: 27-34
- Ma, L., Wang L., Chen R., Chang K., Wang S., Hu X., Sun X., Lu Z., Sun H., Guo Q., Jiang M., Hu J. 2016. A low cost compact measurement system constructed using a smart electrochemical sensor for the real-time discrimination of fruit ripening. *Sensors* 16: 1-11
- Tan, J., Xub, J. Applications of electronic nose (e-nose) and electronic tongue (e-tongue) in food quality-related properties determination: A Review. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 4: 104-115

VPLIV BLAGE TOPLOTNE OBDELAVE BRESKEV NA KOLONIZACIJO PLODOV S PLESNIMI VRSTE *Penicillium expansum*

Martina ZLATEVSKA¹, Barbka JERŠEK², Klemen BOHINC³ in Rajko VIDRIH⁴

Povzetek: Namen raziskave je bil ugotoviti vpliv obdelave breskev s toplo vodo na kolonizacijo plesni vrste *Penicillium expansum*. Breskve smo 2 minut tretirali v topli vodi pri 60 °C in jih nato 5 dni skladiščili pri 20 °C. Preiskave smo izvedli vzporedno na kožici rdeče in kožici rumeno obarvanega dela plodu in so vključevale: skupne fenole, površino poškodbe plodu zaradi plesni vrste *P. expansum* in mejni kot na površini plodov. Vrednosti skupnih fenolov so bile po 5 dnevem skladiščenju pri s toplo vodo obdelanih breskvah večje od kontrolnih vzorcev in tudi večje pri rdeče obarvani kožici v primerjavi z rumeno. Manjšo površino s plesnijo okuženega dela smo zaznali pri rdeče obarvani kožici v primerjavi z rumeno kožico; obdelava breskev s toplo vodo je zavirala razvoj plesni *P. expansum* pri rdeče in rumeno obarvani kožici. Topla voda je vplivala na povečanje mejnega kota kožice breskev, ki je postala bolj hidrofobna. Blaga toplotna obdelava breskev je zavirala rast plesni vrste *P. expansum* na plodovih; prirast plesni je bil v negativni korelaciji z mejnim kotom. Obdelava plodov breskev s toplo vodo je kot stresni dejavnik aktivirala obrambni mehanizem plodov, kar je doprineslo k zmanjšani aktivnosti plesni vrste *P. expansum*.

Ključne besede: breskve, topla voda, *P. expansum*, skupni fenoli, mejni kot

INFULENCE OF HOT WATER DIPPING OF PEACHES ON *Penicillium expansum* COLONISATION OF FRUITS

Abstract: The aim of the investigation was to determine the impact of hot water dipping of peach fruit on colonisation of *Penicillium expansum*. Peach fruit was treated with water at 60 °C for 2 min and stored at 20 °C for 5 days. Analyses were carried out in skin of red and yellow parts and included: content of total phenols, surface of *P. expansum* lesion and fruit surface contact angle. After 5 days of storage, content of total phenols was higher in hot water treated fruits as compared to control and also higher in red coloured peel as compared to yellow coloured. Smaller surface of *P. expansum* lesion was also found in red coloured peel as compared to yellow; hot water thus inhibited the growth of *P. expansum* on red and yellow coloured peel. Hot water increased the contact angle of peach peel that becomes more hydrophobic. Hot water inhibited the growth of *P. expansum*; mould growth correlates negatively with contact angle. Stress, provoked by hot water thus activates defence mechanism of peaches and hence inhibits the growth of *P. expansum*.

Key words: peach, hot water, *P. expansum*, total phenols, contact angle

¹Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: zlatevskamartina@yahoo.com@bf.uni-lj.si

²prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: barbara.jerssek@bf.uni-lj.si

³prof. dr., Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta, Zdravstvena pot 5, Ljubljana, e-mail: klemen.bohinc@zf.uni-lj.si@bf.uni-lj.si

⁴prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: rajko.vidrih@bf.uni-lj.si

1 UVOD

Breskev (*Prunus persica*) spada med klimakterijsko sadje in ima po obiranju relativno kratko življenjsko dobo zaradi pojava fizioloških in mikrobioloških bolezni. Zaradi vse večjih zahtev potrošnikov po čim manjši uporabi fungicidov se za podaljšanje življenjske dobe sadja in zelenjave vse bolj uporabljajo fizikalni postopki (Lurie, 1998; Fallik, 2004). Eden najobetavnejših je obdelava s toplim zrakom ali toplo vodo z relativno nizko temperaturo (45–60 °C).

Obdelava s toplo vodo se je najprej uporabljala za zaviranje razvoja insektov in ohranjanje kakovosti, topel zrak pa proti insektom in plesnim (Lurie, 1998). Tretiranje s toplo vodo ima specifične učinke na fiziologijo sadja in zelenjave, na aktivnost različnih encimov in tudi sintezo novih spojin. Pri toplotnem stresu se tvorijo proteini toplotnega šoka, ki sodelujejo pri tvorbi in razgradnji makromolekul in spremembi 3D-strukture proteinov (Adgham in sod., 2013). Sinteza proteinov toplotnega šoka je odvisna od temperature in časa trajanja stresa (Waters in sod., 1996). Nekateri manjši proteini toplotnega šoka stabilizirajo celične membrane in so lovilci reaktivnih kisikovih spojin (ROS) (Adgham in sod., 2013), kar je posebej pomembno pri prečevanju nekaterih fizioloških bolezni. Spremenjen metabolizem sadja lahko pomeni tudi boljšo odpornost proti različnim mikroorganizmom.

Toplotna obdelava (39 ± 1 °C, 24 h) pred skladiščenjem in uporaba kontrolirane atmosfere (5 % O₂ in 15 % CO₂) je podaljšala obstojnost breskev tudi po 4 tednih skladiščenja (Murray in sod., 2007). S toplo vodo tretirane breskve niso bile dovzetne za fiziološko motnjo, ki jo predstavlja porjavenje v notranjosti plodov. Zelo pomemben je tudi učinek toplotne obdelave na izgubo občutljivosti predvsem tropskega sadja in zelenjave za nizke temperature (0–10 °C). Občutljivost se kaže kot sprememba barve in topografije kože ter akumulacija toksičnih metabolitov kot sta acetaldehid in malondialdehid. S toplotno obdelavo izvedeno pred skladiščenjem so v kombinaciji s kontrolirano atmosfero uspešno podaljšali obstojnost breskev in nektarin (Kader, 1986). Obdelava breskev s toplo vodo (60 °C) je zavrla razvoj plesni oz. rjave gnilobe, ki jo povzročajo plesni vrste *Monilinia laxa* (Spadoni in sod., 2014). Spadoni in sod. (2014) so proučevali tudi mehanizme odziva breskev preko izražanja genov, ki so povezani s tvorbo fenolnih spojin. Toplotna obdelava je vplivala na povečano ekspresijo genov, ki kodirajo PAL (fenilalanin amonijak liaza), HSP70 (protein toplotnega šoka), APX (askorbat peroksidaza), MNSOD (Mn-superoksid dismutaza), CAT (katalaza) in GR (glutation reduktaza). Zmanjšala se je ekspresija genov odgovornih za razgradnjo celičnih sten, ki so vključeni v mehčanje plodov (Spadoni in sod., 2014). Tretiranje breskev s toplo vodo 48 h po inokulaciji plesni vrste *Monilinia laxa* je zmanjšalo pojavnosti rjave gnilobe za 85,7 %, medtem ko so okužbo s plesnimi vrste *Monilinia laxa* povsem zavrli pri plodovih obdelanih s toplo vodo 24 h po inokulaciji.

Hidrofobnost je lastnost površin materialov, ki vpliva na odbojnost vode in tudi na adhezijo mikroorganizmov. Določa se z meritvijo mejnega kota kapljice vode na preiskovani površini. Vrednost mejnega kota 0°–90° imajo hidrofilne površine, vrednost večjo od 90° imajo hidrofobne površine (Mosadegh-Sedghi in sod., 2014).

Namen naše raziskave je bil določiti vpliv blage obdelave breskev s toplo vodo (60 °C, 2 min) na adhezijo in kolonizacijo površine breskev s plesnimi vrste *Penicillium expansum*.

2 MATERIALI IN METODE

2.1 TRETIRANJE BRESKEV S TOPLO VODO

Plodove breskev (*Prunus persica*) (20 kom.) smo 2 min tretirali v topli vodi (70 L) predhodno segreti na 60 °C, medtem ko smo kontrolno skupino breskev (20 kom.) 2 min tretirali v vodi pri sobni temperaturi. Nato smo breskve osušili pri sobni temperaturi na zraku in jih skladiščili pri 20 °C v polipropilenskih vrečkah. Plodove smo vzorčili in analizirali po treh ter petih dneh.

2.2 INOKULACIJA BRESKEV S PLESNIMI VRSTE *Penicillium expansum*

Polovico plodov breskev, ki so bili obdelani s toplo vodo (10 kom.) in kontrolne plodove (10 kom.) smo kontaminirali s suspenzijo konidijev plesni vrste *P. expansum* (10⁶ konidijev/mL) v brezprašni komori. S sterilno iglo smo naredili rez na ekvatorialnem predelu vsakega plodu breskve na rdečem in na rumeno obarvanem delu lupine plodov. V te reze smo dodali 20 µL inokuluma plesni vrste *P. expansum*. Breskve smo skladiščili pri 20 °C v polipropilenskih vrečkah. Plodove smo vzorčili po treh ter petih dneh.

2.3 DOLOČANJE VSEBNOSTI SKUPNIH FENOLOV

Za določanje skupnih fenolov smo uporabili metodo po Singletonu in Rossiju (1965); uporabili smo Folin-Ciocalteujev reagent, ki v alkalni raztopini oksidira fenolne snovi. Absorbanco reakcijske mešanice smo merili pri valovni dolžini 765 nm, galno kislino smo uporabili kot standardno referenčno spojino.

2.4 MERJENJE POVRŠINE POŠKODBE ZARADI RASTI PLESNI

Površino poškodb zaradi rasti plesni smo merili med 5-dnevnim skladiščenjem vzorcev breskev tako, da smo vsak plod breskve fotografirali, nato pa s programom ImageJ označili zaradi plesni spremenjeno površino ter določili površino (mm²) (Lozano-Gerona in sod., 2018).

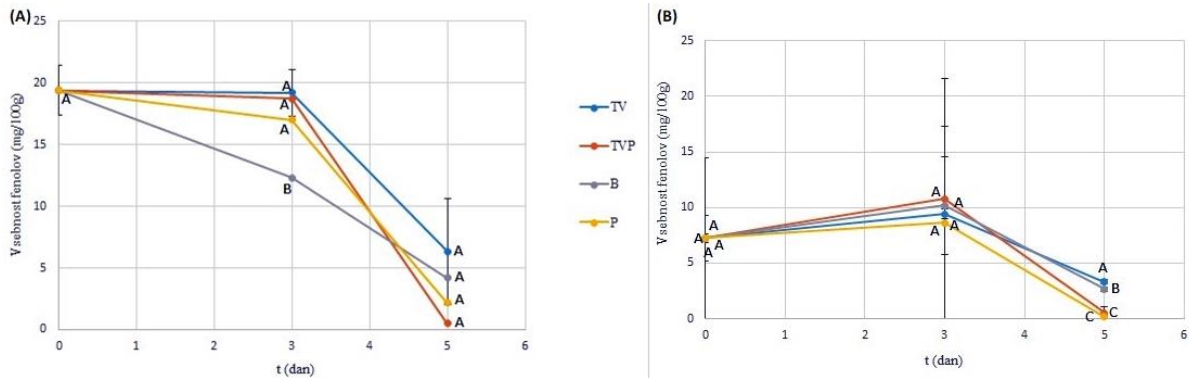
2.5 MERJENJE MEJNEGA KOTA NA POVRŠINI BRESKEV

Mejni kot smo na površini breskev merili z optičnim tenziometrom. Kapljice na površini kože breskev smo posneli z digitalno kamero, nakar smo s programsko opremo OneAttension določili kot med površino in kapljico. Mejni kot smo izmerili na 20 vzorcih lupine breskev, posebej za rdeče in rumeno obarvan del plodu breskve. Polovica izmerjenih mejnih kotov je bila kontrolna skupina, druga polovica so bile breskve tretirane s toplo vodo.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Vsebnost skupnih fenolov v rdeče obarvani kožici breskev je bila v primerjavi z rumeno obarvano kožico dvakrat večja (Slika 1) (Gununu in sod., 2019). Vsebnost skupnih fenolov se je po treh dneh zmanjšala v rdeče obarvanih kožicah, medtem kose je v rumenih kožicah

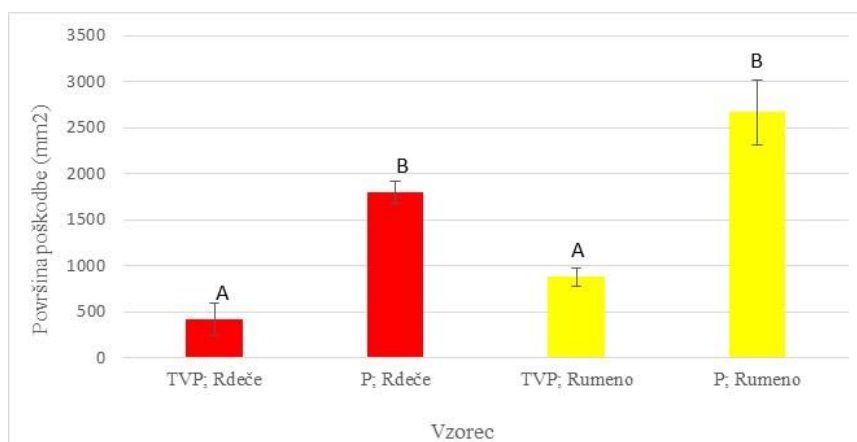
povečala. Po petih dneh skladiščenja je bila vsebnost skupnih fenolov v rdeče obarvanem delu breskev enaka za vse skupine breskev, medtem ko je bila v rumeno obarvanem delu večja ($p \leq 0,05$) pri s toplo vodo obdelanih plodovih ne glede na to ali so bili plodovi kontaminirani ali ne s plesnimi *P. expansum*. Ti rezultati so analogni z Zhou in sod. (2002), saj so določili večjo vsebnosti skupnih fenolov v breskvah obdelanih z vročim zrakom.



Slika 1: Srednje vrednosti vsebnosti skupnih fenolov rdeče (A) in rumeno (B) obarvanega dela breskev med skladiščenjem

Legenda: A, B, C: vrednosti obravnavanj z različno črko po tretjem in petem dnevu se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$); B: breskve, ki niso bile tretirane s toplo vodo in niso bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*; TV: breskve, ki so bile tretirane s toplo vodo in niso bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*; TVP: breskve, ki so bile tretirane s toplo vodo in so bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*; P: breskve, ki niso bile tretirane s toplo vodo in so bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*.

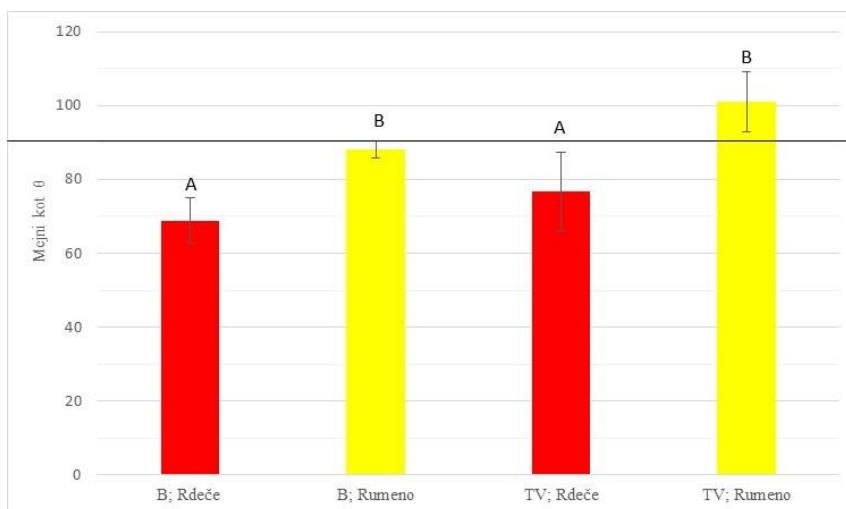
Rast plesni vrste *P. expansum* na rdeče obarvani kožici breskev, ki so bile tretirane s toplo vodo, je bila več kot 70 % inhibirana v primerjavi z breskvami, ki niso bile tretirane (Slika 2). Analogno je bila rast plesni inhibirana (60 %) tudi na rumenem delu breskev, ki so bile tretirane s toplo vodo. Obdelava breskev s toplo vodo je stresni dejavnik, ki sproži različne obrambne mehanizme, s katerimi breskev vpliva na počasnejšo rast plesni (Spadoni in sod., 2015).



Slika 2: Površina poškodb breskev obdelanih s toplo vodo (2 min, 60 °C) zaradi rasti plesni vrste *Penicillium expansum* po 5 dnevem skladiščenju

Legenda: A, B: vrednosti obravnavanj z različno črko se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$); TVP: breskve, ki so bile tretirane s toplo vodo in so bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*; P: breskve, ki niso bile tretirane s toplo vodo in so bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*

Mejni kot rumeno obarvane kožice je bil večji ($p \leq 0,05$) od mejnega kota rdeče obarvane kožice breskev, vendar pa je bila površina hidrofobna le v primeru, da smo breskve tretirali s toplo vodo (Slika 3). Rdeče kožice vsebujejo polarne antocijane, rumene pa nepolarne karotenoide, kar je lahko razlog za razlike v vrednostih mejnega kota različno obarvanih kožic. Po obdelavi s toplo vodo se mejni kot značilno poveča v primerjavi s kontrolo pri rumeno obarvanih kožicah, do povečanja pride tudi pri rdeče obarvani kožici vendar razlike niso značilne. Obdelava s toplo vodo poveča hidrofobnost površine kožice. Ker na adhezijo, kolonizacijo in rast plesni na površini vplivajo tudi lastnosti površine kot je hidrofobnost/hidrofilnost, bi to lahko bil eden od razlogov za manjšo rast plesni vrste *P. expansum* na toplotno obdelanih rumenih delih breskev (Bohinc in sod., 2016).



Slika 3: Mejni kot na površini breskev po obdelavi s toplo vodo (60 °C, 2 min)

Legenda: A, B: vrednosti obravnavanj z različno nadpisano črko se statistično značilno razlikujejo ($p \leq 0,05$); TV: breskve, tretirane s toplo vodo in niso bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*; B: breskve, ki niso bile tretirane s toplo vodo in niso bile kontaminirane s plesnimi vrste *P. expansum*.

4 ZAKLJUČEK

Obdelava samih plodov breskev s toplo vodo (60 °C, 2 min) vpliva na takojšnjo povečanje mejnega kota kožice breskev, po skladiščenju plodov pa na večjo vsebnost skupnih fenolov in počasnejšo rast plesni vrste *P. expansum*. Rdeče obarvana kožica breskev ima manjši mejni kot, vsebuje več skupnih fenolov in bolj zavira rast plesni *P. expansum* v primerjavi z rumeno kožico. Skupni fenoli so v negativni korelaciji s rastjo plesni in z mejnim kotom. Topla voda kot stresni dejavnik aktivira obrambne mehanizme breskev, ki delujejo inhibitorno tudi na razvoj plesni vrste *P. expansum*.

5 VIRI

- Adgham S. M., Sevillano L., Flores B. F., Bodbodak S. 2013. Heat shock proteins as biochemical markers for postharvest chilling stress in fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*, 160: 54-56
- Bohinc K., Dražič G., Abram A., Jevšnik M., Jeršek B., Nipič D., Kurinčič M., Raspor P. 2016. Metal surface characteristics dictate bacterial adhesion capacity. *International journal of adhesion and adhesives*. 68: 39-46.
- Fallik E. 2004. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biology and Technology* 32, 2: 125-134

- Gununu P. R., Munhuweyi K., Obianom P. C., Sivakumar D. 2019. Assessment of eleven South African peach cultivars for susceptibility to brown rot and bule mold. *Scientia Horticulturae*, 254: 1-6
- Kader A. A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technology*, 40: 99-104
- Lozano-Gerona J., García-Otín Á.-L. 2018. ImageJ-based semiautomatic method to analyze senescence in cell culture. *Analytical Biochemistry*, 543: 30-32
- Lurie S. 1998. Postharvest heat treatments of horticultural crops. *Horticultural Reviews*, 22: 91-121
- Mosadegh-Sedghi S., Rodrigue D., Brisson J., M. C. Iliuta. 2014. Wetting phenomenon in membrane contactors – Causes and prevention. *Journal of Membrane Science*, 452: 332-353
- Murray R., Lucangeli C., Polenta G., Budde C. 2007. Combined pre-storage heat treatment and controlled atmosphere storage reduced internal breakdown of 'Flavorcrest' peach. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 2: 116-121
- Spadoni A., Guidarelli M., Phillips J., Mari M., Wisniewski M. 2015. Transcriptional profiling of apple fruit in response to heat treatment: involvement of a defense response during *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology*, 101: 37-48
- Spadoni A., Guidarelli M., Sanzani S. M., Ippolito A., Marta M. 2014. Influence of hot water treatment on brown rot of peach and rapid fruit response to heat stress. *Postharvest Biology and Technology*, 94: 66-73
- Singleton V. L., Rossi Jr. J. A. 1965 colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158
- Waters R. E., Lee J. G., Vierling E. 1996. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants. *Journal of Experimental Botany*, 47, 296: 325-338
- Zhou T., Xu S. Sun D. W., Wang Z. 2002. Effects of heat treatment on postharvest quality of peaches. *Journal of Food Engineering*, 54, 1: 17-22

PREGLED DOKTORSKIH DISERTACIJ S PODROČJA ŽIVILSTVA IN PREHRANE V LETIH 2015–2021

Lina BURKAN MAKIVIĆ¹

Povzetek: V prispevku je popisani abecedni seznam 34 doktorskih disertacij znanstvenih področij živilstva in prehrane v okviru Podiplomskega študija bioloških in biotehniških znanosti oz. Interdisciplinarnega študija Bioznanosti v letih 2015–2021. Pregled doktorskih disertacij vključuje ločena abecedna seznama glede na področje, od tega 20 disertacij s področja živilstva in 14 s področja prehrane. Področje prehrane je postalo znanstveno področje leta 2009 po bolonjski prenovi kot eno od 16 znanstvenih področij, ki jih zajema Interdisciplinarni študijski program Bioznanosti. Od leta 2016 je bilo na voljo tudi znanstveno področje agroživilska mikrobiologija, vendar se je leta 2021 spremenilo v bolj splošno znanstveno področje mikrobiologija, tokrat v okviru Interdisciplinarnega študijskega programa Bioznanosti. Pred tem je bilo znanstveno področje mikrobiologija na voljo v okviru Doktorskega študijskega programa Biomedicina, kjer je sedaj preimenovano v znanstveno področje medicinska mikrobiologija. V prispevku so popisani osnovni bibliografski podatki, ključne besede, izveček ter povezava do elektronske verzije doktorske disertacije. Od leta 2017 je s spremembo Statuta UL postala obvezna oddaja zaključnih del v Repozitorij Univerze v Ljubljani (RUL), zato so vse doktorske disertacije na voljo tudi v elektronski obliki v RUL-u. Že leta 2006 smo na Biotehniški fakulteti (BF) pričeli s hrambo elektronskih verzij zaključnih del v Digitalni knjižnici BF. Z letošnjo spremembo Statuta UL se ukinja obvezna oddaja tiskanega izvoda zaključnih del, čemur bo sledila tudi BF in bo tako odslej na voljo le elektronska verzija. Analiza predizobrazbe doktorandov pokaže, da je 25 (74 %) doktorandov pred vpisom na doktorski študij zaključilo študij na BF, od teh 15 (44 %) študij živilske tehnologije oz. živilstva, 3 (9 %) študij prehrane, 3 (9 %) študij biologije, 2 (6 %) študij zootehnike, 1 (3 %) študij mikrobiologije in 1 (3 %) študij biotehnologije. Za doktorski študij znanstvenih področij živilstva ali prehrane so se odločali tudi diplomanti kemije (5; 15 %), sanitarnega inženirstva (2; 6 %), biologije in gospodinjstva (1; 3 %) ter veterinarske medicine (1; 3 %). Zanimiv je tudi podatek, da je med 34 predstavljenimi disertacijami kar 30 (88 %) doktorandk in 4 (12 %) doktorandi. Interdisciplinarnost študija se kaže tudi v raznolikosti mentorjev oz. somentorjev doktorandom, večina jih je zaposlenih na BF, poleg oddelka za živilstvo tudi na drugih oddelkih (biologija, gozdarstvo, zootehnika), kot tudi na drugih fakultetah UL (FFa; FKKT; FŠ; VF; ZF), inštitucijah (IHPS; KI; NIB; NIJZ; NUTRIS; UKC), univerzah (UM, MF; UP, FVZ) in v tujini (Univerza Južne Češke, Fakulteta za ribištvo in varstvo voda, Češka).

Ključne besede: doktorske disertacije, živilstvo, prehrana, doktorski študij, Biotehniška fakulteta

BIBLIOGRAPHY OF DOCTORAL DISSERTATIONS OF THE SCIENTIFIC FIELD FOOD SCIENCE AND NUTRITION IN 2015–2021

Abstract: The bibliography includes alphabetic list of 34 doctoral dissertations of the scientific fields food science (20) and nutrition (14) of Postgraduate Studies of Biological and Biotechnical Sciences and Interdisciplinary Doctoral Programme in Biosciences in 2015–2021. Scientific field nutrition became one of 16 scientific fields included in Interdisciplinary Doctoral Programme in Biosciences in year 2009. The scientific field agrifood microbiology has also been available since 2016, but in 2021 it was changed to a more general scientific field microbiology within the Interdisciplinary Doctoral Programme in Biosciences. Previously, the scientific field microbiology was available within the Interdisciplinary Doctoral Programme in Biomedicine, where the scientific field is now renamed to medical microbiology. The article lists basic bibliographic data, keywords, abstract and a link to the electronic version of doctoral dissertation. Since 2017, with the amendment of the UL Statute, the

¹ univ. dipl. inž. živ. tehnol., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Jamnikarjeva 101, Ljubljana, e-mail: lina.burkan@bf.uni-lj.si

submission of final papers to the Repository of the University of Ljubljana (RUL) has become mandatory, so all doctoral dissertations are also available in electronic form in the RUL. Since 2006, Biotechnical Faculty (BF) started collecting electronic versions of final works in the BF Digital Library. This year's amendment to the UL Statute abolishes the obligatory submission of a printed copy of the final works, also BF will follow this, so from now on only the electronic version will be available in RUL. The analysis of graduate education of doctoral students shows that 25 (74%) doctoral students completed their studies at BF before enrolling in doctoral studies, of which 15 (44%) graduated in food technology/food science, 3 (9%) nutrition, 3 (9%) biology, 2 (6%) animal science, 1 (3%) microbiology and 1 (3%) biotechnology. Graduates in chemistry (5; 15%), sanitary engineering (2; 6%), biology and home economics (1; 3%) and veterinary medicine (1; 3%) also decided to pursue doctoral studies in the scientific fields of food or nutrition. It is also interesting to note that among the 34 dissertations presented, as many as 30 (88%) were from female doctoral students and 4 (12%) from male doctoral students. The interdisciplinarity of the study is also reflected in the diversity of supervisors or co-advisors of doctoral students, most of whom are employed at the BF, in addition to the department of food science also at other departments (biology, forestry, animal science), as well as at other faculties of UL (FFa; FKKT; FŠ; VF; ZF), institutions (IHPS; KI; NIB; NIJZ; NUTRIS; UKC), universities (UM, MF; UP, FVZ) and abroad (University of South Bohemia, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, Czech Republic).

Key words: doctoral dissertations, food science, nutrition, doctoral studies, Biotechnical Faculty

DOKTORSKE DISERTACIJE S PODROČJA ŽIVILSTVA V LETIH 2015–2021

AMBROŽIČ, Mateja

Sistemska vrednotenje in preprečevanje virusne okužbe s hrano v živilsko predelovalni oskrbovalno prehranski verigi : doktorska disertacija = Systemic evaluation and prevention of viral foodborne infection in food supply chain : doctoral dissertation / Mateja Ambrožič ; mentor Peter Raspor, somentor Andrej Kirbiš. - Ljubljana : [M. Ambrožič] : [BF, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti], 2016. - X, 99 f. : ilustr. ; 30 cm

živila / varnost živil / dejavniki tveganja / nadzor nad živili / virusi v hrani / virusne okužbe / školjke / obvladovanje virusnih okužb / foods / food safety / hazards / food control / foodborne viruses / viral infection / shellfish / viral food safety management practices

Oskrba z varno hrano, ki ne ogroža zdravja potrošnikov, je temelj zdrave prehrane in pomemben dejavnik varovanja zdravja kot javnega interesa. V preteklosti je bila mikrobiološka varnost živil osredotočena predvsem na nadzor bakterijskih okužb. Virusni, preneseni s hrano, so čedalje pogostejši povzročitelji bolezni in epidemij. Namen naloge je bil ugotoviti poznavanje virusov kot možnega dejavnika tveganja v živilsko predelovalni oskrbovalno prehranski verigi. Z rezultati raziskave želimo izboljšati razumevanje pojmovanja virusov vzdolž verige. Pridobljeni rezultati lahko pripomorejo k razvoju varnosti živil na področju obvladovanja virusnih okužb. Z namenom ugotavljanja dejanskega stanja obvladovanja virusnih okužb vzdolž živilsko predelovalne oskrbovalno prehranske verige so bila uporabljena kvantitativna in kvalitativna metodološka orodja (vsebinska analiza, SWOT analiza, anketne raziskave, polstrukturirani intervju). Na vseh analiziranih stopnjah verige so ugotovljene pomanjkljivosti pri razumevanju in obvladovanju virusnih okužb, prenesenih s hrano kot dejavnikov tveganja. Ugotovitve potrjujejo zastavljene hipoteze, da niti proizvajalci niti potrošniki ne prepoznajo virusov kot dejavnikov tveganja, in da zagotavljanje virološke varnosti živil v živilsko predelovalni oskrbovalno prehranski verigi ni doseženo z obstoječimi dobrimi praksami, saj le-te operativno temeljijo na mikrobioloških tveganjih. Poleg tega smo izpostavili dobro higiensko prakso, kot jo postavlja Codex Alimentarius kot primerno osnovo za razvoj sistema zagotavljanja virološke varnosti živil, saj zajema vse člene v verigi. Interaktivna komunikacija vseh deležnikov, nadziran sistemski pristop, dobre prakse in izvajanje izobraževanja so bistvenega pomena pri zagotavljanju virološko varnega živila.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_ambrozic_mateja.pdf
614.31:578:579.67
COBISS.SI-ID 4701816

1

BIZJAK, Mojca

Oblikovanje celostnega prehranskega protokola pri preprečevanju debelosti : doktorska disertacija = Creation of a comprehensive nutrition protocol in obesity prevention : doctoral dissertation / Mojca Bizjak ; mentorica Cirila Hlastan Ribič, somentorica Lidija Zadnik Stirn. - Ljubljana : [M. Bizjak] : [BF, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti], 2016. - XIV f., 143, [44] str. : ilustr. ; 30 cm

prehrana / debelost / preprečevanje debelosti / prehranski protokoli / shujševalna dieta / kvalitativne metode / kvantitativne metode / adipokini / vnetno stanje / nutrition / obesity / obesity prevention / nutrition protocols / reduction diet / qualitative methods / quantitative methods / adipokines / inflammation

Z vidika teorije in tudi prakse na področju preprečevanja/zdravljenja debelosti ni celovitih rešitev. Namen disertacije je bil z uporabo sodobnih metod izdelati in preizkusiti (validirati) nov celosten pristop za zdravljenje debelosti. V prvem delu disertacije smo z uporabo kvalitativnih in kvantitativnih metod izdelali celostni protokol za zdravljenje debelosti. V okviru protokola smo definirali opravila in meritve, ki jih moramo opraviti v intervenciji za preprečevanje/zdravljenje debelosti. Protokol upošteva meritve presnove v mirovanju, na podlagi katere je individualno sestavljen jedilnik, ter spremembo vnetnega stanja in vedenjskih dejavnikov pri posamezniku. Nadalje smo v okviru generiranega prehranskega protokola razvili in validirali vprašalnik o pogostosti uživanja živil/jedi (FFQ) ter izdelali večkriterijski odločitveni model, ki služi kot podpora odločanju pri izbiri ustrezne prehranske intervencije in ustrezne pogostosti izvajanja intervencije v procesu prehranske obravnave pri debelosti. Za oblikovanje in vrednotenje modela smo uporabili metodo večkriterijskega odločanja Decision Expert (DEXi) ter istoimenski računalniški program. Prehranski protokol smo časovno analizirali z uporabo metode mrežnega planiranja. Z metodo SWOT smo definirali pozitivne in negativne dejavnike na novo oblikovanega celostnega prehranskega protokola ter jih z metodo SWOT-AHP numerično ovrednotili. V drugem, empiričnem delu raziskave smo protokol testirali na 96 prostovoljcih, starih od 25 do 49 let. Ocenili smo njihovo prehransko stanje, prehranjevalne navade in biokemijsko stanje markerjev v krvi, ki pomenijo tveganje za zdravje. Analiza posameznikovega življenjskega sloga, predvsem prehranjevalnih navad, gibanja, psihološkega, vnetnega in presnovnega stanja je bila osnova za izvedbo individualnega prehranskega protokola.

Na osnovi izdelanega protokola smo izvedli individualno intervencijo in po šestih mesecih testirali rezultate. Intervencija je vplivala na izboljšanje vedenjskih dejavnikov, kar se je pokazalo v statistično značilnem zmanjšanju energijskega vnosa, vnosa skupnih maščob, nasičenih maščobnih kislin in enostavnih sladkorjev ter v statistično značilnem povečanju športno/gibalne aktivnosti. Poleg tega se je statistično značilno zmanjšal delež maščevja, ITM, obseg pasu ter koncentracija skupnega in LDL-holesterola. Koncentracije adipokinov so se po intervenciji statistično značilno izboljšale, kar se tiče vrednosti CRP, TNF- α in visfatina. Zasnovani celostni protokol kot nov pristop k zdravljenju debelosti, z natančno opisanimi navodili, validiranim vprašalnikom FFQ, DEXi-modelom za aplikacijo intervencije, z individualnimi prehranskimi načrti, vedenjskimi priporočili, s časovno analizo, SWOT-AHP analizo dejavnikov ter apliciran na vzorec kontrolne in interventne skupine je bil prvič izdelan in uporabljen na način, kot je predstavljen v doktorski disertaciji.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_bizjak_mojca.pdf

613.24/.25:616-056.2

COBISS.SI-ID 4639864

2

BOLTAR, Iva

Oblikovanje in vrednotenje arome Nanoškega sira - od krme do sira : doktorska disertacija = Formation and evaluation of aroma profile of Nanos cheese - from the feed to the cheese : doctoral dissertation / Iva Boltar ; mentorica Andreja Čanžek Majhenič. - Ljubljana : [I. Boltar] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2015. - XV f., 164, [20] str. : ilustr. ; 30 cm

sir / Nanoški sir / aroma / aromatski profil / hlapne organske spojine / zorenje sira / vpliv sezone / vpliv krme / tehnološki postopki / SPME-GC-MS / cheese / Nanos cheese / flavour / aromatic profile / volatile compounds / cheese ripening / effect of season / effect of feed / technological processes

Glavni predmet raziskave je bil Nanoški sir (trdi tip sira), katerega prireja mleka in izdelava sta omejeni na določeno geografsko območje. Študija zajema proučevanje različnih dejavnikov, ki vplivajo na oblikovanje in vrednotenje arome Nanoškega sira. Poleg sezone smo se osredotočili še na čas zorenja ter na nekatere druge pogoje zorenja (temperatura, lokacija zorenja). Naloga zajema tudi analizo aromatskih profilov krme in mleka z namenom vrednotenja možnega vpliva krme in mleka na končno aromo sira. Za določanje profila hlapnih organskih spojin (HOS) v siru, mleku in krmi smo uporabili plinsko kromatografijo z masnim spektrometrom, za ekstrakcijo pa mikroekstrakcijo na trdnem nosilcu (angl. Solid Phase Microextraction – SPME). Vzorci krme in mleka so se glede na sezono razlikovali tako po prisotnosti kot tudi po vsebnosti HOS. Znotraj aromatskega profila Nanoškega sira so bila opazna sezonsko pogojena nihanja. Za nekatere v siru identificirane HOS, ki so imele večje vsebnosti v določeni sezoni smo ugotovili tudi možne povezave s krmo in/ali mlekom iz iste sezone (ocetna kislina, 3-metil butanojska kislina, heksanojska kislina, etil ester heksanojske kisline, etil ester očetne kisline, etil ester dekanjske kisline, 2-butanon, pinan, α -pinen, sabinen, limonen, p-cimen, β -kariofilen, toluen). Med HOS z največjo vsebnostjo v Nanoškem siru spadajo 2-heptanon, 2-nonanon, butanojska kislina in etil ester butanojske kisline. Glede na to, da Nanoškemu siru pripisujejo blago oreškasto aromo, smo v Nanoškem siru tudi identificirali nekatere HOS, ki jih povezujejo z aromo po oreških in mandljih. Med temi HOS bi navedli benzaldehid, etil ester očetne kisline in toluen. Ugotovili smo, da so se vsebnosti določenih HOS med zorenjem spreminjale (naraščale, padale, variirale). Vsebnost večine HOS se je povečevala z zorenjem (še posebej maščobnih kislin in estrov). Vendar pa smo za nekatere HOS ugotovili padajoči trend. Verjetno, ker so te komponente (2,3-butandion/diacetil, 3-hidroksi-2-butanone/acetoin) prekursorji za druge HOS. V siru namreč med zorenjem potekajo številne biokemijske spremembe. Rezultati manjših dodatnih poskusov iz zadnjega dela naloge nakazujejo, da se aromatski profil sira glede na različno lokacijo ni razlikoval. Poleg tega je bilo ugotovljeno, da je višja temperatura zorenja prispevala k večji vsebnosti določenih HOS ter da je večja količina dodanih starterskih kultur prispevala k večji vsebnosti HOS. Sir, ki je zorel na tropinah, pa je imel večjo vsebnost estrov, kar bi lahko povezali s sadno noto. Naša študija je pomemben prispevek na področju kombinacije instrumentalnega in senzoričnega določanja arome sirov, s posebnim poudarkom na tradicionalnih sirihi. To je prva študija, ki se ukvarja z oblikovanjem in vrednotenjem arome izbranega slovenskega sira, spremljanega med zorenjem glede na različno sezono, ter hkrati tudi vključuje povezave z aromatskimi profili krme in mleka z istega območja kot izvira sir.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_boltar_iva.pdf

637.354:547.5:543.544.3(043.3)=163.6

COBISS.SI-ID 3505032

3

BUČAR-Miklavčič, Milena

Vpliv izbranih tehnoloških postopkov na kemijske in senzorične značilnosti slovenskih deviških oljčnih olj : doktorska disertacija = The impact of selected technological procedures on chemical and sensory properties of Slovenian virgin olive oils

: doctoral dissertation / Milena Bučar-Miklavčič ; mentorica Terezija Golob. - Ljubljana : [M. Bučar-Miklavčič] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XV, 98, [28] f. : ilustr. ; 30 cm

deviško oljčno olje / analizne metode / senzorične lastnosti / skladiščenje / filtracija / namakanje / virgin olive oil / sensory analyses / sensory properties / analytical methods / shelf-life / filtration / irrigation

V raziskavi smo proučevali vpliv skladiščenja olja na vsebnost biofenolov, alkilnih estrov in senzorične značilnosti svežega oljčnega olja, po enem letu in dveh letih. Ugotovili smo značilno zastopane sekoiridoidne spojine DMO-AgL-dA, DML-AgI-dA, L-AgI-dA pri sorti 'Istrska belica', pri sorti 'Leccino' DMO-AgI-dA in pri sorti 'Maurino' DMO-AgI-dA, O-AgI-A. Razlike v vsebnosti skupnih biofenolov ter vsebnosti derivatov olevopeina in ligstrozida med olji sorte 'Istrska belica' in olji drugih sort so statistično značilne ($Z_{total} = -5,049$, $p_{total} < 0,005$; $Z_{sec} = -4,063$, $p_{sec} < 0,005$). Vsebnosti so se zelo razlikovale glede na sorto ter glede na letnik pridelave. S statističnim testom Wilcoxon–Mann–Whitney smo pokazali, da so razlike med intenzivnostjo grenkobe in pikantnosti v oljih sorte 'Istrska belica' v primerjavi z drugimi sortami, statistično značilne ($Z_{grenkoba} = -3,111$, $p_{grenkoba} = 0,002$; $Z_{pikantnost} = -3,688$, $p_{pikantnost} < 0,005$). S pomočjo Spearman rank koeficienta pa smo dokazali šibke, a statistično značilne korelacije za opisnik pregreto in vsebnost alkilnih estrov maščobnih kislin ($r_s = 0,3906$) ter za senzorični opisnik žarko in vsebnost alkilnih estrov maščobnih kislin ($r_s = 0,2995$). V drugem sklopu raziskav smo proučevali vpliv filtracije na kakovost in obstojnost oljčnega olja. Iz rezultatov spremljanja maščobnokislinske sestave, tokoferolov in biofenolov je razvidna le razlika med sortami, ni opaznih razlik med nefiltriranimi in filtriranimi olji kot tudi ne med svežimi in po šestih mesecih hranjenja na sobni temperaturi. Opazne razlike pa smo ugotovili v senzorični oceni in večji vsebnosti tirozola in hidroksitirozola v nefiltriranih oljih. V tretjem sklopu smo izvedli prvi namakalni poskus za oljke, da bi proučili sušni stres pri sorti 'Istrska belica', kjer smo poleg dinamike porabe vode, ugotavljali tudi velikost pridelka (kg/ha) in vsebnost olja v plodovih (%) ter maščobnokislinsko sestavo, vsebnost biofenolov ter senzorične značilnosti. Z analizami v letu 2014 smo potrdili, da lahko z namakanjem od 30 % ETp do 40 % ETp zagotovimo dovolj visoko vsebnost biofenolov in hkrati vplivamo na ugodno razmerje med biofenoli olevopeinskega in ligstrozidnega izvora.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=113288>
664.33:634.63:543.2/.9
COBISS.SI-ID 5143416

4

KANDOLF Borovšak, Andreja

Zagotavljanje pristnosti medu s tehnologijo prestavljanja satja in krmljenja čebel : doktorska disertacija = Honey authenticity assurance with technology of reversing honeycombs and feeding bees : doctoral dissertation / Andreja Kandolf Borovšak ; mentorica Mojca Korošec, somentor Janko Božič. - Ljubljana : [A. Kandolf Borovšak] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XXVI, 153, [48] str. : ilustr. ; 30 cm

med / pristnost medu / čebelarstvo / prestavljanje satja / krmljenje čebel / stabilni izotopi / tuji encimi / EA/LC-IRMS / kvasovke / honey / authenticity / beekeeping / reversing honeycomb / feeding the bees / stable isotopes / foreign enzymes / yeasts

Med je že od nekdaj zelo cenjeno živilo, zaradi drage proizvodnje je pogosto tarča potvorb, namernih kot tudi nenamernih, ki nastanejo kot posledica tehnologije čebelarjenja. V okviru raziskovalnega dela smo ugotavljali, ali določene tehnike čebelarjenja v AŽ panju lahko privedejo do nenamernih potvorb medu. Poskus smo izvajali na 30 čebeljih družinah, naseljenih v AŽ panjih, ki so v spomladanskem času prejemale različne količine krme ob ustaljeni tehniki prestavljanja satja v AŽ panju. Vzorce iz posameznih družin smo zbirali in analizirali ločeno po skupinah in letih. Leta 2012 smo zbrali 11 vzorcev, leta 2013 28, leta 2014 29, leta 2015 pa 27 vzorcev, skupaj torej 95 vzorcev medu. Vzorcem smo določili vrednosti osnovnih parametrov kakovosti medu: vsebnost vode, prostih kislin, prolina in HMF, električno prevodnost, pH vrednost, diastazno število, določili smo barvo, ugotavljali smo senzorične in mikroskopske lastnosti (pelodno sestavo ter količino peloda in kvasovk), opravili smo izotopske analize ogljika in ugotavljali prisotnost tujih encimov (β -fruktofuranozidaza, β/γ -amilaza). S statističnimi testi smo ugotavljali razlike in povezave med analiziranimi parametri v vzorcih posameznega leta. Število nepristnih vzorcev enega leta se razlikuje od drugega leta zaradi uporabe različnih tipov krme, različnih pašnih sezon in notranjih dejavnikov v čebeljih družinah. Čebelarji lahko ob upoštevanju določenih navodil kljub prestavljanju satja iz plodišča v medišče zagotavljajo pristni med. Za ugotavljanje posrednih potvorb medu so se v naši raziskavi kot uporabne izkazale metode določanja razmerja stabilnih izotopov ogljika (EA/LC-IRMS), v primeru dodatka barvila in kvasa v krmo za čebele pa tudi parametra barve a^* in b^* ter število kvasovk na 10 g.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=113335>
638.1:543.2/.9:641
COBISS.SI-ID 5142648

5

KOKALJ, Doris

Vpliv valovne dolžine emitirane svetlobe svetlečih diod na vsebnost bioaktivnih spojin v plodovih sadja in zelenjave med skladiščenjem : doktorska disertacija = The influence of light-emitting diode wavelength on the content of bioactive compounds in fruits and vegetables during storage : doctoral dissertation / Doris Kokalj ; mentor Rajko Vidrih, somentor Blaž Cigić. - Ljubljana : [D. Kokalj] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XII, 88, [9] f. : ilustr. ; 30 cm

sadje / zelenjava / skladiščenje / valovna dolžina svetlobe / spekter svetlobe / obsevanje s svetlobo / poobirano tretiranje / svetleče diode / bioaktivne spojine / barva / skupne fenolne spojine / flavonoidi / pigmenti / antociani / fenilalanin amonijak liaza / antioksidativni potencial / vsebnost askorbinske kisline / fruits / vegetables / storage / light wavelength / light spectrum / light irradiation / postharvest treatment / light emitting diodes / bioactive compounds / colour / total phenolic compounds / flavonoids / pigments / anthocyanins / phenylalanine ammonia lyase / antioxidant potential / ascorbic acid content

V doktorski disertaciji smo preučili vpliv emitirane svetlobe svetlečih diod na vsebnosti bioaktivnih spojin, predvsem fenolov, v izbranih plodovih sadja in zelenjave po obiranju. Določili smo aktivnosti dveh encimov fenilpropanoidne/flavonoidne sintezne poti, tj. fenilalanin amonijak liazo (PAL) in flavonoid 3'-hidroksilazo. Odzivi plodov na obsevanje so bili odvisni od izbrane valovne dolžine svetlečih diod, trajanja obsevanja ter od vrste in sorte. Največje spremembe v vsebnostih bioaktivnih snovi smo določili pri antocianih. Modra svetloba z valovno dolžino 444 nm je značilno vplivala na povišano akumulacijo antocianov v češnjah in kožicah jabolk. Pri češnjah nismo določili razlik v vsebnostih ostalih fenolnih spojin, medtem ko so se pri jabolkih povišale vsebnosti klorogenske kisline in treh od šestih kvercetin glikozidov. Obsevanje z modro svetlobo z valovno dolžino 444 nm ni povzročilo sinteze peonidin 3-O-galaktozida, ki je bil prisoten v naravno obarvanih rdečih jabolkih. Določili smo visoke pozitivne korelacije med posameznimi antociani in aktivnostmi encima PAL. Prav tako smo določili visoko korelacijo med barvnimi parametri hue, C* in ΔE ter vsebnostjo antocianov. Rdeča svetloba ni vplivala na vsebnosti antocianov, flavonolov in flavanolov v kožici jabolk. Obsevanje s svetlobo valovnih dolžin 420, 444, 620 in 740 nm je vplivalo na znižanje vsebnosti klorofila a in b ter β -karotena, neoksantina in violaksantina. Rdeča svetloba z valovno dolžino 740 nm je rezultirala v povišanju vsebnosti zeaksantina.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=113423>

664.8.03:641.1:577.1

COBISS.SI-ID 5144184

6

MARTINOVIĆ, Neda

Antioxidative activity of sinapic acid and its derivatives in model lipid systems : doctoral dissertation = Antioksidativna učinkovitost sinapinske kisline in njenih derivatov v modelnih lipidnih sistemih : doktorska disertacija / Neda Martinović ; mentorica Helena Abramovič, somentorica Nataša Poklar Ulrih. - Ljubljana : [N. Martinović] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2020. - IX, 142, [12] f. : ilustr. ; 30 cm

sinapic acid / sinapine / syringic acid / syringaldehyde / 4-vinylsyringol / ethyl sinapate / propyl sinapate / butyl sinapate / antioxidants / free radical scavenging / lipid peroxidation / emulsion / oil / oleoel / liposomes / sinapinska kislina / sinapin / siringinska kislina / siringaldehid / 4-vinilsyringol / etil sinapat / propil sinapat / butil sinapat / antioksidanti / lovljenje prostih radikalov / lipidna peroksidacija / emulzija / olje / oleogel / liposomi

Učinkovitost sinapinske kisline in njenih derivatov se razlikuje glede na testni sistem, vrsto prostih radikalov in mehanizem antioksidativnega delovanja. Pokazali smo, da so parametri zgodnjega odziva v lovljenju prostih radikalov ustrezni za ocenjevanje razlik med antioksidanti s primerljivo aktivnostjo v končni točki (v stanju ravnotežja). Med izbranimi spojinami sta siringinska kislina in sinapinska kislina pokazali največjo sposobnost lovljenja $O_2^{\cdot-}$ in DPPH $^{\cdot}$ radikalov (določeno v stanju ravnotežja) in največjo sposobnost zaviranja peroksidacije lipidov v olju. Estri sinapinske kisline so imeli najvišjo aktivnost v emulziji olja-vodi in suspenziji liposomov; etil sinapat in propil sinapat pa sta se izkazali za odlična lovilca $^{\cdot}OH$ radikalov. Estri, ki so najbolj lipofilni, imajo največji učinek na termično in entalpijsko destabilizacijo stanja gela liposomskega lipidnega dvosloja in povečajo urejenost v tekočem stanju lipidov. Ta dvojni učinek na lipidni dvosloj bi lahko pomenil, da estri sprožijo tvorbo nanodomov z zmanjšano fluidnostjo, ki ujamejo hidroperokside in s tem zavirajo peroksidacijo lipidov. V oleogelu je bila stopnja inhibicije za bolj polarne spojine, sinapinsko kislino, siringinsko kislino in siringaldehid, na isti ravni kot za 4-vinilsyringol in butil sinapat, kar je pokazalo na možne interakcije teh manj polarnih spojin s sredstvom za strukturiranje olja v oleogel. Ta raziskava je tako odprla nov pristop: možnost vključitve lipofilnih antioksidantov za podaljšanje oksidativne stabilnosti izdelkov na osnovi oleogelov. Pokazali smo, da predstavljajo semena bele gorčice surovino z dodano vrednostjo za pridobivanje antioksidativnih spojin, ki so učinkovite pri preprečevanju peroksidacije lipidov v sistemih, kot sta olje in oleogel.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=115068>

577.1:547.587.53:66.964.3.097.8

COBISS.SI-ID 5181304

7

MESZAROŠ, Anja

Vrednotenje analitičnih metod za oceno ustreznosti celodnevne prehrane v vojašnicah : doktorska disertacija = Evaluation of analytical methods for daily military meals estimation : doctoral dissertation / Anja Meszaroš ; mentor Tomaž Polak, somentor Marjan Simčič. - Ljubljana : [A. Meszaroš] : [BF, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti], 2016. - XV, 101, [5] f. : ilustr. ; 30 cm

prehrana / prehrana vojakov / celodnevni vojaški obroki / kemijska analiza / računalniška analiza / vrednotenje metod / makrohranila / vitamin C / vitamin E / maščobnokislinska sestava / priporočila / nutrition / military nutrition / daily military meals / chemical analysis / computer analysis / evaluation of methods / macronutrients / fatty acid composition / recommendations

Namen raziskave je bil oceniti skladnost vojaške prehrane s Prehranskimi priporočili za Slovensko vojsko in Referenčnimi vrednostmi za vnos hranil (2004). Nadalje smo na podlagi statistične obdelave in primerjave analiziranih in izračunanih vrednosti želeli oviniti uporabnost računalniškega programa Prodi 5.7 Expert za načrtovanje in vrednotenje prehrane vojakov. Pri tem smo kot referenčne vrednosti vzeli rezultate kemijskih in fizikalnih analiz. Za statistično primerjavo metod smo uporabili Studentov t-test ob upoštevanju 95 % intervala zaupanja. Po metodi dvojne košarice smo naključno in v treh paralelkah vzorčili 15 celodnevni vojaških obrokov. S kemijsko analizo in računalniškim izračunom smo določili vsebnosti makrohranil, vsebnost prehranske vlaknine, dnevne vnose vitaminov C in E ter izračunali energijsko vrednost in energijske deleže makrohranil. Z metodo plinske kromatografije smo določili maščobnokislinsko sestavo posameznih obrokov, deleže NMK, ENMK in VNMK, dnevni vnos *trans* maščobnih kislin in izračunali nekatere prehransko pomembne indekse s pomočjo katerih smo ocenili kakovosti maščob v vojaški prehrani. Povprečna energijska vrednost vojaškega obroka je znašala 12,9 MJ, kar je malce pod spodnje mejo prehranskih priporočil za Slovensko vojsko, vendar še vedno v skladu z Referenčnimi vrednostmi za vnos hranil za zmerno telesno aktivnost. Povprečni energijski delež ogljikovih hidratov je znašal 55,4 %, maščob 28,6 % in beljakovin 15,8 %. Celodnevna vnosa vitaminov C in E sta bila nad priporočenimi vrednostmi in sicer za vitamin C 216,1 mg in vitamin E 17,4 mg, kar pa je glede na specifične potrebe vojakov po antioksidantih ustrezno in priporočljivo. Rezultati so pokazali, da je program Prodi 5.7 Expert Plus primeren za načrtovanje in oceno dolgoročnega vnosa makrohranil, prehranske vlaknine, nasičenih maščobnih kislin, *n-3* maščobnih kislin, vitamina C ter prehransko pomembnih razmerij za oceno kakovosti maščob v prehrani: n-6/n-3 in P/S

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_meszaros_anja.pdf

613.2-057.36:641.1:543.2/.9

COBISS.SI-ID 4702072

8

OCVIRK, Miha

Določanje pristnosti hmelja (*Humulus lupulus* L.) in analiza aromatičnih sestavin hmelja v pivu : doktorska disertacija = Determination of hop (*Humulus lupulus* L.) authenticity and analysis of hop aroma compounds in beer : doctoral dissertation / Miha Ocvirk ; mentor Iztok Jože Košir, somentorica Nataša Poklar Ulrih. - Ljubljana : [M. Ocvirk] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2018. - VIII, 88 f. : ilustr. ; 31 cm

hmelj / *Humulus lupulus* L. / hmeljni ekstrakt / alfa-kislina / izo-alfa-kislina / eterično olje / pivo / hmeljenje / višji alkoholi / estri / aroma / diferencialna dinamična kalorimetrija / HS-SPME / GC / MS / GC-FID / FTIR / HPLC / avtentičnost / geografsko poreklo / botanična pristnost / izotopska razmerja ogljika / izotopska razmerja dušika / izotopska razmerja žvepla / GC-C-IRMS / kemometrija / hop / hop extract / alpha-acids / iso-alpha-acids / essential oil / beer / hopping / aroma / higher alcohols / esters / differential scanning calorimetry / authenticity / geographical origin / botanical origin / stable isotope carbon ratio / stable isotope sulphur ratio / stable isotope nitrogen ratio / chemometrics

Namen raziskave je bil določiti botanično pristnost hmelja (*Humulus lupulus* L.). Z analizo vsebnosti in sestave eteričnega olja in vsebnosti in razmerij alfa- in beta-kislin, ki so genetsko pogojena smo s pomočjo multivariantne statistike med sabo uspešno ločili pet najpogostejše gojenih sort v Sloveniji. Geografsko poreklo smo določali na 77 vzorcih hmelja, zbranih iz vseh svetovno najpomembnejših področij pridelave. Izmerjena razmerja stabilnih izotopov smo uporabili kot prstni odtis posamezne geografske regije pridelovalke hmelja. Z veliko zanesljivostjo smo iz vrednosti $\delta^{15}\text{N}$ in $\delta^{34}\text{S}$ določili klasifikacijo vzorcev glede na njihovo geografsko poreklo, medtem ko smo z vrednostmi $\delta^{13}\text{C}$ uspeli nakazati razlikovanje slovenskih sort glede na botanično pristnost. Grupiranje piv na primerne in tiste, ki imajo v aromi manjša odstopanja smo izvedli na podlagi rezultatov analiz hlapnega profila piva in vsebnosti višjih alkoholov in estrov v kombinaciji s kemometrijo. Iz rezultatov sklepamo, da v pivovarskem procesu ne prihaja do konstantne, ponavljajoče napake, saj so bili vzorci z odstopanji v grafu narejenem z metodo glavnih osi raztreseni okrog primernih in niso tvorili samostojne skupine. Najvišji izkoristek izomerizacije (19 %) smo dosegli

po 100 minutah kuhanja hmelja v pivini. Daljši čas kuhanja povzroči razpad izo-alfa-kislin. S časom se v vreli pivini koncentracije komponent eteričnega olja močno znižujejo, tudi do vrednosti, ki so pod mejo zaznavnosti. Z diferencialno dinamično kalorimetrijo zaznani fazni prehodi med segrevanjem in ohlajanjem hmeljnih ekstraktov, čeprav so ti sestavljeni iz približno 70 % alfa- in beta-kislin, niso posledica reakcije izomerizacije alfa-kislin.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=101343>

633.791:663.4:543.2/.9

COBISS.SI-ID 4917112

9

OVCA, Andrej

Skladnost formalnega izobraževanja na področju varnosti živil s potrebami živilsko-prehransko-oskrbovalne verige : doktorska disertacija = Compliance of formal education with food safety needs within food supply chain : doctoral dissertation / Andrej Ovca ; mentor Peter Raspor, somentorica Mojca Jevšnik. - Ljubljana : [A. Ovca] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2017. - XI, 135, [27] f. : ilustr. ; 31 cm

nadzor nad živili / varnost živil / HACCP / dobre prakse / živilsko prehransko oskrbovalna veriga / zaposleni pri delu z živili / mladostniki / potrošniki / izobraževanje / food policy / food safety / good practices / food supply chain / food handlers / adolescents / consumers / education

Cilj doktorske disertacije je analizirati doprinos formalnega izobraževanja k zagotavljanju in obvladovanju varnosti živil. V ta namen je bila zasnovana presečna študija s kombiniranim metodološkim pristopom. Ugotovitve kažejo, da je formalno izobraževanje v osnovi primerno načrtovano, vendar ne obravnava vseh področij zagotavljanja varnosti živil enakomerno vzdolž živilsko-prehransko-oskrbovalne verige. Prav tako ne senzibilizira posameznika v zadostni meri glede subjektivnega dojemanja potencialnih tveganj za zdravje, ki so prisotna pri rokovanju z živili. Preventivni sistem za zagotavljanje varnosti živil (HACCP) je ob koncu formalnega poklicnega izobraževanja slabo poznan in/ali napačno interpretiran. Dijaki na področju gostinstva se glede znanja, odnosa in izvedbe dela značilno razlikujejo od drugih dijakov živilske smeri. Namenska delavnica na področju izvajanja preventivnih ukrepov zagotavljanja varnosti živil se izkaže kot učinkovita metoda dela, s katero lahko vplivamo tako na raven znanja kot tudi na stališča ciljne skupine. Vpliv formalnega izobraževanja na poznavanje novih proizvodnih tehnologij je šibak in selektiven. Vloga učitelja je na več ravneh prepoznana kot ključna pri doseganju zastavljenih učnih ciljev. Vendar pristop, pri katerem učitelj sam izvaja elemente zagotavljanja varnosti živil, dijaka prikrajša za tovrstno praktično izkušnjo že v času formalnega izobraževanja. Ugotovitve izvedene raziskave predstavljajo sporočilo izvajalcem izobraževanj in usposabljanj glede kritičnih točk obstoječega pristopa. Hkrati pa ugotovitve predstavljajo tudi izhodišča načrtovalcem politik na področju zagotavljanja varnosti živil in izobraževanja dijakov živilskih smeri in zaposlenih v proizvodnji in prometu z živili.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=96659>

614.31:641.1:664:613.2:366.1

COBISS.SI-ID 4855672

10

PENKO, Ana

Vpliv rastlinskih ekstraktov na zmanjšanje vsebnosti heterocikličnih aromatskih aminov in oksidov holesterola v toplotno obdelanem piščančjem mesu : doktorska disertacija = The effect of plant extracts on heterocyclic aromatic amines and cholesterol oxides reduction in thermally treated chicken meat : doctoral dissertation / Ana Penko ; mentorica Lea Demšar, somentorica Bojana Žegura. - Ljubljana : [A. Penko] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2015. - XVII f., 135, [43] str. : ilustr. ; 30 cm

meso / piščančje meso / *n*-3 VNMK / rastlinski izvlečki / heterociklični aromatski amini / oksidacija lipidov / oksidi holesterola / toplotna obdelava / citotoksičnost / genotoksičnost / meat / chicken meat / *n*-3 PUFA / plant extracts / heterocyclic aromatic amines / lipid oxidation / cholesterol oxides / thermal treatment / cytotoxicity / genotoxicity

Namen raziskave je bil proučiti vpliv dodatka rastlinskih ekstraktov v kompleksne matrikse (meso/sekljanine, običajne in obogatene z *n*-3 večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami, VNMK) na zmanjšanje tvorbe zdravju škodljivih komponent, ki nastanejo med skladiščenjem svežega mesa v različnih aerobnih pogojih (produkti oksidacije lipidov; malondialdehid, TBK, in oksidi holesterola, OH) in med različnimi postopki toplotne obdelave ter stopnjami pečenosti mesa (heterociklični aromatski amini, HAA). Učinek dodanih rastlinskih ekstraktov se lahko zmanjša, če niso vezani na ustrezen nosilec. V izbranih rastlinskih ekstraktih smo določili vsebnost skupnih fenolnih spojin z metodo Folin-Ciocalteu, posamezne fenolne spojine z LC-MS, citotoksičnost in genotoksičnost le-teh pa preverili s testi MTT, MTS in komet. Vsebnost HAA in OH smo določili z LC-MS oz. LC-MS/MS, TBK spektrofotometrično. Fenolni profili izbranih etanolnih rastlinskih ekstraktov se razlikujejo, noben ne

kaže citotoksičnosti oz. genotoksičnosti na testnih celicah HepG2. *n*-3-obogatitev povzroči povečanje števila TBK in vsebnosti OH ter praviloma zmanjša ($p > 0,05$) tvorbo HAA po toplotni obdelavi v primerjavi z običajnim mesom. Z vidika zaviranja oksidacijskih procesov smo ugotovili, da je kot nosilec ekstrakta najbolj primeren škrob, pakiranje v atmosfero z majhnimi koncentracijami O₂, ter med postopki toplotne obdelave pečenje na žaru. Dodatek ekstrakta brinovih jagod značilno zmanjša število TBK in OH, odvisno od uporabljenega nosilca ekstrakta (škrob < sol < olje). Tudi tvorbo HAA v mesu po toplotni obdelavi zmanjša dodatek večine rastlinskih ekstraktov, pri tem je zelo pomemben vpliv matriksa (integralni kos mesa vs. razdeto meso), načina toplotne obdelave (žar, pečica in pečica IR) ter nosilca ekstrakta. Značilno največ HAA in nasprotno najmanj malondialdehida (manjše število TBK) se tvori pri pečenju na žaru, pri pečenju v pečici in pečici IR pa približno enako. Skladiščenje piščančjega mesa in sekljancev v izrazito aerobnih pogojih (O₂, med 20 % in 80 %) poveča število TBK in vsebnost skupnih OH ter bistveno zmanjša vsebnost HAA po toplotni obdelavi v primerjavi s skladiščenjem pri majhni koncentraciji O₂ (< 0,1 %). Hkrati se v takih pogojih poslabšajo senzorični parametri, ki kažejo na oksidacijske procese (pojav žarke in postane arome).

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_penko_ana.pdf

637.51/.52+664.9:641.1:543.2/.9

COBISS.SI-ID 4552056

11

PISKERNIK, Saša

Protimikrobna učinkovitost rastlinskih izvlečkov *in vitro* in v izbranih živilih : doktorska disertacija = Antimicrobial efficiency of plant extracts *in vitro* and in selected foods : doctoral dissertation / Saša Piskernik ; mentorica Sonja Smole Možina. - Ljubljana : [S. Piskernik] : [BF, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti], 2016. - IX, 70, [15] f. : ilustr. ; 30 cm

protimikrobne snovi / rastlinski izvlečki / izvleček rožmarina / protimikrobna učinkovitost / minimalna inhibitorna koncentracija / inhibicija rasti / grampozitivne bakterije / gramnegativne bakterije / patogene bakterije / kvarljivci / *in vitro* / piščančji mesni sok / piščančje meso / živila / jabolčni sok / antimicrobials / plant extracts / rosemary extract / antimicrobial activity / minimal inhibitory concentration / growth inhibition / Gram-positive bacteria / Gram-negative bacteria / pathogens / spoilage bacteria / chicken meat juice / chicken meat / foods / apple juice

Rastlinski izvlečki predstavljajo alternativo sintetičnim protimikrobnim snovem, ker v določenih razmerah lahko učinkovito inhibirajo patogene bakterije in kvarjenje hrane. Za določanje protimikrobne učinkovitosti izvlečkov obstajajo različne metode, prav tako lahko dobljene rezultate različno ovrednotimo. To pomeni, da rezultate posameznih študij težko primerjamo med seboj. V eksperimentih smo testirali različne metode za določanje protimikrobne učinkovitosti (metoda difuzije z diski, metoda razredčevanja v trdnem in tekočem gojišču, metoda razredčevanja v mikrotitrski ploščici). Med uporabljenimi metodami je bila metoda razredčevanja v mikrotitrski ploščici najbolj primerna. Zato smo s to metodo določili vrednosti MIK različnim izvlečkom, med katerimi so bili najbolj učinkoviti tisti, pri katerih je prevladovala karnozolna kislina. Izvlečki rožmarina so imeli boljši učinek na grampozitivne bakterije, kot na gramnegativne bakterije. Protimikrobni učinek izvlečkov rožmarina smo nadalje določili v živilskih modelih in v živilih. Na delovanje izvlečkov vplivajo različni dejavniki. Delež beljakovin in maščob v živilu zmanjša učinkovitost izvlečkov rožmarina. Protimikrobni učinek izvlečka rožmarina na bakterije vrste *Campylobacter jejuni* v piščančjem mesu v kombinaciji z zamrzovanjem je znižal število bakterij za 2 log enoti. Določili smo tudi protimikrobni učinek dveh izvlečkov rožmarina na vegetativne celice in spore bakterij vrste *Alicyclobacillus acidoterrestis* v jabolčnem soku. Oba izvlečka v vrednostih MIK inhibirata rast vegetativnih celic, hkrati pa ne vplivata na senzorične lastnosti jabolčnega soka. Vrednosti MIK niso vplivale na spore, vendar so pri tako nizkih koncentracijah spore lahko vzkile v vegetativne celice, na katere je potem inhibitorno deloval izvleček rožmarina. Vsi rezultati kažejo, da so izvlečki rožmarina lahko alternativni način konzerviranja različnih živil, vendar je pred njihovo uporabo v živilih potrebno preveriti čim več dejavnikov, ki lahko vplivajo na njihovo protimikrobno učinkovitost.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_piskernik_sasa.pdf

579.67

COBISS.SI-ID 4633464

12

POTOČNIK, Tanja

Določanje botaničnega in geografskega porekla ter vpliv praženja semen na kemijsko sestavo bučnega olja : doktorska disertacija = Determination of botanical and geographical origin and seeds roasting influence on chemical composition of pumpkin seed oil : doctoral dissertation / Tanja Potočnik ; mentor Izток Jože Košir, somentor Rajko Vidrih. - Ljubljana : [T. Potočnik] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2018. - IX, 62 f. : ilustr. ; 31 cm

bučno olje / bučna semena / *Cucurbita pepo* L. / praženje / vpliv temperature / PAH / HPLC-FLD / aroma / SPME / GC / MS / pirazini / ekstrakcija / barva / tokoferoli / polifenoli / antioksidacijski potencial / DPPH radikal / kislinsko število / jedno število / saponifikacijsko število / peroksidno število / avtentičnost / geografsko poreklo / botanična pristnost / maščobnokislinska sestava / steroli / izotopska razmerja ogljika / GC-C-IRMS / kemometrija / pumpkin oil / pumpkin seeds / roasting / effect of temperature / aroma / pyrazines / extraction / colour / tocopherols / polyphenols / antioxidant activity / DPPH radical / acid value / iodine value / saponification value / peroxide value / authenticity / geographical origin / botanical origin / fatty acid composition / sterols / stable isotope carbon ratio / chemometry

Namen raziskave je bil določiti vpliv temperature praženja bučnih semen na kemijsko sestavo bučnega olja. Bučna olja smo pražili pri temperaturah od 90 do 200 °C, en vzorec je ostal nepražen kot kontrola. S pomočjo tekočinske kromatografije smo v vzorcih bučnega olja določili pet policikličnih aromatskih ogljikovodikov (PAHov), ki se tvorijo pri temperaturi 150 °C. Njihove koncentracije nato naraščajo z naraščanjem temperature praženja. Določili smo tudi komponente arome z mikroekstrakcijo na trdni fazi in nadaljno določitvijo s plinsko kromatografijo. Pri nižjih temperaturah praženja prevladujejo razni aldehidi in alkoholi, pri najvišjih uporabljenih temperaturah praženja pa razni derivati pirazina, ki so nosilci pražene arome. Vsebnosti α - in γ -tokoferolov se z naraščanjem temperature bistveno ne spreminjajo, medtem ko koncentracija identificiranih polifenolov se. S praženjem naraste, nato pa z nadaljnjim višanjem temperature njihova koncentracija znatno upade. Antioksidacijski potencial, določen s pomočjo radikala 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), narašča do temperature praženja 110 °C in nato pada. Za določitev geografske pristnosti smo zbrali vzorce bučnih semen iz štirinajstih različnih držav, jim določili maščobnokislinsko ter sterolno sestavo s plinsko kromatografijo ter razmerja stabilnih izotopov ogljika z masnim spektrometrom. Na podlagi teh rezultatov in z uporabo kemometrije smo lahko ločili med sabo celo vzorce iz sosednjih držav (Slovenije, Avstrije ter Hrvaške). Enake analize smo opravili za določitev botanične pristnosti, kjer smo vzorcem bučnega olja dodali sojino, sončnično ter repično oljem, v količinah od 1 do 10 ut.%. Z uporabo kemometričnih metod, upoštevajoč rezultate maščobnokislinske sestave in razmerij stabilnih izotopov ogljika ($^{13}C/^{12}C$), smo dosegli 100% pravilno ločitev, in to celo pri najmanjšem dodatku, 1 %.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=101455>

664.34:635.62:543.635.3

COBISS.SI-ID 4916856

13

RIBIČ, Urška

Proučevanje razvoja odpornosti različnih sevov bakterij vrste *Staphylococcus epidermidis* proti didecildimetilamonijevemu kloridu : doktorska disertacija = Examining the development of resistance in different strains of *Staphylococcus epidermidis* to didecyldimethylammonium chloride : doctoral dissertation / Urška Ribič ; mentorica Barbara Jeršek, somentorica Anja Klančnik. - Ljubljana : [U. Ribič] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2020. - XII, 117, [51] f. : ilustr. ; 30 cm

mikrobiološka kontrola prostorov / čisti prostori / *Staphylococcus epidermidis* / razkuževanje / kvartarne amonijeve spojine / didecildimetilamonijev klorid / DDAC / sekvenciranje RNA / biofilm / izlivne črpalke / mehanizmi odpornosti / microbiological monitoring / cleanrooms / disinfection / quaternary ammonium compounds / didecyldimethylammonium chloride / RNA sequencing / biofilms / efflux pumps / resistance mechanisms

V raziskavah smo okarakterizirali seve *S. epidermidis* izolirane iz čistih prostorov in klinične seve *S. epidermidis* ter raziskali njihovo sposobnost prilagoditve na didecildimetilamonijev klorid (DDAC) in razkužilo, ki vsebuje DDAC. Občutljivost za razkužilo je bila pri 57 sevih *S. epidermidis* iz čistih prostorov določena z minimalno inhibitorno koncentracijo (MIK) od 1,3 do 40,8 mg/L in z MIK DDAC od 0,1 do 4,5 mg/L, ter pri 15 sevih iz kliničnega okolja od 10,2 do 20,4 mg/L in za DDAC 0,1 mg/L. Večina sevov iz čistih prostorov (96,5 %) je imela gene *qacA/B* in *qacC*, 47,4 % sevov je bilo odpornih proti gentamicinu in 3,5 % proti cefoksitinu, 40,4 % sevov iz čistih prostorov je tvorilo biofilm. 7 sevov smo izpostavili naraščajočim koncentracijam razkužila in DDAC. Sevi se na razkužilo niso prilagodili, medtem ko so se 4 sevi prilagodili na DDAC in 3 sevi so postali odporni proti DDAC. Pri tem se je vrednost MIK povečala za od 2 do 180-krat. Prilagojeni/odporni sevi so bili navzkrižno odporni proti benzalkonijevemu kloridu (3/7) in antibiotikom (4/7), imeli zmanjšano velikost celic (6/7), spremenjen maščobnokislinski profil (7/7), močnejše delovanje izlivnih črpalk (5/7) in bili močnejši tvorci biofilma (3/7) v primerjavi z neprilagojenimi sevi. Analiza diferencialno izraženih genov z RNA-seq prilagojenega seva (Se11Ad) in odpornega seva (Se18To) je pokazala vključenost več različnih mehanizmov. Pri obeh sevih je bilo po prilagoditvi močno povešano delovanje izlivnih črpalk (npr. izlivna črpalka za arzenove spojine) in transportnih sistemov (npr. za aminokisliline, peptide, fosfatne ione, nukleotide). Pri Se11Ad je bil pomemben mehanizem znižana aktivnost sistema Agr, kar je vodilo k povečani tvorbi biofilma, pri Se18To pa različni geni, ki sodelujejo pri sintezi celične stene, kar je vodilo do zadebelitve celične stene. Študij sevov bakterij vrste *S. epidermidis* in prepoznavanje mehanizmov prilagoditve in razvoja odpornosti proti razkužilom so ključnega pomena pri iskanju uspešnih strategij razkuževanja.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=121692>
579.24+579.26:615.281:648.6
COBISS.SI-ID 36022787

14

STERNIŠA, Meta

Possibilities of reducing microbial contamination of common carp (*Cyprinus carpio*) meat : doctoral dissertation = Možnosti zmanjšanja mikrobiološke kontaminacije mesa navadnega krapa (*Cyprinus carpio*) : doktorska disertacija / Meta Sterniša ; mentorica Sonja Smole Možina, somentor Jan Mráz. - Ljubljana : [M. Sterniša] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2020. - XI, 102, [28] f. : ilustr. ; 30 cm

mikrobiološka kakovost / meso rib / navadni krap / *Cyprinus carpio* / obstojnost živil / kvar / naravne snovi / protimikrobno delovanje / *Pseudomonas* / bakterijska adhezija / biofilm / kontaminacija površin / prenos kontaminacije / microbiological quality / fish meat / common carp / spoilage / shelf-life / natural compounds / antimicrobial effect / bacterial adhesion / biofilms / surface contamination / transfer of contamination

Akvakultura navadnega krapa je ena izmed najpomembnejših na svetu, a le majhen del proizvodnje je vezan na Evropo, kjer krap zaradi svojih senzoričnih lastnosti – kljub dobri hranilni vrednosti in cenovni dostopnosti – ostaja neizkoriščen. Pokazali smo, da dodatni procesni korak izkrvavitve izboljša kakovost mesa navadnega krapa z zavrtjem maščobne oksidacije in bakterijske rasti, kar izboljša senzorične lastnosti in upočasni kvar. Kvar svežega ribjega mesa povzročijo predvsem bakterije, med njimi prevladujejo vrste rodu *Pseudomonas*. Te bakterije so pogosto odporne na protimikrobne snovi, a smo pokazali dobro anti-*Pseudomonas* aktivnost komercialnih naravnih dodatkov na osnovi rožmarinskega izvlečka in puferiranega kisa ter pripravljenih etanolnih izvlečkov origana in koprive. V sprejemljivih koncentracijah so zavrli rast bakterij in njihovo encimsko aktivnost. Bakterije *Pseudomonas* pa najdemo tudi v biofilmih na površinah v obratih predelave ribjega mesa. Pokazali smo, da se bakterije *Pseudomonas* adherirajo in tvorijo biofilm na nerjavnem jeklu in polistirenu pri 5 °C, 15 °C in 30 °C. Bakterije *Pseudomonas* lahko tvorijo biofilm na površinah materialov, ki se uporabljajo v ribji predelovalni industriji, v njem so bakterijske celice in encimi kvara. Ribje meso se lahko dodatno kontaminira med predelavo, kar smo preučili v nadaljevanju raziskave. Pokazali smo, da je prenos bakterij *Pseudomonas* s površinsko tvorjenega biofima na nerjavnem jeklu odvisen od količine beljakovin in maščob modelne kontaktne površine. Dinamika od prvega do zadnjega zaporednega kontakta je pokazala, da čim višja je hitrost padanja prenosa biofilmskih celic, hitreje se prenos zniža. A če je hitrost manjša, je razlika v stopnji prenosa med zaporednimi stiki manjša in lahko predstavlja dolgotrajnejšo kontaminacijo.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=121766>
579.67:579.24/.25:597.551.214:547.9
COBISS.SI-ID 36039427

15

ŠIKIĆ Pogačar, Maja

Adhezivnost bakterije *Campylobacter jejuni* K49/4 v celičnih linijah črevesnih epitelnih celic in protiadhezijska učinkovitost izbranih rastlinskih izvlečkov : doktorska disertacija = Adhesion of *Campylobacter jejuni* K49/4 in the cell model of intestine epithelial cells and anti-adhesion efficacy of selected plant extracts : doctoral dissertation / Maja Šikić Pogačar ; mentorica Dušanka Mičetić-Turk, somentorica Sonja Smole Možina. - Ljubljana : [M. Šikić Pogačar] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2016. - XIV, 124, [19] str. : ilustr. ; 30 cm

patogene bakterije / *Campylobacter jejuni* K49/4 / celična adhezija / translokacija / *in vitro* / citotoksičnost / rastlinski izvlečki / protimikrobne snovi / protiadhezijska učinkovitost / celice PSI / celice H4 / pathogens / adhesion / translocation / cytotoxicity / plant extracts / antimicrobials / anti-adhesion / PSI cells / H4 cells

Na vprašanje ali je bakterija *C. jejuni* K49/4 sposobna translokacije skozi sloj črevesnih epitelnih celic, smo poskušali odgovoriti z uporabo polariziranega 3D modela prašičjih enterocitov PSI. V *in vitro* eksperimentalnem delu nismo ugotovili nobene povezave med transepitelno električno upornostjo (TEER) in sposobnostjo translokacije *C. jejuni* K49/4. Bakterije *C. jejuni* K49/4 smo zasledili v bazalnem delu vodnjaka že 3 h po okužbi polariziranega črevesnega epitela, brez znatnega zmanjšanja vrednosti TEER, kar nakazuje na transcelularni prenos *C. jejuni* K49/4 skozi funkcionalni celični monosloj. Protiadhezijska terapija predstavlja novo, alternativno metodo zdravljenja bakterijskih okužb, ki je zanimiva predvsem zato, ker preprečuje adhezijo bakterij, ključno, začetno stopnjo okužbe. Še bolj pomembno pri protiadhezijski terapiji je dejstvo, da ne izvaja selektivnega pritiska na bakterije, zaradi česar je manjše tveganje razvoja odpornosti. Da bi preverili inhibicijo adhezije *C. jejuni* K49/4, smo v nadaljnjih poskusih *in vitro* testirali različne rastlinske izvlečke na celičnem monosloju celic PSI, in sicer izvleček tropin sorte Modri pinot (GE), oljčnih listov (OE) ter timijana (TE) in njegov preostanek po hidrodestilaciji eteričnega olja (TE-R) ter izvleček iz semen rastline *Alpinia katsumadai* (SEE) in njegov preostanek po hidrodestilaciji eteričnega olja (hdSEE-R). Pred poskusom protiadhezijske učinkovitosti izvlečkov smo preverili njihovo

protimikrobno delovanje ter citotoksičnost na celičnih kulturah PSI in H4 in s tem določili koncentracijsko območje za testiranje protiadhezijske aktivnosti izvlečkov. Želeli smo preveriti uporabnost odpadnega materiala in stranskih proizvodov agro-živilstva ter primerjati njihovo učinkovitost z izvlečki iz izhodnega rastlinskega materiala. Z različnimi metodami predinkubacije celic PSI z izvlečki ali s *C. jejuni* K49/4 smo preverjali njihov vpliv na celične receptorje ali bakterijske adhezine. Najučinkovitejša izvlečka pri preprečevanju adhezije *C. jejuni* K49/4 na celice PSI sta bila SEE in hdSEE-R, sledila sta TE in TE-R. Zanimivo je, da so se odpadni materiali (TE-R in hdSEE-R) ter OE, izvleček iz stranskega proizvoda agro-živilske industrije, pokazali kot zelo uspešni pri preprečevanju adhezije *C. jejuni* K49/4 tudi pri zelo nizkih koncentracijah. Rezultati so pokazali učinkovitost odpadnega materiala (TE-R in hdSEE-R) in stranskih proizvodov (OE) pri preprečevanju adhezije bakterij. Obetavni rezultati študije kažejo možnosti uporabe izvlečkov iz odpadnih rastlinskih materialov na različnih področjih, vključno z industrijo in skrbjo za zdravje ljudi in živali.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_sikic_pogacar_maja.pdf

579.2+579.61:547.9

COBISS.SI-ID 4662392

16

ŠPORIN, Monika

Izboljšanje prehranske vrednosti in trajnosti kruha z dodatkom grozdnih tropin in oljčne pogače : doktorska disertacija = Improving the nutritional value and a shelf life of bread with the addition of grape pomace and olive cake : doctoral dissertation / Monika Šporin ; mentorica Sonja Smole Možina, somentor Boris Kovač. - Ljubljana : [M. Šporin] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XIII, 131 f. : ilustr. ; 30 cm

kruh / grozdnje tropine / oljčna pogača / reološke lastnosti testa / senzorične lastnosti / fenolne spojine / antioksidativna aktivnost / prehranska vlaknina / protimikrobno delovanje / bread / grape pomace / olive cake / rheological properties of the dough / sensory properties / phenolic compounds / antioxidant activity / dietary fiber / antimicrobial activity

Namen raziskave je bil preučiti vpliv dodatka mletih grozdnih tropin (MGT) in oljčne pogače (OP) na senzorične lastnosti kruha, vsebnost fenolnih spojin in prehranske vlaknine, antioksidativno aktivnost in protimikrobno delovanje. S farinografsko analizo smo analizirali reološke lastnosti testa. Kruhu smo izmerili volumen, trdoto in barvo ter opravili senzorično analizo kruha. Z metodo Folin-Ciocalteu smo določili vsebnost skupnih fenolnih spojin v MGT in OP, testu ter kruhu, z metodama DPPH• in FRAP pa antioksidativno aktivnost. Vsebnost posameznih fenolnih spojin smo določili z metodo LC-MS. Z encimsko-gravimetrično metodo smo določili vsebnost topne, netopne in skupne prehranske vlaknine. Analizirali smo protimikrobno aktivnost brez in z inokulacijo kontrolnih sevov plesni. Dodatek MGT je vplival na reološke lastnosti testa. Dodatek sorte 'Merlot' je podaljšal čas razvoja in stabilnost testa ter zmanjšal omehčanje, medtem ko je sorta 'Zelen' na testirane parametre izkazovala nasproten učinek. Volumen je bil pri vseh kruhkih manjši v primerjavi s kontrolnim, trdota večja, barva kruha pa značilno spremenjena. Površina kruha in poroznost sredice sta postali bolj nehomogeni in pore v sredici večje. Prožnost sredice in elastičnost skorje sta se zmanjšali, drobljivost, lepljivost sredice in občutek peskavosti med žvečenjem pa povečali, prav tako vonj po kislem in sladkem. Na kisel okus, pookus in tujo aromo je vplival dodatek MGT, OP pa na grenak okus. Vsebnost skupnih fenolnih spojin se je z dodatki povečala, ravno tako antioksidativna aktivnost. Analiza LC-MS je pokazala nestabilnost določenih fenolnih spojin, kljub prisotnosti v dodatkih jih v kruhu ni bilo več zaznati. Vsebnost skupne prehranske vlaknine se je povečala ob dodatku MGT obeh sort, OP nanjo ni imela vpliva. Analiza protimikrobnega delovanja brez inokulacije je pokazala inhibitorno delovanje MGT obeh sort, rast plesni na kruhu z OP pa je bila intenzivnejša kot pri kontrolnem kruhu. Analiza z inokulacijo posameznih sevov plesni ni pokazala inhibitornega delovanja.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=108354>

664.64.016:641.1:543.2/.9:579.67

COBISS.SI-ID 5079928

17

ŠUĆUR Radonjić, Sanja

Impact of microbiological and technological factors on volatile phenols content in Montenegrin red wines : doctoral dissertation = Vpliv mikrobioloških in tehnoloških dejavnikov na vsebnost hlapnih fenolov v črnogorskih rdečih vinih : doktorska disertacija / Sanja Radonjić ; Mentorica Tatjana Košmerl, somentorica Helena Prosen. - Ljubljana : [S. Radonjić] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2020. - XIII, 146, [38] f. : ilustr. ; 30 cm

wine / volatile phenols / hydroxycinnamic acids / starter cultures / yeasts / lactic acid bacteria / red wine / autochthonous grape varieties / Vranac / Kratošija / Cabernet Sauvignon / vino / hlapni fenoli / hidroksicimne kisline / starterske kulture / kvasovke / mlečnokislinske bakterije / rdeče vino / avtohtone sorte / vranac / kratošija / cabernet sauvignon

Cilj te raziskave je bil proučiti mikrobiološke in tehnološke parametre, ki vplivajo na tvorbo hlapnih fenolov (VP) v vinih avtohtonih črnogorskih sort vinske trte 'Kratošija' in 'Vranac' ter mednarodne sorte 'Cabernet Sauvignon'. V dveh zaporednih letnikih trgatve (2012 in 2013) so bili analizirani vzorci mošta in vina na prisotnost kvasovk vrste *Dekkera bruxellensis* in vsebnost hidroksicainamnih kislin (HCA) kot predhodnikov VP. Med tehnološkimi parametri smo proučili vpliv dodatka starterskih kultur komercialnih kvasovk in mlečnokislinskih bakterij (LAB) ter alternativ hrasta na kemijsko sestavo in senzorični profil vina. Kavna kislina je predstavljala prevladujočo HCA v vseh pridelanih sortnih vinih, z izjemo vina kratošija letnika 2012, kjer je bila glavna HCA ferulna kislina (93,2 %). V vseh sortnih vinih, pridelanih z inokulacijo s komercialnimi kvasovkami, smo v letniku 2012 opazili večjo skupno vsebnost vseh treh preiskovanih HCA v primerjavi z letnikom 2013, predvsem zaradi velike vsebnosti kavne kisline v letniku 2012. Ugotovljene so bile statistično značilne razlike v vsebnosti VP med komercialnimi kvasovkami, LAB in alternativami hrasta. Prisotnost kvasovk rodu *Dekkera bruxellensis* spp. je bila opažena šele v letniku 2013 za kontrolno vino vranac po zaključeni alkoholni fermentaciji (AF), kar potrjuje, da so te kvasovke prisotne v izjemno majhnem številu samo na začetku AF. Vina vranac, inokulirana s komercialnimi kvasovkami, so vsebovala največjo vsebnost *p*-kumarne kisline v letniku 2012 (1,54 mg/L), sledila pa so jim vina kratošija v letniku 2013 (1,03 mg/L). Največ vzorcev z odkritimi VP v vinih letnika 2012 je bilo ugotovljenih pri sorti vranac (12 od 28 vzorcev), medtem ko je bilo največ vzorcev v letniku 2013 pri sorti kratošiji (18 od 28 vzorcev). VP so se pojavili le v vinih avtohtonih sort grozdja po dolgem staranju stekleničenega vina, število okuženih vzorcev pa je bilo odvisno od letnika. Če primerjamo avtohtona črnogorska vina s sorto cabernet sauvignon lahko ugotovimo, da ta mednarodna sorta, pridelana v agroekoloških pogojih Čemovskega polja, ne kaže povečanja VP tudi po treh ali štirih letih staranja v steklenicah. Ugotovljeno je bilo, da VP nastajajo pretežno v vinih z večjo vsebnostjo alkohola, nizkim pH, majhno vsebnostjo reducirajočih sladkorjev in celo v vinih s prostim SO₂ nad 30 mg/L.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=124107>

663.252:579.6:547.56:543.2(043)=111

COBISS.SI-ID 44956419

18

TAJNŠEK, Lena

Pojavljanje mikotoksinov zearalenon in deoksinivalenol na zrnju pšenice (*Triticum aestivum* L.) v odvisnosti od okoljskih dejavnikov : doktorska disertacija = The occurrence of mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol in the wheat grain (*Triticum aestivum* L.) as a function of environmental factors : doctoral dissertation / Lena Tajnšek ; mentor Marjan Simčič. - Ljubljana : [L. Tajnšek] : [BF, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti], 2015. - XIII, 112, [17] f. : ilustr. ; 30 cm

mikotoksini / zearalenon / deoksinivalenol / plesni / *Fusarium* ssp / fuzarioze / pšenica / *Triticum aestivum* L. / Reska / Savinja / bela moka / črna moka / podnebni vplivi / pridelovalni postopki / gnojenje z dušikom / mycotoxins / zearalenone / deoxynivalenol / mold / fusariosis / wheat / white flour / dark flour / climate effects / production methods / nitrogen fertilization

Raziskava je bila zasnovana v letih 2006–2008 z namenom preučitve vpliva dejavnikov okolja in različnih, dolgotrajno na nespremenjen način izvajanih, postopkov pridelovanja na kontaminiranost pšeničnih zrn z mikotoksini deoksinivalenol (DON) in zearalenon (ZEA) kot sekundarnih metabolitov rodu *Fusarium*. DON, ZEA in *Fusarium* ssp v pšeničnem zrnju smo ugotavljali v pšeničnem zrnju kultivarjev Reska in Savinja, ki sta bila v pridelavi v dveh trajnih poljskih poskusih, zasnovanih leta 1992: Jable (46°7'N, 14°11'E, višina 308 m) in Rakičan (46°38'N, 14°34'E, višina 184 m). Pšenica je bila v obeh poskusih pridelana v 10 agrotehničnih postopkih, v kolobarju koruza – pšenica – ječmen/oves, od ekološko prijaznih do intenzivnih tehnik pridelovanja. Analiza varianc in multiplih korelacij med agrotehničnimi ukrepi in okoljem ter pojavljanjem DON, ZEA in *Fusarium* ssp so pokazali značilnost povezave nekaterih od teh parametrov. Na kontaminiranost zrnja z DON, ZEA in *Fusarium* ssp vplivajo gnojenje z mineralnim dušikom (N-min), kultivar in vremenske razmere. Z izbiro ustrezne lokacije in gnojenja z N-min in organskimi gnojili lahko brez fungicidov pridelamo pšenico, pri kateri DON in ZEA ne presežata dopustnih varnostnih toleranc za varno hrano. Rezultati so pokazali, da lahko z ustreznimi agrotehničnimi ukrepi pomembno zmanjšamo tveganje za okužbo pšenice s *Fusarium* ssp in za kontaminacijo moke z DON in ZEA. Pri ekstenzivni pridelavi pšenice je tveganje za pojav DON in ZEA značilno manjše kot pri intenzivni. Primerjava kultivarjev je pokazala, da je Savinja bolj odporna na kontaminacijo z DON in ZEA kot Reska. Pokazala se je značilna korelacija med *Fusarium* ssp in kontaminacijo moke z DON in ZEA. Bela moka (tip 405) je bila z DON in ZEA manj kontaminirana kot črna moka (tip 1050), zmleta iz istega zrnja, vendar bi bilo treba opraviti še dodatne raziskave, preden bi lahko zaključili, da je črna moka, ki jo običajno priporočajo kot bolj zdravo od bele, bolj kontaminirana z mikotoksini. Multipla korelacija med *Fusarium* ssp in kontaminacijo zrnja z DON in ZEA ter med gnojenjem z N-min in DON in ZEA je pokazala statistično značilnost medsebojnih povezav.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_tajnsek_lena.pdf

633.11+664.641.12:632.4:615.9

COBISS.SI-ID 4551800

19

VARDJAN, Tinkara

Proučevanje funkcionalnih učinkov kefiranogenih laktobacilov in kefirana : doktorska disertacija = Study of functional effects of kefiran producing lactobacilli and kefiran : doctoral dissertation / Tinkara Vardjan ; mentorica Irena Rogelj. - Ljubljana : [T. Vardjan] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2015. - XIII, 130 f. : ilustr. ; 30 cm

kefir / kefirna zrna / mikrobiota / laktobacili / kefiran / holesterol / laboratorijske podgane / oksidacijski stres / antioksidativna aktivnost / funkcionalna živila / kefir / kefir grains / microbiota / lactobacilli / kefiran / cholesterol / laboratory rats / oxidative stress / antioxidative activity / functional foods

Kefir sodi med najstarejše fermentirane mlečne izdelke, z zdravju koristnimi učinki. Posebnost izdelave kefirja je uporaba kefirnih zrn, ki je simbiotična združba mlečnokislinskih bakterij, kvasovk in pogosto tudi očetnokislinskih bakterij, čvrsto povezanih s proteini in kefiranom. Mnenje je, da je prav kefiran tista aktivna substanca, ki daje kefirnemu zrnu in kefirju posebne funkcionalne lastnosti. V raziskavi smo s pomočjo klasičnih in molekularnih metod (DGGE, RT-PCR in sekvenciranje) najprej proučevali velikost in sestavo mikrobne združbe kefirnih zrn, posebno pozornost pa smo posvetili potencialno kefiranogenim laktobacilom. Ker laktobacili, osamljeni iz kefirnih zrn, v čisti kulturi in laboratorijskih pogojih gojenja, niso tvorili kefirana, vendar kefiranu podobne ekso polisaharide, smo za proučevanje funkcionalnih učinkov kefirana pridobili kefiran iz kefirnih zrn. Funkcionalne učinke kefirana in celotnega kefirnega zrna smo v drugem delu raziskave proučevali v prehranskem poskusu na podganah vrste Wistar. Iz kefirnih zrn smo osamili in identificirali laktobacile vrst *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*, *Lb. kefiri* in *Lb. parakefiri*. V *in vitro* pogojih smo potrdili antioksidativno aktivnost osamljenih laktobacilov in kefirana, ki je bila primerljiva z antioksidanti kot so vitamin C, vitamin E in BHA. Potrdili smo prebiotične lastnosti kefirana, saj je dodatek kefirana v gojišče spodbudil rast izbranih laktobacilov. Z metodo lise na agarju smo potrdili protimikrobno aktivnost kefirana, ki je v koncentraciji 20 mg/ml inhibiral vrste *Bacillus cereus* IM 250, *Escherichia coli* IM 120, *Listeria monocytogens* IM 372, *L. innocua* IM 373 in *Staphylococcus aureus* IM 388. V prehranskem poskusu smo proučevali vpliv kefirana in kefirnih zrn na mikrobioto prebavnega trakta podgan ter na dve tipični motnji metabolnega sindroma (višji nivo serumskega holesterola in trigliceridov) in oksidacijski stres. Podgane, ki so poleg krme z visoko vsebnostjo holesterola, uživale kefiran oz. kefirna zrna, so imele v blatu značilno višje število laktobacilov in bifidobakterij, v krvni plazmi pa nižjo raven skupnega holesterola, v primerjavi s kontrolno skupino podgan, ki so bile krmljene samo s krmo z visoko vsebnostjo holesterola. Antioksidativnega delovanja kefirana in kefirnega zrna, ki smo ga ugotavljali preko stopnje lipidne peroksidacije v krvni plazmi, v *in vivo* študiji nismo potrdili.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_vardjan_tinkara.pdf

579.67:637.146.21:579.864:641.1

COBISS.SI-ID 4536184

20

IMENSKO KAZALO DOKTORANDOV S PODROČJA ŽIVILSTVA IN NJIHOVIH MENTORJEV TER SOMENTORJEV

Abramovič, Helena (mentor) 7
Ambrožič, Mateja (avtor) 1
Bizjak, Mojca, (avtor) 2
Boltar, Iva (avtor) 3
Božič, Janko (somentor) 5
Bučar-Miklavčič, Milena (avtor) 4
Cigić, Blaž (somentor) 6
Čanžek Majhenič, Andreja (mentor) 3
Demšar, Lea (mentor) 11
Golob, Terezija (mentor) 4
Hlastan-Ribič, Cirila (mentor) 2
Jeršek, Barbara (mentor) 14
Jevšnik, Mojca (somentor) 10
Kandolf Borovšak, Andreja, (avtor) 5
Kirbiš, Andrej (somentor) 1
Klančnik, Anja (somentor) 14
Kokalj, Doris (avtor) 6
Korošec, Mojca (mentor) 5
Košir, Iztok Jože (mentor) 9, 13
Košmerl, Tatjana (mentor) 18
Kovač, Boris (somentor) 17
Martinović, Neda (avtor) 7
Meszaroš, Anja (avtor) 8
Mičetić-Turk, Dušanka (mentor) 16
Mráz, Jan (somentor) 15
Ocvirk, Miha, (avtor) 9
Ovca, Andrej (avtor) 10
Penko, Ana, (avtor) 11
Piskernik, Saša (avtor) 12
Poklar Ulrih, Nataša (somentor) 7, 9
Polak, Tomaž (mentor) 8
Potočnik, Tanja, (avtor) 13
Prosen, Helena (somentor) 18
Raspor, Peter (mentor) 1, 10
Ribič, Urška (avtor) 14
Rogelj, Irena (mentor) 20
Simčič, Marjan (mentor) 19
Simčič, Marjan (somentor) 8
Smole Možina, Sonja (mentor) 12, 15, 17
Smole Možina, Sonja (somentor) 16
Sterniša, Meta (avtor) 15
Šikić Pogačar, Maja (avtor) 16
Šporin, Monika (avtor) 17
Šučur Radonjić, Sanja (avtor) 18
Tajnšek, Lena (avtor) 19
Vardjan, Tinkara (avtor) 20
Vidrih, Rajko (mentor) 6
Vidrih, Rajko (somentor) 13
Zadnik Stírn, Lidija (somentor) 2
Žegura, Bojana (somentor) 11

PREDMETNO KAZALO DOKTORSKIH DISERTACIJ S PODROČJA ŽIVILSTVA

- 4-vinilsiringol 7
 4-vinylsyringol 7
 acid value 13
 adhesion 16
 adipokines 2
 adipokini 2
 adolescents 10
 alfa-kislina 9
 alpha-acids 9
 analizne metode 4
 analytical methods 4
 anthocyanins 6
 anti-adhesion 16
 antimicrobial activity 12, 17
 antimicrobial effect 15
 antimicrobials 12, 16
 antioksidanti 7
 antioksidativna aktivnost 17, 20
 antioksidativni potencial 6, 13
 antioxidant activity 17, 20
 antioxidant potential 6, 13
 antioxidants 7
 antocijani 6
 apple juice 12
 aroma 3, 9, 13
 aromatic profile 3
 aromatski profil 3
 ascorbic acid content 6
 authenticity 5, 9, 13
 autochthonous grape varieties 18
 avtentičnost 9, 13
 avtohtone sorte 18
 bacterial adhesion 15
 bakterijska adhezija 15
 barva 6, 13
 beekeeping 5
 beer 9
 bela moka 19
 bioactive compounds 6
 bioaktivne spojine 6
 biofilm 14, 15
 biofilms 14, 15
 botanical origin 9, 13
 botanična pristnost 9, 13
 bread 17
 bučna semena 13
 bučno olje 13
 butil sinapat 7
 butyl sinapate 7
 Cabernet Sauvignon 18
 cabernet sauvignon 18
Campylobacter jejuni K49/4 16
 celice H4 16
 celice PSI 16
 celična adhezija 16
 celodnevni vojaški obroki 8
 cheese 3
 cheese ripening 3
 chemical analysis 8
 chemometrics 9
 chemometry 13
 chicken meat juice 12
 chicken meat 11, 12
 cholesterol 20
 cholesterol oxides 11
 citotoksičnost 11, 16
 cleanrooms 14
 climate effects 19
 colour 6, 13
 common carp 15
 computer analysis 8
 consumers 10
Cucurbita pepo L. 13
Cyprinus carpio 15
 cytotoxicity 11, 16
 čebelarstvo 5
 čisti prostori 14
 črna moka 19
 daily military meals 8
 dark flour 19
 DDAC 14
 debelost 2
 dejavniki tveganja 1
 deoksinivalenol 19
 deoxynivalenol 19
 deviško oljčno olje 4
 didecildimetilamonijev klorid 14
 didecyldimethylammonium chloride 14
 dietary fiber 17
 diferencialna dinamična kalorimetrija 9
 differential scanning calorimetry 9
 disinfection 14
 dobre prakse 10
 DPPH radikal 13
 EA/LC-IRMS 5
 education 10
 effect of feed 3
 effect of season 3
 effect of temperature 13
 efflux pumps 14
 ekstrakcija 13
 emulsion 7
 emulzija 7
 essential oil 9
 esters 9
 estri 9
 eterično olje 9
 ethyl sinapate 7
 etil sinapat 7
 evaluation of methods 8
 extraction 13
 fatty acid composition 8, 13

- feeding the bees 5
 fenilalanin amonijak liaza 6
 fenolne spojine 17
 filtracija 4
 filtration 4
 fish meat 15
 flavonoidi 6
 flavonoids 6
 flavour 3
 food control 1
 food handlers 10
 food policy 10
 food safety 1, 10
 food supply chain 10
 foodborne viruses 1
 foods 1, 12
 foreign enzymes 5
 free radical scavenging 7
 fruits 6
 FTIR 9
 funkcionalna živila 20
 functional foods 20
 fusariosis 19
Fusarium ssp 19
 fuzarioze 19
 GC 9, 13
 GC-C-IRMS 9, 13
 GC-FID 9
 genotoksičnost 11
 genotoxicity 11
 geografsko poreklo 9, 13
 geographical origin 9, 13
 gnojenje z dušikom 19
 good practices 10
 Gram-negative bacteria 12
 Gram-positive bacteria 12
 gramnegativne bakterije 12
 grampozitivne bakterije 12
 grape pomace 17
 growth inhibition 12
 grozdne tropine 17
 H4 cells 16
 HACCP 10
 hazards 1
 heterociklični aromatski amini 11
 heterocyclic aromatic amines 11
 hidroksicimetne kisline 18
 higher alcohols 9
 hlapne organske spojine 3
 hlapni fenoli 18
 hmelj 9
 hmeljenje 9
 hmeljni ekstrakt 9
 holesterol 20
 honey 5
 hop 9
 hop extract 9
 hopping 9
 HPLC 9
 HPLC-FLD 13
 HS-SPME 9
Humulus lupulus L. 9
 hydroxycinnamic acids 18
in vitro 12, 16
 inflammation 2
 inhibicija rasti 12
 iodine value 13
 irrigation 4
 iso-alpha-acids 9
 izlivne črpalke 14
 izo-alfa-kisline 9
 izobraževanje 10
 izotopska razmerja dušika 9
 izotopska razmerja ogljika 9, 13
 izotopska razmerja žvepla 9
 izvleček rožmarina 12
 jabolčni sok 12
 jodno število 13
 kefir 20
 kefir grains 20
 kefiran 20
 kefirna zrna 20
 kemijska analiza 8
 kemometrija 9, 13
 kislinsko število 13
 kontaminacija površin 15
 Kratošija 18
 kratošija 18
 krmljenje čebel 5
 kruh 17
 kvalitativne metode 2
 kvantitativne metode 2
 kvar 15
 kvarljivci 12
 kvartarne amonijeve spojine 14
 kvasovke 5, 18
 laboratorijske podgane 20
 laboratory rats 20
 lactic acid bacteria 18
 lactobacilli 20
 laktobacili 20
 light emitting diodes 6
 light irradiation 6
 light spectrum 6
 light wavelength 6
 lipid oxidation 11
 lipid peroxidation 7
 lipidna peroksidacija 7
 liposomes 7
 liposomi 7
 lovljenje prostih radikalov 7
 macronutrients 8
 makrohranila 8
 maščobnokislinska sestava 8, 13
 meat 11
 med 5
 mehanizmi odpornosti 14
 meso 11

- meso rib 15
microbiological monitoring 14
microbiological quality 15
microbiota 20
mikotoksini 19
mikrobiološka kakovost 15
mikrobiološka kontrola prostorov 14
mikrobiota 20
military nutrition 8
minimal inhibitory concentration 12
minimalna inhibitorna koncentracija 12
mladostniki 10
mlečnokislinske bakterije 18
mold 19
MS 9, 13
mycotoxins 19
n-3 PUFA 11
n-3 VNMK 11
nadzor nad živil 1, 10
namakanje 4
Nanos cheese 3
Nanoški sir 3
naravne snovi 15
natural compounds 15
navadni krap 15
nitrogen fertilization 19
nutrition 2, 8
nutrition protocols 2
obesity 2
obesity prevention 2
obsevanje s svetlobo 6
obstojnost živil 15
obvladovanje virusnih okužb 1
oil 7
oksidacija lipidov 11
oksidacijski stres 20
oksidi holesterola 11
oleoel 7
oleogel 7
olive cake 17
oljna pogača 17
olje 7
oxidative stress 20
PAH 13
pathogens 12, 16
patogene bakterije 12, 16
peroksidno število 13
peroxide value 13
phenolic compounds 17
phenylalanine ammonia lyase 6
pigmenti 6
pigments 6
pirazini 13
piščančje meso 11, 12
piščančji mesni sok 12
pivo 9
plant extracts 11, 12, 16
plesni 19
podnebni vplivi 19
polifenoli 13
polyphenols 13
poobirno tretiranje 6
postharvest treatment 6
potrošniki 10
praženje 13
prehrana 2, 8
prehrana vojakov 8
prehranska vlaknina 17
prehranski protokoli 2
prenos kontaminacije 15
preprečevanje debelosti 2
prestavljanje satja 5
pridelovalni postopki 19
priporočila 8
pristnost medu 5
production methods 19
propil sinapat 7
propyl sinapate 7
protiadhezijska učinkovitost 16
protimikrobna učinkovitost 12
protimikrobne snovi 12, 16
protimikrobno delovanje 15, 17
Pseudomonas 15
PSI cells 16
pšenica 19
pumpkin oil 13
pumpkin seeds 13
pyrazines 13
qualitative methods 2
quantitative methods 2
quaternary ammonium compounds 14
računalniška analiza 8
rastlinski izvlečki 11, 12, 16
razkuževanje 14
rdeče vino 18
recommendations 8
red wine 18
reduction diet 2
reološke lastnosti testa 17
resistance mechanisms 14
Reska 19
reversing honeycomb 5
rheological properties of the dough 17
RNA sequencing 14
roasting 13
rosemary extract 12
sadje 6
saponification value 13
saponifikacijsko število 13
Savinja 19
sekvenciranje RNA 14
sensory analyses 4
sensory properties 4, 17
senzorične lastnosti 4, 17
shelf-life 4, 15
shellfish 1
shujševalna dieta 2
sinapic acid 7

- sinapin 7
- sinapine 7
- sinapinska kislina 7
- sir 3
- siringaldehid 7
- siringinska kislina 7
- skladiščenje 4, 6
- skupne fenolne spojine 6
- spekter svetlobe 6
- SPME 13
- SPME-GC 13
- SPME-GC-MS 3
- spoilage 15
- spoilage bacteria 12
- stabilni izotopi 5
- stable isotope carbon ratio 9, 13
- stable isotope nitrogen ratio 9
- stable isotope sulphur ratio 9
- stable isotopes 5
- Staphylococcus epidermidis* 14
- starter cultures 18
- starterske kulture 18
- steroli 13
- sterols 13
- storage 6
- surface contamination 15
- svetleče diode 6
- syringaldehyde 7
- syringic acid 7
- školjke 1
- technological processes 3
- tehnološki postopki 3
- thermal treatment 11
- tocopherols 13
- tokoferoli 13
- toplotna obdelava 11
- total phenolic compounds 6
- transfer of contamination 15
- translocation 16
- translokacija 16
- Triticum aestivum* L. 19
- tuji encimi 5
- valovna dolžina svetlobe 6
- varnost živil 1, 10
- vegetables 6
- vino 18
- viral food safety management practices 1
- viral infection 1
- virgin olive oil 4
- virusi v hrani 1
- virusne okužbe 1
- višji alkoholi 9
- vitamin C 8
- vitamin E 8
- vnetno stanje 2
- volatile compounds 3
- volatile phenols 18
- vpliv krme 3
- vpliv sezone 3
- vpliv temperature 13
- Vranac 18
- vranac 18
- vreodenjenje metod 8
- vsebnost askorbinske kisline 6
- wheat 19
- white flour 19
- wine 18
- yeasts 5, 18
- zaposleni pri delu z živilom 10
- zearalenon 19
- zearalene 19
- zelenjava 6
- zorenje sira 3
- živila 1, 12
- živilsko prehransko oskrbovalna veriga 10

DOKTORSKE DISERTACIJE S PODROČJA PREHRANE V LETIH 2015–2021

BENEDIK, Evgen

Prehrana v času nosečnosti in dojenja ter maščobno-kislinska sestava humanega mleka : doktorska disertacija = Nutrition during pregnancy and lactation and fatty acid composition of human milk : doctoral dissertation / Evgen Benedik ; mentorica Nataša Fidler Mis. - Ljubljana : [E. Benedik] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2015. - XI, 81, [33] f. : ilustr. ; 30 cm

prehrana / nosečnost / dojenje / humano mleko / maščobne kisline / večkrat nenasičene maščobne kisline / dokozaheksaenojska kislina / prehranski vnos / plinska kromatografija / prehranski dnevnik / vprašalnik o pogostosti uživanja živil / nutrition / pregnancy / breastfeeding / human milk / fatty acids / polyunsaturated fatty acids / docosaheptaenoic acid / dietary intake / gas chromatography / dietary record / food frequency questionnaire

Zdrava prehrana v času pred in med nosečnostjo ter dojenjem pomembno vpliva na zdravje dojenčka in otroka vse v odraslo dobo pa tudi na naslednjo generacijo potomcev, kar imenujemo presnovno programiranje ali presnovni vtis. Namen doktorske disertacije je bil preveriti, ali je: I.) 4-dnevni tehtan elektronski prehranski dnevnik (e-4PD) enakovreden ali celo boljši od papirnega 4-dnevnega tehtanega prehranskega dnevnika (p-4PD); II.) ali prehrana slovenskih nosečnic in doječih mater odstopa od prehranskih priporočil; III.) ali prehranske navade, zlasti uživanje rib, ribjih izdelkov in morskih sadežev (rib/izdelkov/sadežev) ter prehranskih dopolnil, v času pred (PN; leto dni pred nosečnostjo) in med nosečnostjo (MN; od 27. do 37. tedna) ter med dojenjem (MD; od 4. do 5. tedna po porodu) vplivajo na vsebnost dolgoveržnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin (LCP), zlasti dokozaheksaenojske kisline (C22:6 n-3, DHK) v humanem mleku (HM). V študijo Moje-mleko (www.moje-mleko.si) smo v letih 2010 in 2012 vključili 174 zdravih nosečnic (prostovoljk), v glavnem iz Ljubljane in okolice. Trenutno prehrano smo spremljali z metodo p-4PD dvakrat, MN ter MD. Za ugotavljanje prehranskih navad uživanja rib/izdelkov/sadežev in prehranskih dopolnil v treh časovnih obdobjih – PN, MN in MD – smo uporabili vprašalnik o pogostosti uživanja živil (VPŽ). Analitika maščobno-kislinske sestave HM, predvsem vsebnosti DHK, je bila izvedena s pomočjo plinske kromatografije s plamenskimi ionizacijskim detektorjem (GC-FID). Pridobljene podatke smo obdelali in statistično analizirali z uporabo računalniškega programa za statistično analizo SPSS 21.0 (Statistical Package for Social Sciences). Uporabili smo naslednje statistične metode: metodo opisne statistike, Spearmanov koeficient korelacije, test ANOVA, test Wilcoxon in metodo deatenuacije. V celoti je vse načrtovane aktivnosti v študiji zaključilo 152 prostovoljk. Dokazali smo, da se p-4PD lahko nadomesti z e-4PD oziroma lahko prostovoljka samostojno vodi svoj e-4PD v aplikaciji Odprte platforme za klinično prehrano (OPKP) ob predpostavki, da je računalniško dovolj usposobljena, saj smo ugotovili tudi, da sta e-4PD in računalniški program Prodi 5.9 Exper Plus, Nutri-Science, Stuttgart, Germany, 2011 (s-4PD) primerljiva med seboj. Prehranski vnos (na osnovi 4PD) slovenskih nosečnic in doječih mater ni optimalen, zaužijejo preveč nasičenih maščob, skupnega sladkorja in soli, premalo pa LCP (zlasti DHK), vitaminov (B₉, D in E) ter elementov v sledovih (železo, fluorid ter jod). Vnos DHK (priporočenih vsaj 200 mg DHK/dan) (na osnovi VPŽ) iz rib/izdelkov/sadežev in prehranskih dopolnil je zadosten samo MN (246 mg DHK/dan). Prehranska dopolnila z DHK, predvsem MN, signifikantno prispevajo k vsebnosti DHK v HM (P < 0,01). Z našo študijo smo dobili vpogled v prehranski vnos DHK s hrano in prehranskimi dopolnili ter v prehranske navade uživanja rib/izdelkov/sadežev in prehranskih dopolnil v povezavi z vsebnostjo DHK v HM. Dobljeni rezultati so osvetlili problematiko prehrane pri slovenskih nosečnicah in doječih materah ter so izhodišče za ciljne ukrepe za izboljšanje prehrane na nacionalni ravni.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_benedik_evgen.pdf

613.2-055.26:641.1:543.635.33

COBISS.SI-ID 4578424

1

BRULC, Lučka

Zeaksantin, [beta]-kriptoksantin in ostali ksantofili v jajčnih rumenjkih : doktorska disertacija = Zeaxanthin, [beta]-cryptoxanthin and other xanthophylls in egg yolks : doctoral dissertation / Lučka Brulc; mentorica Breda Simonovska. - Ljubljana : [L. Brulc] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2015. - XVIII f., 127 str. : ilustr. ; 30 cm

jajca / jajčni rumenjaki / karotenoidi / ksantofili / zeaksantin / beta-kriptoksantin / analizne metode / kromatografske tehnike / HPLC / navadno volčje jabolko / *Physalis alkekengi* / eggs / egg yolk / carotenoids / xanthophylls / zeaxanthin / beta-cryptoxanthin / analytical methods / chromatographic techniques / Chinese lantern

Razvili in validirali smo izokratsko HPLC metodo za določanje osmih ksantofilov (lutein, kapsantin, zeaksantin, kantaksantin, β-apo-8'-karotenal, etil-8'-apo-β-karoten-8'-oat, citranaksantin, β-kriptoksantin) v jajčnih rumenjkih, pri čemer smo razvili tudi preprost postopek priprave testnih raztopin vzorcev. Primerjali smo ločbo navedenih ksantofilov na osmih kromatografskih

kolonah. Izvedli smo kvalitativno in kvantitativno analizo ksantofilov v 64 vzorcih jajc iz vseh štirih načinov rej (baterijske, hlevske, proste, ekološke), različnih rejcev in blagovnih znamk s slovenskega tržišča. V vseh vzorcih je prevladoval lutein (povprečje 1,91 mg/100 g rumenjaka), precej manj je bilo zeaksantina (povprečje 0,85 mg/100 g rumenjaka), β -kriptoksantin, ki ga je bilo najmanj, je bil pogosto prisoten le v sledovih. V velikem številu vzorcev je bil prisoten tudi kantaksantin (povprečje 0,51 mg/100 g rumenjaka), ksantofil etil-8'-apo- β -karoten-8'-oat (povprečje 0,21 mg/100 g rumenjaka) pa je vsebovalo manj vzorcev. V jagodah in povečanih čašah navadnega volčjega jabolka (*Physalis alkekengi* L. var. *franchetii*) smo določili zeaksantin dipalmitat in β -kriptoksantin palmitat, identificirali tudi nekatere druge sekundarne metabolite, določili vsebnost saharoze, glukoze in fruktoze ter antioksidativno aktivnost ekstraktov po sukcesivni ekstrakciji. Po 10 dneh reje petih kokoši nesnic s krmo, obogateno s 40 g zmletih suhih povečanih čaš in jagod navadnega volčjega jabolka na kilogram krme, smo dosegli v rumenjaki do devetkrat večjo vsebnost zeaksantina in celo do 27-krat večjo vsebnost β -kriptoksantina v primerjavi s kontrolno skupino petih nesnic ter povprečno intenzivnost barve rumenjaka 13,2 po Rochejevi barvni lestvici. Obogatena jajca so v povprečju vsebovala 2,6 mg zeaksantina in 0,7 mg β -kriptoksantina v 100 gramih rumenjaka, kar je trikrat več zeaksantina in desetkrat več β -kriptoksantina kot jajca s slovenskega tržišča.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_brulc_lucka.pdf

637.41:547.978.8:543.544

COBISS.SI-ID 4552312

2

FERJANČIČ, Blaž

Aplikacija metode AOAC 2011.25 za določanje prehranske vlaknine in njen vpliv na oceno vnosa z živilih : doktorska disertacija = Application of the AOAC 2011.25 method for dietary fibre determination and its impact on estimated dietary intake : doctoral dissertation / Blaž Ferjančič ; mentorica Jasna Bertonec. - Ljubljana : [B. Ferjančič] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2021. - XIII, 110, [9] f. : ilustr. ; 30 cm

prehranska vlaknina / rezistentni škrob / živila / viri prehranske vlaknine / zelenjava / sadje / kruh / žita / žitni izdelki / krompir / izdelki iz krompirja / stročnice / oreški / vnos prehranske vlaknine / analizne metode / AOAC metode / razvoj živilskih izdelkov / barjene klobase / prehranske trditve / zdravstvene trditve / dietary fibre / resistant starch / foods / sources of dietary fibre / vegetables / fruits / bread / grains / grain products / potatoes / potato products / legumes / nuts / estimated intake / analytical methods / AOAC methods / cooked sausages / reformulated foods / nutrition claims / health claims

V raziskavi smo vpeljali metodo AOAC 2011.25 za določanje vsebnosti prehranske vlaknine in preverili njen vpliv na oceno vnosa prehranske vlaknine. Preučili smo vpliv priprave vzorca na določanje vsebnosti prehranske vlaknine v živilih. Določili smo vsebnost prehranske vlaknine v vzorcih 50 najpogosteje zaužitih živilih, glede na nacionalno prehransko raziskavo SI.Menu 2017/18. Rezultate metod AOAC 991.43 in AOAC 2011.25 smo primerjali. Iz pridobljenih rezultatov smo oblikovali model za izračun ocene vnosa prehranske vlaknine pri aktivni odrasli populaciji Slovencev. Z namenom povečanja vnosa prehranske vlaknine smo razvili mesni izdelek – piščančjo barjeno klobaso, obogateno s prehransko vlaknino in zmanjšano vsebnostjo maščob. Potrdili smo delni vpliv priprave vzorca na določanje vsebnosti prehranske vlaknine, kjer smo ugotovili, da pri nekaterih vzorcih z manjšimi delci določimo manjšo vsebnost prehranske vlaknine. S primerjavo vsebnosti prehranske vlaknine v 50 vzorcih najpogosteje zaužitih živil, določene z metodama AOAC 991.43 in AOAC 2011.25, smo potrdili, da z uporabo slednje metode določimo večjo vsebnost prehranske vlaknine v živilih, kar privede do višje ocene vnosa prehranske vlaknine v aktivni odrasli populaciji, ki doseže 34 g prehranske vlaknine/dan. Metoda AOAC 2011.25 zajame tudi prehransko vlaknino z nizko molekularno maso, ki do sedaj ni bila zajeta v uveljavljenih analitskih metodah za določanje vsebnosti prehranske vlaknine. Z razvojem piščančje barjene klobase, obogatene s prehransko vlaknino (inulin, ovsena vlaknina ali psilium) v koncentraciji 3 ali 6 g/100 g in zmanjšano vsebnostjo maščob, smo pokazali, da je mogoče izdelati piščančjo barjeno klobaso, ki vsebuje 3 g inulina/100 g in le 10 g maščob/100 g ter je primerljiva s kontrolnimi klobasami v senzoričnih in teksturnih lastnostih.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=124776>

543.635.2:641.1:637.523

COBISS.SI-ID 52605955

3

GREGORIČ, Matej

Ocena prehranskega vnosa pri mladostnikih z vidika varovanja zdravja : doktorska disertacija = Assessment of dietary intake among adolescents from health protection aspect : doctoral dissertation / Matej Gregorič ; mentor Marjan Simčič. - Ljubljana : [M. Gregorič] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2015. - XV, 143, [22] f. : ilustr. ; 30 cm

prehrana / slovenski mladostniki / prehranski status / energijska gostota / model zdravega prehranjevanja / prehranska priporočila / nutrition / Slovenian adolescents / nutritional status / energy density / healthy nutrition score / dietary recommendations

Prehranski status slovenskih mladostnikov v povprečju ni ustrezen. Z raziskavo smo želeli ovrednotiti njihov prehranski status glede dnevnega energijskega vnosa in vnosa hranljivih snovi ter na osnovi analize uživanja živil in posameznih prehranskih navad. V študiji, ki je potekala v šol. letu 2010/11, je sodelovalo 327 mladostnikov iz desetih osnovnih šol. Pri raziskovanju smo uporabili metodo anketnega vprašalnika o prehranskih navadah, vprašalnika o pogostosti uživanja živil, zapisa jedilnika prejšnjega dne in merjenja antropometričnih parametrov (telesne mase in višine). Analiza je vključevala deskriptivno in komparativno metodo. Povprečen energijski vnos je ustrezal priporočilom in je bil pričakovano višji pri fantih kot pri dekletih, ki so tudi pogosteje poročala o prenizkih energijskih vnosih. Energijski vnos je obratno koreliral z indeksom telesne mase. Analiza vsebnosti makrohranil kaže, da so energijski deleži beljakovin, skupnih maščob in ogljikovih hidratov v prehrani preiskovancev ustrezali priporočilom, medtem ko sta bila deleža prostih sladkorjev in nasičenih maščobnih kislin previsoka, deleža večkrat in enkrat nenasičenih maščobnih kislin pa prenizka. Prenizek je bil tudi vnos prehranske vlaknine. Energijska gostota se je izkazala kot pogojno ustrezná determinanta za oceno kakovosti prehrane. Preiskovanci, ki so dosegali nižje vrednosti energijske gostote, so se najbolj približali prehranskim ciljem uravnotežene prehrane. Analiza vsebnosti mikrohranil je pokazala, da preiskovanci v povprečju niso dosegali priporočenih dnevnih vnosov za vitamine A, D, in E ter jod in kalcij. Primeren prehranski status glede vnosa mikrohranil smo ocenili za 28 % preiskovancev. V primerjavi s fanti so dekleta dosegala višje hranilne gostote za večino mikrohranil. Na osnovi analize uživanja živil in primerjave s priporočili so preiskovanci zaužili skoraj dvakrat preveč odsvetovanih živil z višjo vsebnostjo maščob in/ali dodanih sladkorjev ter enkrat preveč mesa in mesnin, za tretjino premalo zelenjave, mleka in mlečnih izdelkov, dekleta pa tudi premalo rib. Analiza spremljanih dejavnikov za nezdravo prehranjevanje je pokazala, da ima največ pet dejavnikov od izbranih sedemnajstih le četrtnina preiskovancev, kar smo opredelili kot zdravo prehranjevanje.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_gregoric_matej.pdf

613.2-053.6(497.4)

COBISS.SI-ID 4599928

4

ISTENIČ, Katja

Mikrokapsulacija katehinov in izvlečkov granatnega jabolka (*Punica granatum* L.) v polisaharidne nosilce : doktorska disertacija = Microencapsulation of catechins and pomegranate (*Punica granatum* L.) extracts into polysaccharide matrices : doctoral dissertation / Katja Istenič ; mentorica Nataša Poklar Ulrih. - Ljubljana : [K. Istenič] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2016. - XVI, 129, [28] str. : ilustr. ; 30 cm

kapsulacija / mikrokapsulacija / dostavni sistemi / alginat / pektin / hitozan / liposomi / funkcionalna živila / rastlinski izvlečki / granatno jabolko / *Punica granatum* L. / fenolne spojine / katehin / epigalokatehin galat / encapsulation / microencapsulation / delivery systems / alginate / pectin / chitosan / liposomes / functional foods / plant extracts / pomegranate / phenolic compounds / catechin / epigallocatechin gallate

Namen raziskave je bil razvoj različnih mehanizmov kapsulacije katehinov in izvlečkov granatnega jabolka. (±)-katehin in (-)-epigalokatehin-3-galat (EGCG) smo kapsulirali v liposome, ki smo jih nadalje vključili v mikrodelce iz alginata oziroma hitozana, pripravljene z metodo ekstruzije. Tako sami liposomi kot polisaharidni mikrodelci z vključenimi liposomi so omogočali visoko učinkovitost kapsulacije. Kapsulacija je učinkovito zaščitila EGCG pred okoljskimi pogoji (pH 2,0 in 6,0; sadni nektar), medtem ko na stabilnost (±)-katehina ni imela vpliva. Interakcije med posameznimi molekulami kapsulacijskih sistemov in EGCG smo nadalje preučili z meritvami diferencne dinamična kalorimetrije in infrardeče spektroskopije s Fourierjevo transformacijo. Za izdelavo submikrometrskih kapsulacijskih sistemov smo uporabili metodo emulzifikacije in na ta način pripravili alginatne delce velike od 100 do 700 nm, ki bi bili iz senzoričnega vidika bolj primerni za rabo v živilskih izdelkih. Sok granatnega jabolka smo kapsulirali v različne polisaharidne nosilce z metodo liofilizacije. V primeru alginata in pektina smo na ta način uspeli pridobiti vzorce v trdnem agregatnem stanju, ki so olajšali rokovanje s sokom in omogočili nadaljnjo karakterizacijo. Kompleksi iz alginata so ščitili antocianine iz soka granatnega jabolka pred razgradnjo pri povišani temperaturi, medtem ko nobeden izmed testiranih kompleksov ni imel zaščitne vloge pri ohranjanju antioksidativne aktivnosti ter celokupnih polifenolnih spojin.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_istenic_katja.pdf

641.1+664.0:547.56:615.014.6

COBISS.SI-ID 4661368

5

KOS-SKUBIC, Mira

Poznavanje in zaznavanje živil z geografsko označbo ali označbo porekla pri potrošnikih : doktorska disertacija = Consumers' knowledge and perceptions of foods with a geographical indication or designation of origin : doctoral dissertation / Mira Kos Skubic ; mentorica Marija Klopčič, somentorica Terezija Golob. - Ljubljana : [M. Kos Skubic] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XI, 120, [19] f. : ilustr. ; 30 cm

živila / označba porekla / geografska označba / percepirana vrednost / poznavanje / zaznavanje / hedonski preskusi / potrošniki / conjoint analiza / foods / designation of origin / geographical designation / perceived value / perception / hedonic tests / consumers / conjoint analysis

EU je z namenom zaščite in promocije tradicionalnih živil sprejela Uredbo EU št. 1151/2012, v kateri določa živila z evropskimi znaki kakovosti, in sicer z zaščiteno označbo porekla (ZOP/PDO), z zaščiteno geografsko označbo (ZGO/PGI) in zaščiteno tradicionalno posebnostjo (ZTP/TSG). Da bi potrošniki lahko prepoznali navedena zaščitena živila in se za njih odločili pri nakupu, je pomembna uporaba evropskega znaka kakovosti na teh živilih, ki je od leta 2016 obvezna. O tej temi v Sloveniji ni bila izvedena še nobena raziskava, zato smo s to raziskavo skušali zapolniti to raziskovalno vrzel. Namen doktorske disertacije je bil ugotoviti, kakšno je poznavanje in zaznavanje živil z ZOP/PDO ali ZGO/PGI pri slovenskih potrošnikih, saj raziskave na področju proučevanja poznavanja in dojemanja različnih živil z označenimi nacionalnimi in evropskimi znaki kakovosti v Sloveniji še ni bilo. S hedonskimi testi smo ugotavljali vpliv segmentacije in sociodemografskih značilnosti potrošnikov na prepoznavnost in všečnost živil z označbo ZOP/PDO ali ZGO/PGI. Rezultati hedonske senzorične analize na paru zaščitene in konvencionalnega vzorca sira (sir Tolminc in sir Planika), pršuta (Kraški pršut in Pršut Kras) in medu (Kraški med in med Zlati panj) so pokazali, da ni statistično značilnih razlik med potrošniki v senzoričnem prepoznavanju in všečnosti živil, označenih z nacionalnim in evropskim znakom ZGO/PGI ali ZOP/PDO, glede na segmente in sociodemografske značilnosti. S vprašalnikom, ki smo ga posredovali po pošti in pozneje nadgradili s vprašalnikom preko spleta, smo proučevali odnos potrošnika do živil z označbo ZOP/PDO ali ZGO/PGI ter poznavanje znakov kakovosti na nacionalni in evropski ravni. Ugotovili smo, da slovenski potrošniki bolje poznajo nacionalne znake kakovosti kot evropske. Z uporabo conjoint analize smo preverili, kako lastnosti kot so izvor, označba in cena, vplivajo na odločitev potrošnika pri nakupu. Ugotovili smo, da slovenski potrošniki ne dajejo prednosti slovenskim izdelkom, označenim z ZOP/PDO ali ZGO/PGI, in niso zanje pripravljeni plačati več. Slovenija spada v skupino evropskih držav, ki nimajo tradicije uporabe evropskih shem kakovosti, zato potrošniki slabo poznajo evropske znake kakovosti. Zato je potrebno v promocijske aktivnosti poleg živil z nacionalnimi označbami kakovosti vključiti tudi živila z evropskimi označbami kakovosti in potrošnikom predstaviti tudi evropsko shemo kakovosti.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=106518>
641.1:366.1:543.92
COBISS.SI-ID 5032568

6

LAVRIŠA, Živa

Vrednotenje vsebnosti nekaterih hranil v prodajanih in oglaševanih živilih na slovenskem tržišču : doktorska disertacija = Evaluation of selected nutrients content in available and advertised foods on Slovenian market : doctoral dissertation / Živa Lavriša ; mentor Igor Pravst. - Ljubljana : [Ž. Lavriša] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - IX, 84, [6] f. : ilustr. ; 30 cm

živila / hranilna sestava živil / vsebnost natrija v živilih / oglaševanje živil otrokom / profiliranje živil / foods / nutrient composition of foods / sodium content in foods / food advertising to children / nutrient profiling

Hranilna sestava živil je še posebej pomembna predvsem z vidika vsebnosti določenih hranil, katerih prekomerno uživanje lahko dolgoročno predstavlja zdravstvene težave. Eno takšnih hranil je tudi natrij. V raziskavah smo ugotavljali, kakšna je povprečna vsebnost natrija v posameznih skupinah živil, ki so na voljo na slovenskem tržišču v letu 2011 in 2015 ter kakšna je sestava živil, ki se oglašujejo v medijih. Podatke o povprečni vsebnosti natrija smo utežili s podatki o prodaji posameznih izdelkov. Ugotovili smo, da so z vidika vsebnosti natrija najbolj kritične predvsem skupine živil kot so mesni izdelki, kruh in pekovski izdelki, siri in gotove jedi. S prodajnimi podatki utežena povprečna vsebnost natrija, je bila tako v letu 2011 kot tudi v 2015 v večini skupin živil nižja od povprečja znotraj posamezne skupine živil. Statistično značilnega znižanja povprečne vsebnosti natrija med letoma 2011 in 2015 nismo ugotovili v nobeni skupini živil, ki pomembno prispevajo k prehranskemu vnosu natrija, torej proizvajalci prostovoljno ne zmanjšujejo vsebnosti natrija v živilih. Ugotovili smo tudi, da ima večina živil, ki se oglašujejo otrokom na televiziji in v tiskanih medijih manj ugodno hranilno sestavo. Kot metoda celostnega vrednotenja hranilne sestave živil se uporablja profiliranje živil z različnimi modeli. V naši raziskavi smo uporabili Ofcom in SZO model profiliranja živil, ki sta namenjena omejevanju oglaševanja živil otrokom v medijih in na ta način ovrednotili sestavo oglaševanih živil. Glede na rezultate raziskav bi bila v Sloveniji nujna zakonska ureditev tega področja, ne samo na televiziji, ampak na ostalih medijskih kanalih.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=108111>
614.31:641.1+613.2(497.4)
COBISS.SI-ID 5062264

7

LILEK, Nataša

Vpliv botaničnega porekla na hranilno vrednost cvetnega prahu osmukanca : doktorska disertacija = Influence of the botanical origin on nutritional value of bee pollen : doctoral dissertation / Nataša Lilek, mentorica Jasna Bertonec, somentor Janko Božič. - Ljubljana : [N. Lilek] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2020. - XIII, 111, [27] f. : ilustr. ; 31 cm

cvetni prah / osmukanec / hranilna vrednost / botanično poreklo / geografsko poreklo / kemijska sestava / beljakovine / maščobe / pepel / ogljikovi hidrati / prehranska vlaknina / voda / energijska vrednost / aminokisljine / elementi / nebeljakovinski dušik / pretvorbeni / bee pollen / nutritional value / botanical origin / geographical origin / chemical composition / protein / fat / ash / carbohydrate / water / dietary fibre / energy value / amino acids / elements / non-protein nitrogen / conversion factor

Z raziskavo smo želeli obsežneje preučiti hranilno vrednost cvetnega prahu osmukanca (CPO) glede na botanično poreklo. Cvetni prah predstavlja edini naravni vir beljakovin v prehrani čebel, zaradi vsebnosti hranilnih snovi in funkcionalnih spojin pa kot čebelji pridelek postaja vse bolj prepoznaven in uporaben tudi v humani prehrani. V raziskavo smo vključili 52 vzorcev CPO iz štirih makroregij Slovenije, pridobljenih v treh obdobjih čebelarke sezone (spomladi, poleti, pozno poleti/jeseni), v letih 2014–2015. Pred analizami smo vzorce mikroskopsko identificirali in določili botanično poreklo. Večina vzorcev CPO je bila večvrstnih na specifičnih pašah in z ročnim prebiranjem smo pridobili tudi enovrstni CPO pravega kostanja (*Castanea sativa* Mill.), oljne ogrščice (*Brassica napus* var. *oleifera* DC.), malega jesena (*Fraxinus ornus* L.), navadne ajde (*Fagopyrum esculentum* Moench), navadnega bršljana (*Hedera helix* L.) in trpotca (*Plantago* spp. L.). V vseh vzorcih CPO smo določili vsebnost vode, beljakovin, maščob, prehranske vlaknine in pepela v skladu z uradno predpisanimi AOAC metodami. Vsebnost skupnih in izkoristljivih ogljikovih hidratov ter energijsko vrednost smo določili računsko. Vsebnost posameznih aminokisljin smo določili z ionsko izmenjevalno tekočinsko kromatografijo, vsebnost elementov pa z rentgensko fluorescenčno spektrometrijo (XRF). Ugotovili smo, da se CPO različnega botaničnega porekla med seboj razlikuje v vsebnosti beljakovin, maščob, netopne prehranske vlaknine, posameznih in skupnih aminokisljin ter nekaterih elementov. Rezultate smo modelirali tudi z multivariatnimi statističnimi metodami in določili izstopajoče parametre, ki so specifični za CPO določenega botaničnega porekla, za časovno obdobje pridobivanja in geografsko poreklo. V CPO smo določili tudi vsebnost nebeljakovinskega dušika ter ocenili najbolj ustrezen pretvorbeni faktor za izračun vsebnosti skupnih beljakovin. Ugotovili smo, da uporaba splošnega pretvorbenega faktorja (6,25) pri preračunu daje preveliko vsebnost beljakovin, zato za CPO priporočamo uporabo manjšega specifičnega faktorja z vrednostjo 5,60.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=114462>
638.178.2:543.61:641.1
COBISS.SI-ID 1024514639

8

MIKLAVEC, Krista

Vpliv prehranskih in zdravstvenih trditvev ter simbolov na potrošnikovo izbiro živil : doktorska disertacija = Influence of nutrition and health claims and symbols on consumer's food choice : doctoral dissertation / Krista Miklavec ; mentor Igor Pravst, somentor Jurij Pohar. - Ljubljana : [K. Miklavec] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2017. - XI, 82, [13] f. : ilustr. ; 30 cm

živila / potrošniki / izbira živil / označevanje živil / prehranske trditve / zdravstvene trditve / simboli / simbol varovalnega živila / raziskovalne metode / metode asociacije / analiza sestavljenih učinkov / conjoint analiza / vrednotenje simbolov / foods / consumers / food choice / food labelling / nutrition claims / health claims / symbols / protective food symbol / research methods / conjoint analysis / association method / evaluation of symbols

Namen doktorske disertacije je bil ovrednotiti pogostost pojavljanja prehranskih (PT) in zdravstvenih (ZT) trditvev, simbolov in spremljajočih informacij na označbah živil, ovrednotiti seznanjenost in asociacije potrošnikov s simbolom varovalnega živila (SVŽ) ter raziskati vpliv različnih trditvev na potrošnikovo izbiro živil. Pojavljanje trditvev smo spremljali na osnovi vrednotenja označb predpakiranih živil na tržišču. V prvi raziskavi, ki smo jo izvedli v petih evropskih državah leta 2013, smo pregledali 2034 naključno odvzetih živil; PT smo našli na 21 %, ZT pa na 11 % živil. Leta 2015 smo v Sloveniji izvedli obsežnejšo raziskavo, v katero je bilo vključeno 10.633 živil; s PT je bilo označenih 17 %, z ZT 6 % in SVŽ 1 % živil. Ugotovili smo, da so bili pri večini tako označenih živil navedeni tudi podatki o hranilni vrednosti (HV). Na živilih so se najpogosteje navajale splošne zdravstvene trditve (SZT), ki pa so bile redko (22 %) podkrepljene s specifičnimi ZT. Poleg tega je imelo le 29 % živil, označenih s SZT, na označbi navedeno tudi izjavo o pomenu pestre in uravnotežene prehrane ter zdravega življenjskega sloga

in podatke o HV. Seznanjenost potrošnikov s SVŽ smo raziskovali s spletno raziskavo (N=1.050). Vprašalnik je bil razdeljen v pet sklopov: socio-demografske karakteristike, metoda asociacije, seznanjenost s simbolom, analiza sestavljenih učinkov (CA) in vrednotenje simbolov na podlagi podanih trditev. Večina v raziskavo vključenih potrošnikov je SVŽ poznala, še zlasti tisti, ki so v gospodinjstvu odgovorni za nakup živil. Pogosto so navedli, da so SVŽ opazili na živilih, analiza asociacij pa je pokazala, da ga največkrat povezujejo z zdravjem. Z uporabo CA metode smo ugotovili pomemben vpliv navajanja pojasnjevalnih trditev ob simbolih na preference potrošnikov; najnižjo delno korist nivoja smo ugotovili, če simbola ni spremljala nobena pojasnjevalna trditev, največjo korist pa z uporabo trditve »Varuje zdravje«. V dodatni raziskavi smo na primeru jogurta, prav tako z uporabo metode CA, vrednotili vpliv različnih trditev na potrošnikovo (N=371) izbiro živil, pri čemer smo poleg trditev varirali tudi vsebnost sladkorja in maščob. Ugotovili smo, da so potrošniki sicer večinoma bolj kot na testirane trditve občutljivi na vsebnost sladkorja in maščob, vendar pa obstoja razmeroma velika skupina potrošnikov, na katero imajo trditve lahko pomemben vpliv (t.i. iskalci trditev). Za zaščito slednjih bi bilo smotno uporabo trditev omejiti na živila z ugodno hranilno sestavo.

http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/zivilstvo/dd_miklavec_krista.pdf

641.1:663/664:366.1

COBISS.SI-ID 4791672

9

OREL, Anija

Učinkovitost doma pripravljene pasirane hrane in enteralne formule pri zdravljenju podhranjenosti bolnikov s težko stopnjo prizadetosti osrednjega živčevja : doktorska disertacija = Effectiveness of pureed food and enteral formula for treatment of malnutrition in patients with severe central nervous system impairment : doctoral dissertation / Anija Orel ; mentorica Nataša Fidler Mis, somentor Matjaž Homan. - Ljubljana : [A. Orel] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - X, 80, [18] f. : ilustr. ; 30 cm

prehrana / podhranjenost / prizadetost osrednjega živčevja / pasirana hrana / enteralna formula / gastrostoma / nutrition / malnutrition / impairment of central nervous system / pureed food / enteral formula / gastrostomy

Uvod: Bolniki s težko okvaro osrednjega živčevja so zaradi težav s hranjenjem pogosto podhranjeni. Če zadostna prehrana preko ust ni mogoča, je potrebno hranjenje preko hranilne gastrostome. Mednarodne smernice svetujejo uporabo enteralnih formul, vendar se veliko število skrbnikov odloča za uporabo pasirane hrane, ki prinaša tveganja. Do sedaj ni bilo raziskav, ki bi primerjale učinkovitost obeh načinov hranjenja pri zdravljenju podhranjenosti bolnikov s težko nevrološko okvaro. Material in metode: 45 zmerno ali hudo podhranjenih bolnikov s težko okvaro osrednjega živčevja hranjenih preko gastrostome smo razdelili v 2 skupini (hranjenih z enteralno formulo ali s pasirano hrano). Obema skupinama smo izračunali energijski in hranilni vnos, jim pripravili načrt hranjenja ter opravili svetovanje. Prehransko stanje (masa, ITM in višina za starost ter telesna sestava), prebavne težave, število in teža okužb ter zadovoljstvo, smo ponovno ovrednotili po 6 in 12 mesecih od pričetka zdravljenja. Rezultati: Bolniki obeh skupin so pridobili na Z vrednostih za telesno maso in ITM, vendar skupina na enteralni formuli bolj kot skupina na pasirani hrani (2,04 proti 0,31, $p = 0.0000$ ter 3,66 proti 0,38, $p = 0.0002$), ni pa bilo statistično pomembne razlike pri spremembi telesne višine. Obe skupini sta pridobili na mastni telesni masi izraženi kot indeks mastne telesne mase, vendar bolj skupina z enteralno formulo (1,48 kg/m² proti 0,34 kg/m², $p = 0.0000$), le skupina z enteralno formulo pa je pridobila tudi na pusti telesni masi izraženi kot indeks puste telesne mase, medtem ko pri skupini s pasirano hrano ni bilo statistično pomembne razlike (0,82 kg/m² proti -0,17 kg/m², $p = 0.0091$). Pri številu in stopnji okužb ter prebavnih simptomih med skupinama ni bilo statističnih razlik. Zaključek: Rezultati kažejo, da je za zdravljenje podhranjenosti pri bolnikih s težko okvaro osrednjega živčevja primernejša uporaba enteralne formule kot pasirane hrane.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=109765>

613.24:616.8

COBISS.SI-ID 5085560

10

PAVELJŠEK, Diana

Mehanizmi aktivacije naravne imunosti celic črevesnega epitelija z izbranimi probiotičnimi sevi bakterij : doktorska disertacija = Mechanisms of innate immunity activation in intestinal epithelial cells with selected probiotic bacterial strains : doctoral dissertation / Diana Paveljšek ; mentorica Irena Rogelj, somentor Roman Jerala. - Ljubljana : [D. Paveljšek] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XIX f., 137, [5] str. : ilustr. ; 30 cm

probiotiki / *Lactobacillus* / *Bifidobacterium* / transkriptom / signalne poti / črevesna epitelna bariera / imunski odziv / Toll-u podobni receptor / protein-kinaza C / fosfatidil inozitol 3-kinaza / tesni stiki / aktinski citoskelet / apoptoza / probiotics /

transcriptome / signalling pathways / intestinal epithelial barrier / immune response / Toll-like receptor / protein kinase C / phosphatidylinositol 3-kinase / actin cytoskeleton / apoptosis

Manipulacija črevesne mikrobiote s koristnimi mikroorganizmi predstavlja obetavno alternativo in podporo za zdravljenje črevesnega vnetja in motenj v delovanju črevesne epitelne bariere. Probiotiki lahko namreč stimulirajo tako pridobljeni kot tudi naravni imunski odziv. Namen raziskave je bil zato pojasniti signalne poti, ki jih v črevesnih epitelnih celicah sprožijo probiotični bakterijski sevi *Lactobacillus gasseri* K7 (K7), *Lactobacillus fermentum* L930BB (L930BB), *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* IM386 (IM386) in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 (WCFS1). Izhodišče raziskave je bila in vivo študija, v kateri so na miših s povzročenim kolitisom proučevali zaščitni vpliv sevov L930BB in IM386. Rezultati analize transkriptoma mišjega kolona so pokazali spremembe v izražanju genov, ki so povezani z aktivacijo proti-apoptotskih poti preko fosfatidil inozitol 3-kinaze (PI3K)/Akt in aktivacijo poti, ki vodijo v regulacijo aktinskega citoskeleta in tesnih stikov preko protein-kinaze C (PKC). Tako reorganizacija aktinskega citoskeleta, kot tudi zmanjšana apoptoza, prispevata k obnavljanju monosloja črevesnih epitelnih celic. V in vitro poskusih smo dokazali, da so aktivirane signalne poti posledica signalizacije preko receptorja naravne imunosti, Toll-u podobnega receptorja 2 (TLR2). Z uporabo pretočne citometrije smo potrdili, da so probiotični sevi in ligand za TLR2 sposobni zmanjšati s citokini povzročeno celično smrt. S pregledovanjem črevesne epitelne celične linije Caco-2 pod konfokalnim mikroskopom pa smo opazili, da probiotični sevi, ob simulaciji vnetnih razmer s H₂O₂, zmanjšajo internalizacijo proteina tesnih stikov ZO-1 in tako stabilizirajo medcelične povezave. V stanju vnetja se je ob dodatku probiotičnih sevov, zmanjšala tudi permeabilnost celičnega monosloja, kar dodatno dokazuje zaščitni vpliv izbranih sevov in njihovo zmožnost podpore vzdrževanja črevesne epitelne bariere.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=107836>
579.61:579.86:616.34:577.27.085
COBISS.SI-ID 5058936

11

TUŠAR, Tina

Vpliv prehrane matere in okoljskih dejavnikov na razvoj mikrobiote materinega mleka in črevesne mikrobiote dojenčka : doktorska disertacija = The influence of maternal nutrition and environmental factors on the development of the microbiota of breast milk and the infant gut microbiota : doctoral dissertation / Tina Tušar ; mentorica Irena Rogelj, somentor Iztok Grabnar. - Ljubljana : [T. Tušar] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XVIII, 166, [27] str. : ilustr. ; 30 cm

mikrobiota humanega mleka / črevesna mikrobiota / prehrana matere / probiotiki / DHK / prehrana otrok / način poroda / ITM / prirast telesne mase / human milk microbiota / gut microbiota / diet in pregnancy / probiotics / DHA / infant diet / delivery mode / BMI / gestational weight gain

Podatke za proučevanje vpliva prehrane in dejavnikov matere na mikrobioto materinega mleka in črevesno mikrobioto otroka smo pridobili z vprašalniki o pogostosti uživanja živil in mikrobiološkimi analizami vzorcev mleka in blata, pridobljenih v študiji »Moje mleko« (J4-3606). Med udeleženkami (n = 162) je bilo le 3,2 % vegetarijank. Doječe matere, ki so uživale meso in ribe, ribje izdelke in morske sadeže so imele v vzorcih mleka višje koncentracije stafilokokov. Matere, ki so uživale priporočene količine dokoheksaenojske maščobne kisline DHK (> 200 mg DHK/dan), so imele v vzorcih kolostruma višjo koncentracijo bakterij iz skupine *Bacteroides-Prevotella* (Mann-Whitney test-MW; p = 0,012) in rodu *Clostridium* IV (MW, p = 0,016). Višji vnos DHK s prehrano je zvišal število bifidobakterij v kolostrumu (MW, p = 0,022), ter mleku (MW, p = 0,017). Uživanje probiotičnih mlečnih in sojinih izdelkov je znižalo koncentracijo enterobakterij v kolostrumu (p = 0,058). Otroci mater, ki so v nosečnosti uživale probiotični sev *Lactobacillus gasseri* K7, so imeli 3 dni po porodu v vzorcih blata višje število bifidobakterij. Matere z normalno telesno maso pred zanositvijo (ITM<25) in priporočenim prirastom telesne mase med nosečnostjo so imele nižjo koncentracijo bakterij *Bacteroides-Prevotella* v kolostrumu, zrelem mleku, ter nižjo koncentracijo enterobakterij v kolostrumu. Ne glede na način prehrane otroka se je do tretjega meseca povečevala koncentracija bifidobakterij, ki so postale prevladujoča skupina v 71 % vzorcev blata izključno dojenih in 56,5 % vzorcev delno dojenih otrok. Pri izključno dojenih otrocih se je v blatu zvišala koncentracija stafilokokov, dohranjevani otroci pa so imeli višjo koncentracijo enterokokov in *E. faecalis*, enterobakterij ter predstavnikov skupine *Clostridium* XIV. Otroci rojeni s carskim rezom, so bili pogosteje hranjeni z mlečno formulo in so imeli v vzorcih blata (po 30 in 90 dneh) višjo mikrobnost populacijo enterokokov ter enterobakterij in skupine *Clostridium* XIV. Otroci rojeni vaginalno so imeli v blatu višjo koncentracijo *Bacteroides-Prevotella*.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=113292>
613.2+612.664:579.24/.26
COBISS.SI-ID 5142136

12

ZDEŠAR KOTNIK, Katja

Smiselnost uporabe vitaminskih in mineralnih prehranskih dopolnil pri mladostnikih : doktorska disertacija = Advisability of vitamin and mineral dietary supplement use among adolescents : doctoral dissertation / Katja Zdešar Kotnik ; mentorica Petra Golja, somentor Gregor Jurak. - Ljubljana : [K. Zdešar Kotnik] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2019. - XIV, 226, [22] str. : ilustr. ; 30 cm

mladostniki / prehrana / prehranska dopolnila / vitamini / minerali / telesna dejavnost / športni klubi / adolescents / nutrition / dietary supplements / vitamins / minerals / physical activity / sports clubs

Mladostniki s prehrano v veliki meri ne zadostijo potrebam po vseh mikrohranilih, po drugi strani vse več posameznikov posega po prehranskih dopolnilih (PD). Namen raziskovalnega dela je bil ugotoviti, ali pri mladostnikih obstaja tveganje za zdravje zaradi neustrezne prehrane in/ali uporabe PD. Na reprezentativnem vzorcu slovenskih mladostnikov starih od 14 do 19 let (N=1463) iz 15 srednjih šol iz različnih regij smo v okviru projekta ARTOS (Analiza razvojnih trendov otrok v Sloveniji) v letu 2014 pridobili presečne podatke o uporabi PD, telesni dejavnosti (vprašalnik SHAPES), vnosu mikrohranil (dvakrat ponovljeni priklic jedilnika preteklega dne), prehranjevalnih navadah (vprašalnik KIGGS) ter socio-demografskih in antropometričnih lastnosti (telesna višina in masa) mladostnikov. Rezultati so pokazali, da je v populaciji mladostnikov uporaba PD zelo razširjena (69 %), najpogosteje PD uživajo kar po lastni presoji (41 %) ali po nasvetu staršev/drugih sorodnikov (30 %). Uporabniki PD so pogosteje fantje, telesno bolj dejavni posamezniki, člani športnih klubov, pogosteje so vključeni v ekipe športe, dnevni uporabniki PD pa tudi več časa tedensko namenijo treningu v primerjavi z ostalimi športniki. Uporaba PD pri mladostnikih značilno prispeva k absolutnemu vnosu večine vitaminov in nekaterih mineralov, vendar ne v tolikšni meri, da bi s tem uporabniki PD presegli zgornjo dovoljeno mejo dnevnega vnosa mikrohranil. Mladostniki s hrano in pijačami zaužijejo premalo večine vitaminov in mineralov, a kar 2-3 krat več natrija glede na minimalna priporočila nemškega združenja za prehrano (DGE). Telesno zelo dejavni mladostniki imajo sicer višji vnos nekaterih vitaminov in mineralov s hrano in pijačami v primerjavi z ostalimi mladostniki, a pri njih kljub temu ne zasledimo značilno višjega odstotka posameznikov, ki bi dosegali DGE priporočila za posamezne vitamine in minerale (z izjemo vitamina K pri fantih). Rezultati so posledica dejstva, da okoli tri četrtine mladostnikov obeh spolov ne dosega priporočil optimizirane mešane prehrane (OMD) za vnos sadja (36 % OMD priporočene vrednosti (pv)) in zelenjave (30 % OMD pv), pa tudi mleka/mlečnih izdelkov (40 % OMD pv), žit/žitnih izdelkov (54 % OMD pv) in rib (33 % OMD pv). Po drugi strani je skoraj tri četrtine mladostnikov prekoračilo priporočila za vnos mesa/mesnih izdelkov (320 % OMD pv) ter sladkih/slanih prigrizkov (453 % OMD pv). Na podlagi rezultatov zaključujemo, da je treba za zadostitev potreb po vitaminih in mineralih pri mladostnikih srednješolskih bistveno izboljšati njihove prehranjevalne navade ne glede na spol in telesno dejavnost. Kot kaže, je nujno mladostnike izobraziti o pomenu zdrave prehrane in morebitnih škodljivih posledicah (nepotrebne) uporabe PD.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=105977>

613.292-053:612.3

COBISS.SI-ID 5027704

13

ZUPANIČ, Nina

Sladkor v predpakiranih živilih in prehrani otrok v Sloveniji : doktorska disertacija = Sugar in pre-packaged foods and in diet among children in Slovenia : doctoral dissertation / Nina Zupanič ; mentorica Nataša Fidler Mis, somentor Igor Pravst. - Ljubljana : [N. Zupanič] : [BF, Interdisciplinarni doktorski študij Bioznanosti], 2020. - X, 128, [5] f. : ilustr. ; 30 cm

živila / predpakirana živila / sladkor / prosti sladkor / vsebnost prostih sladkorjev / prehrana / prehrana otrok / prehranska priporočila / vpliv na zdravje / foods / pre-packaged foods / sugar / free sugar / nutrition / diet in children / dietary recommendations / health effect

Prehrana je eden glavnih spremenljivih dejavnikov tveganja pri razvoju številnih kroničnih nenalezljivih boleznih (KNB). Sodoben način prehranjevanja temelji na visokem deležu ultra procesiranih predpakiranih živil z visoko energijsko gostoto in nizko hranilno vrednostjo. Procesirane in ultra procesirane izdelke pogosto spremlja tudi visoka vsebnost prostih sladkorjev, za katere so številne zdravstvene organizacije izdale priporočilo o zgornjem še sprejemljivem vnosu. Namen doktorske disertacije je bil ugotoviti, I.) kolikšen delež predpakiranih živil na slovenskem tržišču vsebuje proste sladkorje in koliko; kakšen del skupnih sladkorjev predstavljajo, II.) ali se je skladno s samozavezami industrije vsebnost sladkorjev v predpakiranih živilih med letoma 2015 in 2017 znižala, ter III.) koliko prostih sladkorjev zaužijejo prebivalci Slovenije (10-74 let) in iz katerih virov. V sklopu prvega dela študije smo oblikovali obsežno podatkovno bazo predpakiranih živil in izračunali pripadajoče vsebnosti prostih sladkorjev za posamezna živila. Rezultati so pokazali, da več kot polovica vseh predpakiranih izdelkov na slovenskem tržišču vsebuje proste sladkorje, s prodajo uteženi podatki pa so razkrili, da najpomembnejše vire prostih sladkorjev med predpakiranimi živilimi predstavljajo sladke pijače ter čokolada in sladkarije. Primerjava vsebnosti prostih sladkorjev v živilih med letoma 2015 in 2017 je pokazala, da so imele samozaveze industrije precej omejen vpliv na vsebnost

sladkorjev v ključnih skupinah živil. V zadnjem sklopu študije smo ugotovili, da slovenski otroci še vedno presegajo priporočila o zgornjem še sprejemljivem dnevnem vnosu prostih sladkorjev.

<https://repozitorij.uni-lj.si/IzpisGradiva.php?id=122386>

613.2:664.1:641.1

COBISS.SI-ID 42539267

14

IMENSKO KAZALO DOKTORANDOV S PODROČJA PREHRANE IN NJIHOVIH MENTORJEV TER SOMENTORJEV

Benedik, Evgen (avtor) 1
Bertoncelj, Jasna (mentor) 3, 8
Božič, Janko (somentor) 8
Brulc, Lučka (avtor) 2
Ferjančič, Blaž (avtor) 3
Fidler Mis, Nataša (mentor) 1, 10, 14
Golja, Petra (mentor) 13
Golob, Terezija (somentor) 6
Grabnar, Iztok (somentor) 12
Gregorič, Matej (avtor) 4
Homan, Matjaž (somentor) 10
Istenič, Katja (avtor) 5
Jerala, Roman (somentor) 11
Jurak, Gregor (somentor) 13
Klopčič, Marija (mentor) 6
Kos-Skubic, Mira (avtor) 6
Lavriša, Živa (avtor) 7
Lilek, Nataša (avtor) 8
Miklavc, Krista (avtor) 9
Orel, Anija (avtor) 10
Paveljšek, Diana (avtor) 11
Pohar, Jurij (somentor) 9
Poklar Ulrih, Nataša (mentor) 5
Pravst, Igor (mentor) 7, 9
Pravst, Igor (somentor) 14
Rogelj, Irena (mentor) 11, 12
Simčič, Marjan (mentor) 4
Simonovska, Breda (mentor) 2
Tušar, Tina (avtor) 12
Zdešar Kotnik, Katja (avtor) 13
Zupanič, Nina (avtor) 14

PREDMETNO KAZALO DOKTORSKIH DISERTACIJ S PODROČJA PREHRANE

- actin cytoskeleton 11
 adolescents 13
 aktinski citoskelet 11
 alginat 5
 alginate 5
 amino acids 8
 aminokislina 8
 analiza sestavljenih učinkov 9
 analize metode 2, 3
 analytical methods 2, 3
 AOAC methods 3
 AOAC metode 3
 apoptosis 11
 apoptoza 11
 ash 8
 association method 9
 barjene klobase 3
 bee pollen 8
 beljakovine 8
 beta-cryptoxanthin 2
 beta-kriptoksantin 2
Bifidobacterium 11
 BMI 12
 botanical origin 8
 botanično poreklo 8
 bread 3
 breastfeeding 1
 carbohydrate 8
 carotenoids 2
 catechin 5
 chemical composition 8
 Chinese lantern 2
 chitosan 5
 chromatographic techniques 2
 conjoint analiza 6, 9
 conjoint analysis 6, 9
 consumers 6, 9
 conversion factor 8
 cooked sausages 3
 cvetni prah 8
 črevesna epitelna bariera 11
 črevesna mikrobiota 12
 delivery mode 12
 delivery systems 5
 designation of origin 6
 DHA 12
 DHK 12
 diet in children 14
 diet in pregnancy 12
 dietary fibre 3, 8
 dietary intake 1
 dietary recommendations 4, 14
 dietary record 1
 dietary supplements 13
 docosahexaenoic acid 1
 dojenje 1
 dokozaheksaenojska kislina 1
 dostavni sistemi 5
 egg yolk 2
 eggs 2
 elementi 8
 elements 8
 encapsulation 5
 energijska gostota 4
 energijska vrednost 8
 energy density 4
 energy value 8
 enteral formula 10
 enteralna formula 10
 epigallocatechin gallate 5
 epigalokatehin galat 5
 estimated intake 3
 evaluation of symbols 9
 fat 8
 fatty acids 1
 fenolne spojine 5
 food advertising to children 7
 food choice 9
 food frequency questionnaire 1
 food labelling 9
 foods 3, 6, 7, 9, 14
 fosfatidil inozitol 3-kinaza 11
 free sugar 14
 fruits 3
 functional foods 5
 funkcionalna živila 5
 gas chromatography 1
 gastrostoma 10
 gastrostomy 10
 geografska označba 6
 geografsko poreklo 8
 geographical designation 6
 geographical origin 8
 gestational weight gain 12
 grain products 3
 grains 3
 granatno jabolko 5
 gut microbiota 12
 health claims 3, 9
 health effect 14
 healthy nutrition score 4
 hedonic tests 6
 hedonski preskusi 6
 hitozan 5
 HPLC 2
 hranilna sestava živil 7
 hranilna vrednost 8
 human milk 1
 human milk microbiota 12
 humano mleko 1
 immune response 11
 impairment of central nervous system 10

- imunski odziv 11
 infant diet 12
 intestinal epithelial barrier 11
 ITM 12
 izbira živil 9
 izdelki iz krompirja 3
 jajca 2
 jajčni rumenjaki 2
 kapsulacija 5
 karotenoidi 2
 katehin 5
 kemijska sestava 8
 kromatografske tehnike 2
 krompir 3
 kruh 3
 ksantofili 2
Lactobacillus 11
 legumes 3
 liposomes 5
 liposomi 5
 malnutrition 10
 maščobe 8
 maščobne kisline 1
 metode asociacije 9
 microencapsulation 5
 mikrobiota humanega mleka 12
 mikrokapsulacija 5
 minerali 13
 minerals 13
 mladostniki 13
 model zdravega prehranjevanja 4
 način poroda 12
 navadno volčje jabolko 2
 nebeljakovinski dušik 8
 non-protein nitrogen 8
 nosečnost 1
 nutrient composition of foods 7
 nutrient profiling 7
 nutrition 1, 4, 10, 13, 14
 nutrition claims 3, 9
 nutritional status 4
 nutritional value 8
 nuts 3
 oglaševanje živil otrokom 7
 ogljikovi hidrati 8
 oreški 3
 osmukanec 8
 označba porekla 6
 označevanje živil 9
 pasirana hrana 10
 pectin 5
 pektin 5
 pepel 8
 perceived value 6
 percepirana vrednost 6
 perception 6
 phenolic compounds 5
 phosphatidylinositol 3-kinase 11
Physalis alkekengi 2
 physical activity 13
 plant extracts 5
 plinska kromatografija 1
 podhranjenost 10
 polyunsaturated fatty acids 1
 pomegranate 5
 potato products 3
 potatoes 3
 potrošniki 6, 9
 poznavanje 6
 pre-packaged foods 14
 predpakirana živila 14
 pregnancy 1
 prehrana 1, 4, 10, 13, 14
 prehrana matere 12
 prehrana otrok 12, 14
 prehranska dopolnila 13
 prehranska priporočila 4, 14
 prehranska vlaknina 3, 8
 prehranske trditve 3, 9
 prehranski dnevnik 1
 prehranski status 4
 prehranski vnos 1
 pretvorbeni faktor 8
 prirast telesne mase 12
 prizadetost osrednjega živčevja 10
 probiotics 11, 12
 probiotiki 11, 12
 profiliranje živil 7
 prosti sladkor 14
 protective food symbol 9
 protein 8
 protein kinase C 11
 protein-kinaza C 11
Punica granatum L. 5
 pureed food 10
 rastlinski izvlečki 5
 raziskovalne metode 9
 razvoj živilskih izdelkov 3
 reformulated foods 3
 research methods 9
 resistant starch 3
 rezistentni škrob 3
 sadje 3
 signalling pathways 11
 signalne poti 11
 simbol varovalnega živila 9
 simboli 9
 sladkor 14
 Slovenian adolescents 4
 slovenski mladostniki 4
 sodium content in foods 7
 sources of dietary fibre 3
 sports clubs 13
 stročnice 3
 sugar 14
 symbols 9
 športni klubi 13
 telesna dejavnost 13

tesni stiki 11
Toll-like receptor 11
Toll-u podobni receptor 11
transcriptome 11
transkriptom 11
večkrat nenasičene maščobne kisline 1
vegetables 3
viri prehranske vlaknine 3
vitamini 13
vitamins 13
vnos prehranske vlaknine 3
voda 8
vpliv na zdravje 14
vprašalnik o pogostosti uživanja živil 1
vrednotenje simbolov 9
vsebnost natrija v živilih 7
vsebnost prostih sladkorjev 14
water 8
xanthophylls 2
zaznavanje 6
zdravstvene trditve 3, 9
zeaksantin 2
zelenjava 3
zexsanthin 2
žita 3
žitni izdelki 3
živila 3, 6, 7, 9, 14

JUICY MARBLES®



MLEKARNA KREPKO



a member of the Metrohm group



1945

FRUCTAL
v sodelovanju z naravo



Leone



JERUZALEM ORMOŽ



arrs
SLOVENIAN RESEARCH AGENCY